

Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2014

Thèse n°

THESE **POUR LE DIPLOME D'ETAT** **DE DOCTEUR EN MEDECINE** **(décret du 16 janvier 2004)**

présentée et soutenue publiquement
le 31 mars 2014 à Poitiers
par **Elodie Couderc**

Synthèse de la protéine Serum Amyloid A par les kératinocytes :
une contribution à sa surexpression dans le psoriasis ?

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Gérard GUILLET

Membres : Monsieur le Professeur Pierre LEVILLAIN
Monsieur le Professeur Franck BRIDOUX

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Jean-Claude LECRON



UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie



Le Doyen,

Année universitaire 2012 - 2013

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- | | |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. AGIUS Gérard, bactériologie-virologie2. ALLAL Joseph, thérapeutique3. BATAILLE Benoît, neurochirurgie4. BENSADOUN René-Jean, cancérologie - radiothérapie5. BRIDOUX Frank, néphrologie6. BURUCOA Christophe, bactériologie - virologie7. CARRETIER Michel, chirurgie générale8. CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire9. CHRISTIAENS Luc, cardiologie10. CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire11. DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice12. DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation13. DEBIAIS Françoise, rhumatologie14. DORE Bertrand, urologie15. DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie16. EUGENE Michel, physiologie17. FAURE Jean-Pierre, anatomie18. FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique19. FROMONT-HANKARD Gaëlle, anatomie et cytologie pathologiques20. GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique21. GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie22. GILBERT Brigitte, génétique23. GOMBERT Jean-Marc, immunologie24. GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques25. GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion26. GUILLET Gérard, dermatologie27. GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale28. HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques29. HANKARD Régis, pédiatrie30. HAUT Thierry, biochimie et biologie moléculaire31. HERPIN Daniel, cardiologie32. HOUETO Jean-Luc, neurologie33. INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale34. IRANI Jacques, urologie35. JABER Mohamed, cytologie et histologie36. KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie37. KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation (détachement)38. KITZIS Alain, biologie cellulaire39. KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie40. KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale41. LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire42. LEVARD Guillaume, chirurgie infantile43. LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques44. MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (surnombre)45. MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (surnombre)46. MARECHAUD Richard, médecine interne47. MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire48. MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire49. MEURICE Jean-Claude, pneumologie | <ol style="list-style-type: none">50. MIMOZ Olivier, anesthésiologie - réanimation51. MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie52. NEAU Jean-Philippe, neurologie53. ORIOT Denis, pédiatrie54. PACCALIN Marc, gériatrie55. PAQUEREAU Joël, physiologie56. PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique57. PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire58. PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique59. POURRAT Olivier, médecine interne60. PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique61. RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire62. RICHER Jean-Pierre, anatomie63. ROBERT René, réanimation64. ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales65. ROBLOT Pascal, médecine interne66. RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie67. SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes68. SILVAIN Christine, hépato-gastro-entérologie69. SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie70. TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale71. TOUCHARD Guy, néphrologie72. TOURANI Jean-Marc, cancérologie73. WAGER Michel, neurochirurgie |
|--|---|

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

1. ARIES Jacques, anesthésiologie - réanimation
2. BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie - virologie
3. BEN-BRIK Eric, médecine du travail
4. BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
5. CASTEL Olivier, bactériologie - virologie - hygiène
6. CATEAU Estelle, parasitologie et mycologie
7. CREMNITER Julie, bactériologie - virologie
8. DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie - réanimation
9. DIAZ Véronique, physiologie
10. FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire
11. FRASCA Denis, anesthésiologie - réanimation
12. GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
13. HURET Jean-Loup, génétique
14. JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
15. LAFAY Claire, pharmacologie clinique
16. LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
17. MIGEOT Virginie, santé publique
18. ROY Lydia, hématologie
19. SAPANET Michel, médecine légale
20. THILLE Arnaud, réanimation
21. TOUGERON David, hépato-gastro-entérologie

Professeur des universités de médecine générale

GOMES DA CUNHA José

Professeur associé des disciplines médicales

SCEPI Michel, thérapeutique et médecine d'urgence

Maîtres de Conférences associés de Médecine générale

BINDER Philippe
BIRAULT François
FRECHE Bernard
GIRARDEAU Stéphane
GRANDCOLIN Stéphanie
PARTHENAY Pascal
VALETTE Thierry

Professeur certifié d'Anglais

DEBAIL Didier

Maître de conférences des disciplines pharmaceutiques enseignant en médecine

MAGNET Sophie, bactériologie - virologie

Professeurs émérites

1. BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales
2. DABAN Alain, oncologie radiothérapie
3. FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie - virologie
4. GIL Roger, neurologie
5. LAPIERRE Françoise, neurochirurgie

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

1. ALCALAY Michel, rhumatologie
2. BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
3. BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
4. BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex émérite)
5. BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
6. BEGON François, biophysique, Médecine nucléaire
7. BOINOT Catherine, hématologie - transfusion
8. BONToux Daniel, rhumatologie (ex émérite)
9. BURIN Pierre, histologie
10. CASTETS Monique, bactériologie - virologie - hygiène
11. CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
12. CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
13. CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
14. DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
15. DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
16. FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex émérite)
17. GOMBERT Jacques, biochimie
18. GRIGNON Bernadette, bactériologie
19. JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
20. KAMINA Pierre, anatomie (ex émérite)
21. LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
22. MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
23. MARILLAUD Albert, physiologie
24. MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
25. PATTE Dominique, médecine interne
26. PATTE Françoise, pneumologie
27. POINTREAU Philippe, biochimie
28. REISS Daniel, biochimie
29. RIDEAU Yves, anatomie
30. SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
31. TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
32. TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex émérite)
33. VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

Remerciements

A Monsieur le Professeur Guillet

Pour l'honneur que vous me faites de présider le jury de ma thèse

Pour votre accueil bienveillant au sein de votre service ayant permis d'orienter ma vocation

Pour votre grand sens clinique, la pertinence de votre diagnostic et vos qualités pédagogiques qui m'ont assuré une excellente formation dans ma spécialité de dermatologie

Je vous exprime ici ma profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Lecron

Pour votre accueil bienveillant au sein de votre laboratoire

Pour avoir accepté la direction de cette thèse

Pour vos qualités scientifiques et votre enthousiasme

Pour avoir suscité mon intérêt pour la recherche

Je vous exprime ici toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Levillain

Pour avoir accepté de juger ce travail

Pour votre aide précieuse concernant les réalisations techniques de ce travail et votre bienveillante attention

Je vous adresse mes respectueuses considérations.

A Monsieur le Professeur Bridoux

Pour avoir accepté de juger ce travail.

Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Morel

Pour votre disponibilité attentive, vos précieux conseils

Je vous exprime mon profond respect.

**A toute l'équipe du laboratoire LITEC et du service de Dermatologie du CHU
de Poitiers**

A ma famille, mon conjoint, mes amis

A mes parents,

Table des matières

I- Introduction	9
1/ La peau normale	9
1.1/ Histologie	9
1.1.1/ L'épiderme	9
1.1.1.1/ Les kératinocytes.....	10
1.1.1.2/ Les mélanocytes	11
1.1.1.3/ Les cellules de Langerhans	11
1.1.1.4/ Les cellules de Merkel	11
1.1.2/ La jonction dermo-épidermique ou membrane basale.....	11
1.1.3/ Le derme	11
1.1.3.1/ Le derme superficiel ou papillaire	12
1.1.3.2/ Le derme profond ou réticulaire	12
1.1.4/ L'hypoderme	12
1.1.5/ Les annexes.....	12
1.2/ Fonctions.....	13
1.2.1/ Barrière mécanique.....	13
1.2.2/ Absorption	13
1.2.3/ Thermorégulation	13
1.2.4/ Protection contre les rayonnements ultra-violets	14
1.2.5/ Sensorielle.....	14
1.2.6/ Métabolique	14
1.2.7/ Immunologique.....	14
1.2.8/ Fonctions des annexes	15
2/ Le système immunitaire cutané	15
2.1/ Les acteurs	15

2.1.1/ Généralités.....	15
2.1.2/ Les cellules impliquées.....	15
2.2/ Les médiateurs de l'immunité.....	20
2.2.1/ Les Toll Like Receptors	20
2.2.2/ Les peptides antimicrobiens.....	22
2.2.3/ Les cytokines	23
2.3/ Le système immunitaire cutané en action	31
2.3.1/ Réponse immunitaire innée	31
2.3.2/ Immunité adaptative.....	31
2.3.3/ Tolérance immune	32
3/ Une maladie inflammatoire cutanée : le psoriasis	32
3.1/ Génétique	33
3.2/ Immunopathologie	34
3.2.1/ Activation des cellules dendritiques plasmocytoïdes et myéloïdes	34
3.2.2/ Activation des LTh1, LTh17, LTh22	34
3.2.3/ Activation des kératinocytes	34
3.2.4/ Chronicisation de la réponse inflammatoire	35
3.3/ Modèles de psoriasis.....	35
3.3.1/ Modèle <i>in vitro</i> de psoriasis	35
3.3.2/ Modèle murin de psoriasis.....	36
4/ La protéine A-SAA humaine	37
4.1/ Généralités.....	37
4.2/ Les gènes de la famille SAA	38
4.3/ Synthèse hépatique	38
4.4/ Synthèse extra hépatique	39
4.5/ Ses récepteurs et voies de signalisation.....	39
4.5.1/ Formyl Peptide Receptor like 1	39

4.5.2/ TLR2	40
4.5.3/ TLR4	40
4.5.4/ Scavenger receptors.....	40
4.5.4.1/ SR-B1 (Scavenger receptor classe B type 1)	40
4.5.4.1/ CD36.....	41
4.5.4.2/ CLA-1 (CD36 and LIMPII Analogous-1).....	41
4.5.5/ RAGE (Receptor of Advanced Glycation End-products)	41
4.6/ Les activités biologiques de la protéine A-SAA.....	42
4.6.1/ Transport et métabolisme du cholestérol	42
4.6.2/ Cicatrisation	43
4.6.3/ Agrégation plaquettaire	43
4.6.4/ Immunité innée.....	43
4.6.5/ Immunité adaptative.....	44
4.6.7/ Amylose AA	44
5/ Particularités de la protéine A-SAA murine.....	45
II/ Objectifs.....	47
III/ Article	48
IV/ Discussion	74
V/ Conclusion	81
Annexes.....	82
Bibliographie	83
RESUME.....	94
SERMENT.....	95
RESUME.....	96

Abréviations

Ag : Antigène	LPS : Lipopolysaccharide
AC : AntiCorps	LT : Lymphocyte T
AMP : AntiMicrobial Peptide	LTh : LT CD4+ helper
ApoA1 : Apolipoprotéine A-1	MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase
BCR : B Cell Receptor	NHEK : Normal Human Epidermal Keratinocyte
BGN : Bacille Gram Négatif	NF-kB : Nuclear Factor kappa B
BGP : Bacille Gram Positif	NKT : Natural killer T
C/EBP : CCAAT/Enhancer Binding Protein	OSM : Oncostatine M
CD : Cellule dendritique	PAMP : Pathogen Associated Molecular Pattern
CL : Cellule de Langerhans	PNN : Polynucléaire neutrophile
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité	Poly (I:C) : Polyriboinosinic : polyribocytidylic acid
CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène	PR : Polyarthrite Rhumatoïde
DAMP : Damage Associated Molecular Patterns	RAGE : Receptor for Advanced Glycation End Products
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	RT qPCR : Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction
FPRL1 : Formyl Peptide Receptor Like 1	STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription
HDL : High-Density Lipoproteins	TCR : T Cell Receptor
HES : Hématéine-Eosine-Safran	TNF α : Tumour Necrosis Factor α
IFN : Interféron	TLR : Toll Like Receptor
IL : InterLeukine	TSLP : Thymic Stromal Lymphopoietin
IMQ : Imiquimod	VLA-1 : Very Late Antigen 1
JAK : Janus Kinase	VLDL : Very Low Density Lipoprotein
JNK : c-Jun N-terminal Kinase	
KO : knockOut	
LDL : Low Density Lipoprotein	

Avant propos

La protéine A-SAA (Acute Serum Amyloid A) est une protéine dont le taux sérique augmente en phase inflammatoire aiguë. Principalement synthétisée par les hépatocytes, Urieli-Shoval *et al* ont montré son expression dans d'autres épithéliums normaux dont l'épiderme (Urieli-Shoval et al., 1998). L'étude transcriptomique des profils d'expression induit par les cytokines proinflammatoires sur les kératinocytes humains *in vitro* montre l'activation de la synthèse de A-SAA (résultats non publiés). Par ailleurs, une augmentation de A-SAA est décrite dans les sérums de patients psoriasiques. Ces observations nous ont conduit à étudier les conditions d'induction de A-SAA par les kératinocytes humains en culture et l'expression cutanée de A-SAA chez les patients psoriasiques ainsi que dans un modèle murin de psoriasis induit. En introduction de cette thèse nous ferons un rappel de la structure de la peau saine et de son système immunitaire, puis nous évoquerons la physiopathologie du psoriasis et nous présenterons ensuite les protéines SAA. Les résultats seront présentés sous la forme d'un article à soumettre intitulé : « Proinflammatory cytokines induce A-SAA synthesis by human keratinocytes : a contribution to A-SAA overexpression in psoriasis ? » suivi d'une discussion et d'une conclusion. Cet article est susceptible d'être enrichi de résultats supplémentaires sériques et histologiques qui, en cours d'analyse n'ont pas pu être présentés dans ce manuscrit.

I- Introduction

1/ La peau normale

1.1/ Histologie

La peau est le plus grand organe de l'être humain. Chez l'adulte, elle correspond en moyenne à une surface de 1,8 m², une épaisseur moyenne de 1,2 mm et un poids de 4,5 kg. Elle est subdivisée en 3 couches superposées qui sont, de la superficie vers la profondeur : l'épiderme, de nature épithéliale et provenant du feuillet embryonnaire superficiel (l'ectoderme), le derme et l'hypoderme, tous deux de nature conjonctive et dérivant du feuillet embryonnaire moyen (le mésoderme) (figure 1). L'épiderme et le derme s'articulent suivant la jonction dermo-épidermique, traversée par les annexes de l'épiderme, originaires de l'ectoderme et en grande partie situées dans le derme.



Figure 1. Histologie cutanée, coloration Hématéine-Eosine-Safran (HES), objectif x10 (Nataf, 2009)

1.1.1/ L'épiderme

L'épiderme est un épithélium malpighien kératinisé composé à 80% de cellules épithéliales : les kératinocytes. Les 20% restants sont des mélanocytes, des cellules immunocompétentes (cellules de langerhans, lymphocytes) et des cellules de Merkel (figure 2).

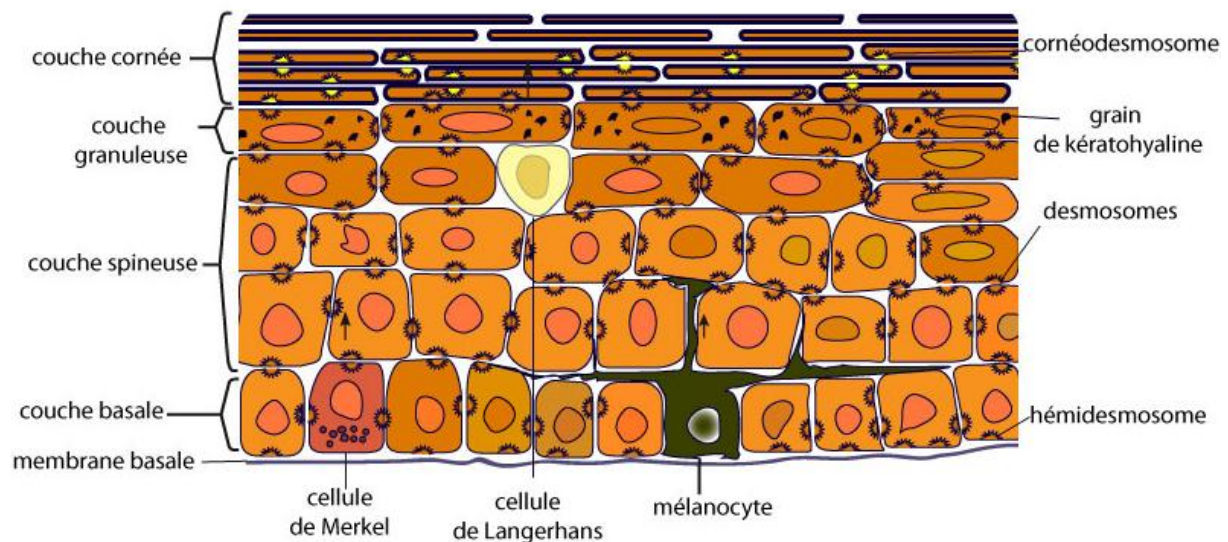


Figure 2. Représentation schématique d'une coupe transversale de l'épiderme humain (Démarchez, 2011).

1.1.1.1/ Les kératinocytes

Les kératinocytes reliés entre eux par des jonctions intercellulaires (desmosomes, jonctions serrées, jonctions communicantes), sont disposés en quatre couches prenant des aspects morphologiques différents au fur et à mesure de leur progression vers la surface et de leur maturation cornée qui s'effectue en 3 semaines (figure 2).

La couche basale, la plus profonde, est formée d'une seule rangée de cellules indifférenciées, de forme cylindrique, possédant un gros noyau foncé et ayant une disposition palissadique perpendiculaire à la jonction dermo-épidermique. Ces kératinocytes basaux assurent le renouvellement constant de l'épiderme. Ils adhèrent à la jonction dermo-épidermique sous-jacente par les hémidesmosomes.

La couche spinieuse comporte de quatre à dix assises de kératinocytes en cours de différenciation, de forme polygonale qui ont tendance à s'aplatir et à s'horizontaliser en même temps qu'ils se rapprochent de la surface et que leur noyau s'estompe.

La couche granuleuse comprend une à quatre rangées de cellules aplaties dont le noyau est entouré de granulations basophiles de kératohyaline, donnant aux cellules une teinte foncée.

La couche cornée, dont l'épaisseur varie selon les régions du corps est composée de plusieurs assises de kératinocytes matures ayant perdu leur noyau, appelés cornéocytes. Ces

cellules sont reliées entre elles par des cornéodesmosomes et incluses dans une matrice extra cellulaire hydrophobe composée de lipides (céramides, cholestérol, acides gras). Après trois semaines, les cornéocytes perdent leur cohésion et s'exfolient en surface.

1.1.1.2/ Les mélanocytes

Ils proviennent des crêtes neurales et colonisent la peau exclusivement au niveau de la couche basale. Ils synthétisent de la mélanine dans des organites spécialisés, les mélanosomes qui sont ensuite transférés aux kératinocytes. La mélanine donne à la peau sa pigmentation constitutive et assure la photoprotection.

1.1.1.3/ Les cellules de Langerhans

Elles sont produites dans les organes hématopoïétiques puis migrent dans la circulation pour rejoindre l'épiderme où elles acquièrent leur morphologie dendritique et assurent leur fonction immunologique. Les cellules de langerhans (CL) immatures ont une forte activité phagocytaire et contiennent des phagosomes : les granulations de Birbeck. Elles capturent ainsi les antigènes (Ag), se différencient en CL matures puis les présentent aux lymphocytes T (LT) naïfs ou mémoire.

1.1.1.4/ Les cellules de Merkel

Ces cellules neuro-épithéliales dérivant de la crête neurale sont situées au niveau de la couche basale épidermique. Irrégulièrement réparties, elles sont plus abondantes au niveau des paumes, lèvres, pulpes des doigts et dos des pieds. En étroite connexion avec les terminaisons nerveuses périphériques, elles ont la fonction de mécanorécepteurs.

1.1.2/ La jonction dermo-épidermique ou membrane basale

Synthétisée par les kératinocytes basaux et les fibroblastes dermiques, elle est constituée de fibres de collagène de type IV et VII, de lamines, d'héparane sulfate, d'entactine et de fibronectine. Elle assure l'adhérence et les échanges métaboliques dermo-épidermiques.

1.1.3/ Le derme

Ce tissu conjonctif comporte deux régions :

1.1.3.1/ Le derme superficiel ou papillaire

Situé entre les crêtes épidermiques, il est formé d'un tissu conjonctif lâche renfermant de fines fibres de collagène orientées obliquement ou perpendiculairement à la peau, des fibres de réticuline et d'élastine, des capillaires et des terminaisons nerveuses. Il est relativement riche en cellules : histiocytes, cellules sanguines et fibroblastes qui synthétisent une substance amorphe constituée de muco-polysaccharides permettant la cohésion des éléments du derme.

1.1.3.2/ Le derme profond ou réticulaire

Il est formé d'un tissu conjonctif dense où les fibres de collagène sont épaisses et les fibres élastiques s'entrecroisent dans une direction globalement horizontale à la peau. Il est moins riche en cellules mais contient des artérioles, des veinules, des follicules pilo-sébacés et les canaux excréteurs des glandes sudorales.

1.1.4/ L'hypoderme

Faisant suite au derme, il est cloisonné par les septums interlobulaires conjonctivo-élastiques qui délimitent les lobules remplis de cellules adipeuses. Ces septums hébergent des vaisseaux et des nerfs destinés au derme.

1.1.5/ Les annexes

Les glandes sudorales, les glandes sébacées et les phanères (poils et ongles) sont les annexes de l'épiderme dont elles dérivent embryologiquement mais qui sont logées principalement dans le derme et l'hypoderme.

Les glandes sudorales :

- Les glandes eccrines, les plus nombreuses sont situées sur l'ensemble du tégument et sont particulièrement abondantes aux paumes, plantes, aisselles, front, poitrine. La partie sécrétrice est située dans le derme profond et l'hypoderme et le canal excréteur s'abouche à la surface épidermique par un pore.

- Les glandes apocrines, liées aux glandes sébacées et aux poils, ne sont observées que dans les régions ano-génito-périnéales, inguinales, axillaires et mamelonnaires. Leur canal excréteur s'abouche dans un follicule pilo-sébacé.

Les glandes sébacées, annexées aux poils, se développent surtout après la puberté et sont particulièrement abondantes au visage et sur le haut du tronc. Plus superficielles que les glandes sudorales, elles se situent dans le derme.

Les poils sont composés d'un follicule situé dans le derme, auquel sont annexés les glandes sébacées et les muscles arrecteurs, ainsi que d'une racine et d'une tige.

Les ongles comportent une partie proximale invisible, la racine, zone génératrice et une partie visible, le corps, constitué de kératine.

1.2/ Fonctions

1.2.1/ Barrière mécanique

La peau et notamment l'épiderme, du fait de la solidité des jonctions inter-kératinocytaires et des lipides qu'il contient, permet de protéger le milieu interne des agressions externes et de contrôler les flux hydriques.

1.2.2/ Absorption

Une substance appliquée sur la peau peut traverser la couche cornée, diffuser à travers les différentes couches pour être enfin résorbée dans les capillaires dermiques. Ce processus est influencé par la nature de la molécule, l'âge, le site d'application et l'état d'altération cutanée.

1.2.3/ Thermorégulation

La peau permet le maintien de l'homéostasie thermique. La protection contre le froid est assurée par l'augmentation du métabolisme cellulaire, la contraction des muscles arrecteurs des poils et des muscles antagonistes qui produisent le frisson ainsi que par la

vasoconstriction cutanée. La protection contre la chaleur est assurée par la sudation et la vasodilatation cutanée.

1.2.4/ Protection contre les rayonnements ultra-violets

La photoprotection est assurée par les pigments mélaniques synthétisés dans les mélanosomes, organites formés dans les mélanocytes. Ces mélanosomes migrent le long des dendrites mélanocytaires pour être transférés aux kératinocytes environnants. Lors d'une irradiation solaire prolongée, les pigments mélaniques se regroupent au dessus du noyau kératinocytaire pour protéger son matériel génétique. En cas de lésion de l'ADN, celle-ci est repérée puis le système de réparation est activé pour maintenir l'intégrité cellulaire.

1.2.5/ Sensorielle

La peau renferme des terminaisons nerveuses et des récepteurs. Des informations de douleur, pression, température sont ainsi envoyées au système nerveux central permettant à l'organisme d'appréhender le milieu environnant.

1.2.6/ Métabolique

Sous l'influence des rayonnements ultra-violets, les kératinocytes participent à la synthèse de la vitamine D et d'endorphines.

1.2.7/ Immunologique

Les cellules présentatrices d'Ag (CL épidermiques, kératinocytes, cellules dendritiques épidermiques) sont capables d'initialiser la réponse immunitaire en internalisant l'antigène pour le présenter aux lymphocytes T CD4+ naïfs dans les ganglions et aux lymphocytes T mémoire dans la peau. Les lymphocytes T ainsi activés vont ensuite induire la réponse immunitaire adaptative. Ces cellules synthétisent de nombreuses cytokines impliquées dans les réactions inflammatoires cutanées. Le système immunitaire cutané sera détaillé dans un chapitre dédié.

1.2.8/ Fonctions des annexes

Les glandes sébacées ont une activité sous le contrôle des hormones sexuelles, essentiellement les androgènes. Le sébum est composé de sébocytes en fin de maturation qui libèrent leur contenu dans le canal excréteur rejoignant le canal pilo-sébacé (sécrétion glandulaire holocrine). Le sébum engaine les tiges pilaires, s'étale à la surface de la couche cornée, se mélangeant au film hydrolipidique protecteur de surface constitué de lipides épidermiques et d'eau. Il permet de lutter contre la déshydratation et participe à l'équilibre de la flore bactérienne cutanée.

Les glandes sudoripares produisent la sueur, composée d'eau et d'électrolytes. Son flux est modulé en fonction des besoins de la thermorégulation.

2/ Le système immunitaire cutané

2.1/ Les acteurs

2.1.1/Généralités

La peau représente une large surface d'échanges et de confrontation avec de nombreux facteurs de l'environnement. Elle intervient comme une barrière mécanique mais a aussi un rôle indispensable dans les mécanismes de réponse immunitaire pour lutter contre les invasions microbiennes, la pénétration de produits chimiques et le développement de cellules malignes (Schwarz, 2003). Cette fonction immunitaire repose sur l'activité de plusieurs types cellulaires, dont certains résident dans la peau et d'autres sont recrutés.

2.1.2/ Les cellules impliquées

2.1.2.1/ Les cellules dendritiques

Elles représentent une population hétérogène de leucocytes spécialisés présentant l'Ag, dont le rôle principal est l'induction et la régulation de réponses immunitaires adaptatives (G. Girolomoni, 2006). Les Cellules Dendritiques (CD) sont issues de la moelle osseuse et ses précurseurs migrent à travers le flux sanguin pour atteindre la plupart des organes et tissus, notamment ceux qui sont en contact avec le milieu extérieur, comme la peau et les muqueuses. Les CD myéloïdes comprennent les CL épidermiques situées dans les

couches basales et supra-basales et les CD interstitielles dermiques principalement localisées autour des vaisseaux (Rozires et al., 2013). Les CD lymphoïdes ou plasmocytoïdes sont trouvées dans les ganglions, la rate, la moelle osseuse, le thymus ainsi que le tissu cutané inflammatoire ; elles sont absentes des tissus périphériques en situation physiologique.

Les CD détectent les signaux de danger par l'implication de récepteurs de surface notamment ceux de la famille des Toll Like Receptors (TLR) capables de reconnaître des structures moléculaires propres aux pathogènes (lipopolysaccharides, acides nucléiques...) appelés Pathogens Associated Molecular Patterns (PAMPS) (Rozires et al., 2013). Une fois reconnu, l'Ag est alors phagocyté, associé aux molécules du CMH et réexprimé en surface. Les CD migrent ensuite dans le ganglion lymphatique pour présenter l'Ag aux LT CD4+ naïfs et initier la réponse immunitaire adaptative (Doutre, 2009).

Les CD ont aussi un rôle dans la tolérance immunitaire : les CD immatures prennent en charge des auto-Ag puis migrent vers les organes lymphoïdes centraux et périphériques pour enseigner la tolérance du soi aux lymphocytes.

2.1.2.2/ Les Lymphocytes T

Les LT $\alpha\beta$ (LT CD8+, LT CD4+), LT $\gamma\delta$, Natural killer T (NKT) et les LT mémoire sont essentiellement situés autour des vaisseaux dermiques ; cependant il existe quelques rares LT intra-épidermiques (Nestle et al., 2009a). La peau normale contient majoritairement des LT $\alpha\beta$ CD4+.

L'Activation des LT nécessite :

- La reconnaissance de l'Ag par leur récepteur membranaire appelé TCR (T cell receptor). Pour les LT $\alpha\beta$, l'Ag doit être associé aux molécules CMH d'une cellule présentatrice d'Ag (CPA) : les LT CD8+ sont restreints par le CMH de classe I (qui présente des peptides issus de protéines cytosoliques comme les Ag viraux) ; les LT CD4+ par le CMH de classe II (qui présente des protéines issues de vésicules intracellulaires provenant de la phagocytose d'Ag exogènes). Au contraire, les LT $\gamma\delta$ et NKT ne sont pas restreints par le CMH. (Abul-K Abbas and Andrew-H Lichtman, 2010).

- Un second signal pour les LT CD4+ qui correspond à une succession de contacts cellulaires entre les LTCD4+ et les CD, liés à des signaux de co-stimulation assurés

par des ligands de surface spécifiques : ICAM-1 / LFA-1, LFA-3 / CD2, CD28 (CTLA-4) / B7. Leur expression est induite par la liaison Ag/TCR et des cytokines.

Les différents types de LT ont des fonctions différentes :

- Les LT CD8+ cytotoxiques : ils détectent les Ag présents dans une cellule infectée (notamment par des virus) et la détruisent. Cette cytotoxicité est dépendante ou non des Anticorps (AC).

- Les LT CD4+ helper (LTh) : leur différenciation se fait à partir de LTh0 naïfs sous l'effet de différentes cytokines libérées par les cellules immunitaires telles que les CD, PNN, kératinocytes.... Ils sécrètent à leur tour des cytokines spécifiques leur conférant un rôle particulier (figure 3).

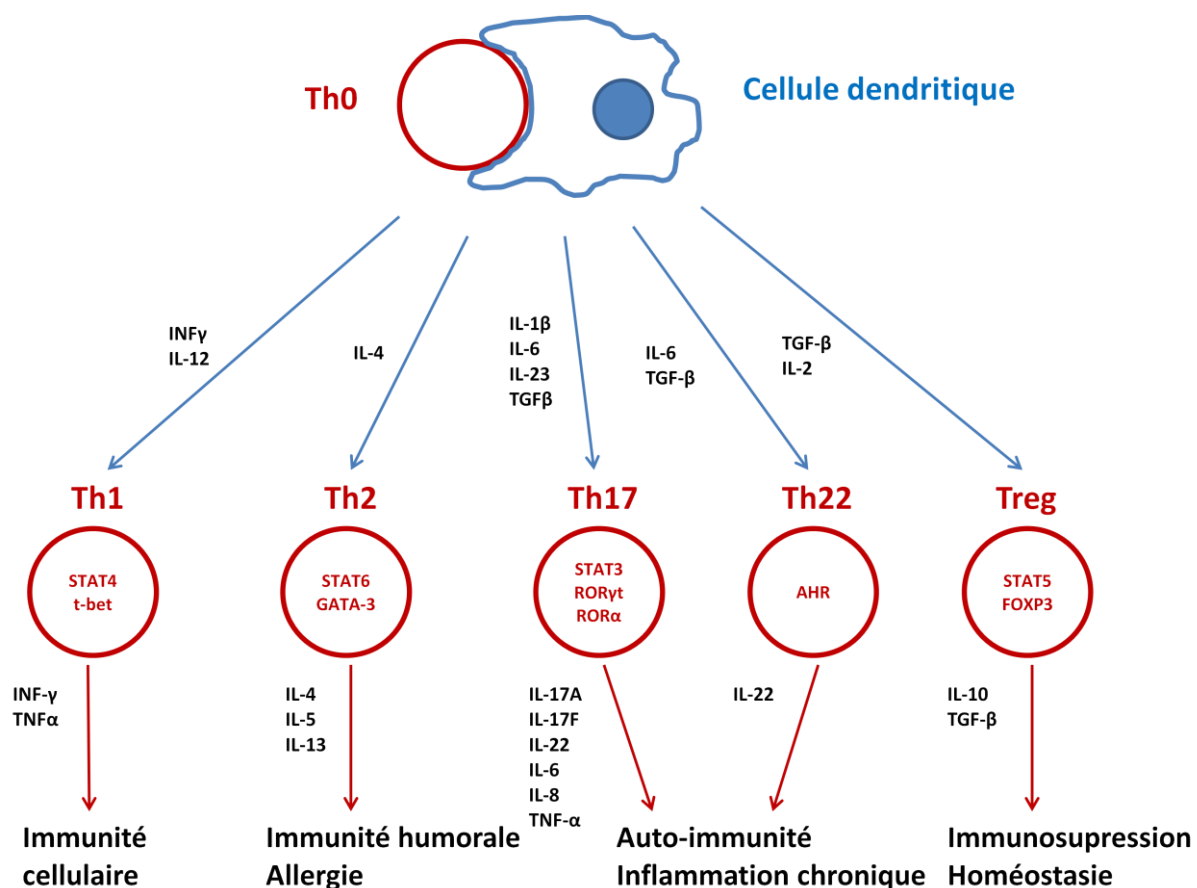


Figure 3. Modèle de polarisation des LT CD4+ naïfs d'après (Liu et al., 2013) et (Akdis et al., 2012)

- Les LTγδ : Ils reconnaissent directement les Ag sans être associé au CMH ce qui leur permet une plus grande rapidité d'action. Ils agissent en produisant des cytokines, par cytotoxicité et en activant les lymphocytes B (LB).

- Les lymphocytes NK : ils reconnaissent des glycolipides présentés par une molécule appelée CD1d structurellement proche du CMH 1 (Abul-K Abbas and Andrew-H Lichtman, 2010).

- Les LT mémoire résidents de la peau : Les LT activés ont une demi-vie limitée mais ils peuvent persister sous la forme d'une population lymphocytaire mémoire. Ils disposent d'un phénotype particulier mémoire/effecteur CD45RO et expriment des récepteurs de domiciliation cutanée (Cutaneous Lymphocyte Antigen : CLA). Ils peuvent être activés directement par les CL et ainsi agir sans migration préalable dans les ganglions lymphatiques de drainage. Ils permettent donc une réponse immunitaire secondaire beaucoup plus rapide et puissante à la réapparition de l'Ag (Seneschal et al., 2012).

2.1.2.3/ Les Lymphocytes B

Leur activation effectuée dans les organes lymphoïdes secondaires, nécessite plusieurs étapes :

-La reconnaissance de l'Ag par son récepteur BCR (B cell receptor) associé au CD19.

- L'interaction avec les LTh : le CD40 ligand des LTh activés se lie au CD40 porté par les LB. De plus, les LTh synthétisent des cytokines qui vont déterminer le type d'AC produit adapté à l'Ag (phénomène de commutation isotypique).

Ainsi activés, les LB transformés en plasmocytes vont synthétiser des AC, effecteurs principaux de l'immunité humorale.

2.1.2.4/ Les kératinocytes

Ils ont un rôle pivot dans la régulation de la réponse immunitaire :

- Ils peuvent présenter l'Ag aux LT pour induire une réponse immunitaire secondaire ou une tolérance lymphocytaire (Nestle et al., 2009a).

- Ils expriment des molécules d'adhésion nécessaires au trafic leucocytaire dont l'ICAM-1 (InterCellular Adhesion Molecule 1) qui retient les LT dans l'épiderme) (G. Girolomoni, 2006)

- Ils synthétisent des cytokines (IL-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-18, TNF α , IL-1ra, IL-10), chimiokines (CCL20, CXCL9, CXCL10, CXCL11 attirant les LT et CXCL1, CXCL8 attirant les PNN) (Nestle et al., 2009a), des peptides anti-microbiens (AMP) (β défensine, cathélicidine,

psoriasine, RNase 7) (Wiesner and Vilcinskas, 2010) et des facteurs de croissance (G-CSF, GM-CSF, M-CSF) (Doutre, 2009).

2.1.2.5/ Les cellules endothéliales des capillaires dermiques

Elles jouent un rôle essentiel dans le recrutement des cellules leucocytaires circulantes. Activées dans un environnement inflammatoire cytokinique, elles expriment à leur surface diverses molécules d'adhésion : des intégrines, des molécules de la superfamille des immunoglobulines (ICAM 1,2,3, VCAM1...), des sélectines (ELAM1 ou sélectine E...) et des glycoprotéines de type sialomucines. Parmi celles-ci, la sélectine E joue un rôle primordial dans l'adhésion des LT au niveau des veinules post-capillaires, qui reconnaissent des ligands spécifiques, en particulier le CLA qui leur confère un tropisme particulier pour la peau (Doutre, 2009). De plus, les cellules endothéliales activées produisent des cytokines (INF- α , INF- β , IL-6, IL-11, IL-12, IL-15, IL-18), des chimiokines (MIP-1- α , RANTES, IP-10) et des facteurs de croissance (G-CSF, GM-CSF) qui participent à l'activation des leucocytes (Rozires et al., 2013).

2.1.2.6/ Les mastocytes

Ils sont surtout présents autour des vaisseaux dermiques, des annexes et des terminaisons nerveuses. Activés par l'intermédiaire de leurs récepteurs de membrane dont les TLR1-9, ils vont dégranuler en libérant des substances vasoactives (histamine), des médiateurs lipidiques (prostaglandines, leucotriènes), des cytokines (IL-4, IL-6, TNF- α , TGF- β), des chimiokines (MIP-1, MIP-2...) et des facteurs de croissance (G. Girolomoni, 2006). Ils ont un rôle important dans l'allergie, l'initiation et le contrôle de l'immunité innée et interviennent aussi dans l'immunité adaptative en participant au recrutement des cellules inflammatoires, en activant les CD et en favorisant la migration des CD et des LT vers les ganglions lymphatiques de drainage (Metz et al., 2008).

2.1.2.7/ Les cellules NK

Les cellules NK sont caractérisées par la présence de récepteurs aux fragments Fc des immunoglobulines (FcR) et de récepteurs spécifiques activateurs et inhibiteurs appelés KAR (K cell activating receptor) et KIR (K cell inhibiting receptor). La reconnaissance de l'Ag n'est

pas restreinte par les molécules du CMH. Ces cellules participent à la première ligne de défense anti-infectieuse et anti-tumorale par cytotoxicité.

2.1.2.8/ Les monocytes/macrophages et polynucléaires neutrophiles

Ils ont des fonctions de phagocytose et de présentation d'Ag aux LT mais sans pouvoir initier une réponse immunitaire primaire (présentation aux LT naïfs) et produisent des cytokines et des chimiokines.

2.2/ Les médiateurs de l'immunité

2.2.1/ Les Toll Like Receptors

Ce sont des protéines transmembranaires capables de reconnaître des structures moléculaires exogènes appelées PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns), ainsi que des structures moléculaires endogènes libérées par des cellules « agressées » appelées DAMPs (Damage Associated Molecular Patterns) (figure 4).

Exogenous and endogenous ligands of TLRs.

TLR	Exogenous ligands	Origin of ligands	Ref.	Endogenous ligands	Ref.
TLR1	Triacyl lipopeptides	Bacteria and mycobacteria	Takeuchi et al., 2002		
	Soluble factors	<i>Neisseria meningitidis</i>	Wyllie et al., 2000		
TLR2	Lipoprotein/lipopeptides	Various pathogens	Aliprantis et al., 1999	Heat-shock protein 70	Asea et al., 2002
	Peptidoglycan	Gram-positive bacteria	Schwandner et al., 1999; Takeuchi et al., 1999	HGMB1	Park et al., 2004
	Lipoteichoic acid	Gram-positive bacteria	Schwandner et al., 1999		
	Lipoarabinomannan	Mycobacteria	Means et al., 1999		
	Phenol-soluble modulins	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hajjar et al., 2001		
	Glyco inositol phospholipids	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Coelho et al., 2002		
	Glycolipids	<i>Treponema maltophilum</i>	Opitz et al., 2001		
	Porins	<i>Neisseria</i>	Massari et al., 2002		
	Atypical lipopolysaccharide	<i>Leptospira interrogans</i>	Werts et al., 2001		
	Atypical lipopolysaccharide	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Hirschfeld et al., 2001		
	Zymosan	Fungi	Underhill et al., 1999		
TLR3	Double-stranded RNA	Viruses	Alexopoulou et al., 2001	Double-stranded DNA	Brentano et al., 2005
TLR4	Lipopolysaccharide	Gram-negative bacteria	Poltorak et al., 1998	Heat-shock protein 70	Vabulas et al., 2002
	Fusion protein	Respiratory syncytial virus	Kurt-Jones et al., 2000	Type III repeat extra domain A of fibronectin	Okamura et al., 2001
	Envelope protein	Mouse mammary-tumor virus	Rassa et al., 2002	Oligosaccharides of hyaluronic acid	Termeer et al., 2002
	Heat-shock protein 60	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Bulut et al., 2002; Ohashi et al., 2000	Polysaccharide fragment of heparan sulfate	Johnson et al., 2002
				Fibrinogen	Smiley et al., 2001
TLR5	Flagellin	Bacteria	Hayashi et al., 2001		
TLR6	Diacyl lipopeptides	Mycoplasma	Takeuchi et al., 2001		
	Lipoteichoic acid	Gram-negative bacteria	Schwandner et al., 1999		
	Zymosan	Fungi	Ozinsky et al., 2000		
TLR7	Single-stranded RNA	Viruses	Diebold et al., 2004; Heil et al., 2004	Single-stranded RNA	Vollmer et al., 2005
	Imiquimod (R837)	Synthetic compound (FDA approved drug)	Hemmi et al., 2002		
TLR8	Single-stranded RNA	Viruses	Heil et al., 2004	Single-stranded RNA	Vollmer et al., 2005
TLR9	CpG-containing DNA	Bacteria and viruses	Hemmi et al., 2000	DNA	Yasuda et al., 2009
TLR10	Not determined	Not determined			
TLR11	Profilin	Uropathogenic pathogen, toxoplasma	Kucera et al., 2010; Zhang et al., 2004		
TLR13	23 s rRNA	Gram-negative/positive bacteria	Li and Chen, 2012; Oldenburg et al., 2012		

Figure 4. Ligands exogènes et endogènes des TLR (Li et al., 2013).

Les TLR sont présents sur différents types cellulaires notamment les cellules immunitaires et les cellules épithéliales dont les kératinocytes (Doutre, 2009). Ces derniers en expriment un vaste répertoire, notamment les TLR 1, 2 en surface (Baker et al., 2003a) et les TLR 3 (Lai et al., 2009), 5 et 9 endosomiques (Nestle et al., 2009a). L'expression kératinocytaire du TLR4 est controversée (Baker et al., 2003b), (Loryman and Mansbridge, 2008), (Mempel et al., 2003).

Après liaison aux PAMPs, l'homo ou l'hétérodimérisation du TLR active la traduction du signal en recrutant la principale protéine adaptatrice Myd88. Ensuite, la translocation du facteur de transcription NF- κ B additionné d'IRF7 pour les TLR 3, 4, 7, 8, 9 et IRF3 pour les TLR 3, 4 (Kumar et al., 2009) (figure 5) aboutit à la transcription de gènes-cibles codant pour des chimiokines entraînant le recrutement local de diverses cellules telles que les polynucléaires et les macrophages, des cytokines, des AMP ayant des capacités de destruction directe de pathogènes et de chimioattraction (McInturff et al., 2005).

De nouvelles molécules antagonistes des TLR sont en cours d'études thérapeutiques pour certaines pathologies. Citons l'antagoniste du TLR7/9 actuellement en étude de phase II pour le traitement du psoriasis (Connolly and O'Neill, 2012).

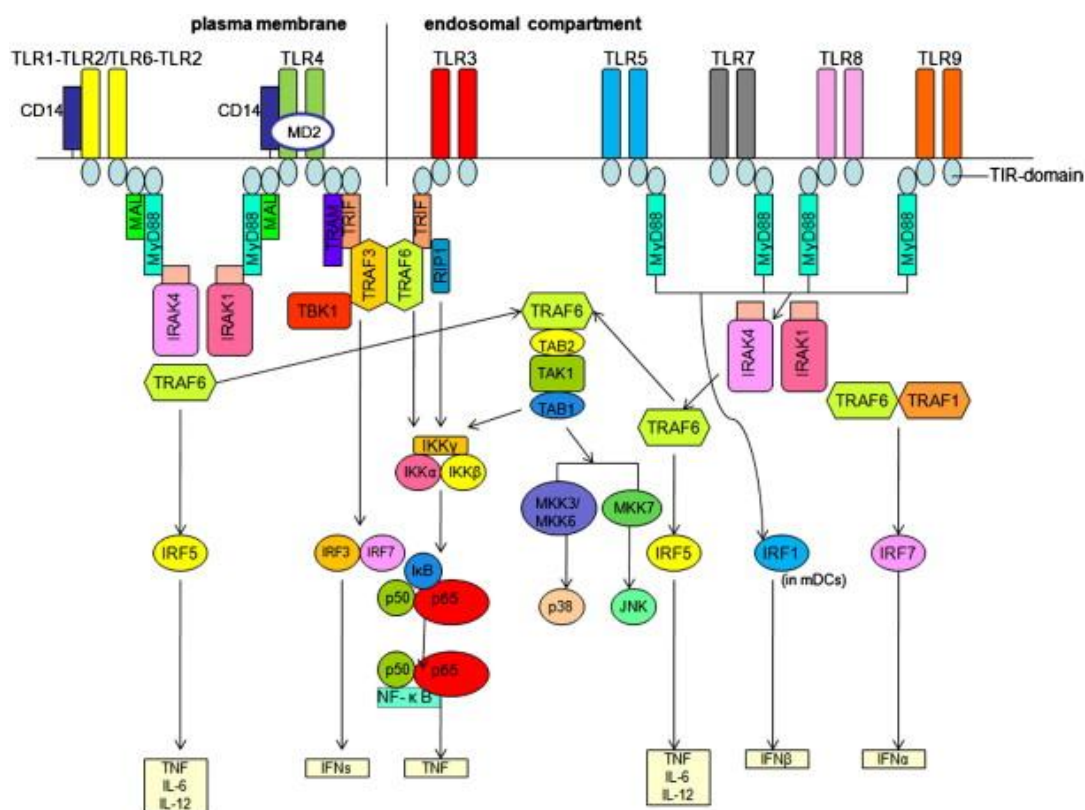


Figure 5. Voies de signalisation des TLR (Li et al., 2013)

2.2.2/ Les peptides antimicrobiens

Il s'agit d'une famille composée de petits peptides présents au niveau de sites normalement exposés aux microbes comme la peau et les muqueuses, où ils sont notamment produits par les kératinocytes, mais aussi les leucocytes. Leur synthèse découle d'activation de voies intracellulaires par plusieurs cytokines pro-inflammatoires et par la liaison des TLR à leurs ligands. Ils disposent de propriétés antimicrobiennes directes grâce à leurs capacités de destruction, de formation de pores ou de canaux ioniques dans les membranes bactériennes. Ils ont également des propriétés proinflammatoires par leur activité chimiotactique (attirant les PNN, LT, CD immatures) ou par la production de cytokines par différents types cellulaires dont les kératinocytes (Wiesner and Vilcinskas, 2010).

Les β -défensines humaines (hBD) sont de petits peptides de 3 à 5 kDa, représentant les AMP prédominants chez les mammifères. Les hBD 1, 2, 3, 4 sont synthétisées par de nombreux épithéliums dont l'épiderme. Contrairement à l'hBD-1 présente à l'état basal et non inductible les hBD 2, 3, 4 ne sont présentes que dans les peaux inflammatoires (Wiesner and Vilcinskas, 2010). Actives contre les bacilles gram négatifs (BGN) et/ou positifs (BGP) et/ou certains champignons, c'est l'hBD-3 qui dispose du plus large spectre d'action (BGN, BGP et champignons), elle est d'ailleurs efficace contre les *Staphylococcus aureus* Méthicilline résistants (Schröder, 2004).

La Psoriasine (S100A7) est un peptide de 11,4 kDa membre de la famille des protéines S100. Elle a initialement été isolée à partir de kératinocytes issus de peaux psoriasiques. Elle est aussi synthétisée par les sébocytes. Dans la peau saine, la psoriasine est abondante dans les sites souvent colonisés par les bactéries comme les régions axillaires, le nez, le cuir chevelu et les paumes de mains. Elle est active essentiellement contre les BGN, notamment l'*Escherichia coli* (Wiesner and Vilcinskas, 2010).

La Cathelicidine (LL-37) est un peptide de 16 kDa, actif contre les BGN et BGP. Elle aurait aussi un rôle important dans la ré-épithélialisation cutanée durant la cicatrisation (Wiesner and Vilcinskas, 2010).

La RNase 7 est un peptide de 14,5 kDa, membre de la famille des RNases A (Wiesner and Vilcinskas, 2010). Son spectre d'action est large, contre les BGN, BGP et les champignons ce qui en fait un des AMP les plus puissants. Présente dans la peau saine, sa production par les kératinocytes est inductible lors de l'inflammation cutanée (Schröder, 2004).

2.2.3/ Les cytokines

Toutes les cellules impliquées dans le système immunitaire cutané sont capables de synthétiser des cytokines. Elles interviennent dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire ainsi que dans la régulation des réponses immunitaires entraînant dans certaines conditions des maladies inflammatoires chroniques comme le psoriasis. Seront détaillées ici les cytokines utilisées dans notre étude *in vitro* et impliquées dans le psoriasis, ainsi que les chimiokines.

2.3.2.1/ Interleukine 1 α

Elle appartient à une famille de cytokines composée de 11 membres dont L'IL-1 α et β , IL-1Ra et l'IL-18. Elle joue un rôle important dans l'inflammation et la réponse immunitaire aux infections. Elle est synthétisée par de multiples types cellulaires comme les monocytes/macrophages, les CD, les cellules épithéliales (dont les kératinocytes) et les fibroblastes synoviaux. Sa production peut être induite par les PAMPs et des cytokines proinflammatoires comme le TNF- α , l'IFN- α , l'IFN- β et l'IL-1 β (Barksby et al., 2007). L'IL-1 α et β sont initialement traduites en précurseurs inactifs de respectivement 33 et 31 kDa qui seront clivés en cytokines actives de 17 kDa par la voie des calpaïnes pour l'IL-1 α (Lee et al., 2008) et de la caspase 1 pour l'IL-1 β (Barksby et al., 2007). Comme l'IL-1 β , l'IL-1 α se lie au récepteur IL-1 receptor (IL-1R1), ce qui explique leur action redondante (Guilloteau et al., 2010). A l'inverse, l'IL-1Ra agit comme un antagoniste compétitif. Après liaison de l'IL-1 à son récepteur, une protéine accessoire, l'IL-1RAcP est activée, entraînant le recrutement de MyD88 (Myeloid Differentiation protein 88), de IRAK (IL-1R-associated kinases) activant les facteurs de transcription NF- κ B (Nuclear Factor Kappa B) et de AP-1 (activating protein 1) via les voies des MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) (Barksby et al., 2007) (figure 6). La stimulation des kératinocytes par l'IL-1 entraîne une inflammation via la synthèse de

chimiokines (CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL8, CCL5, CCL20, CCL27) et AMP (hBD2, RNase7, LL37, S100A7, S100A8, S100A9) (Guilloteau et al., 2010). De plus, l'IL-1 α pourrait aussi améliorer la fonction barrière cutanée par l'augmentation de la synthèse de lipides et de la transcription de gènes impliqués dans l'adhésion, la prolifération, et la différenciation kératinocytaire (Hänel et al., 2013).

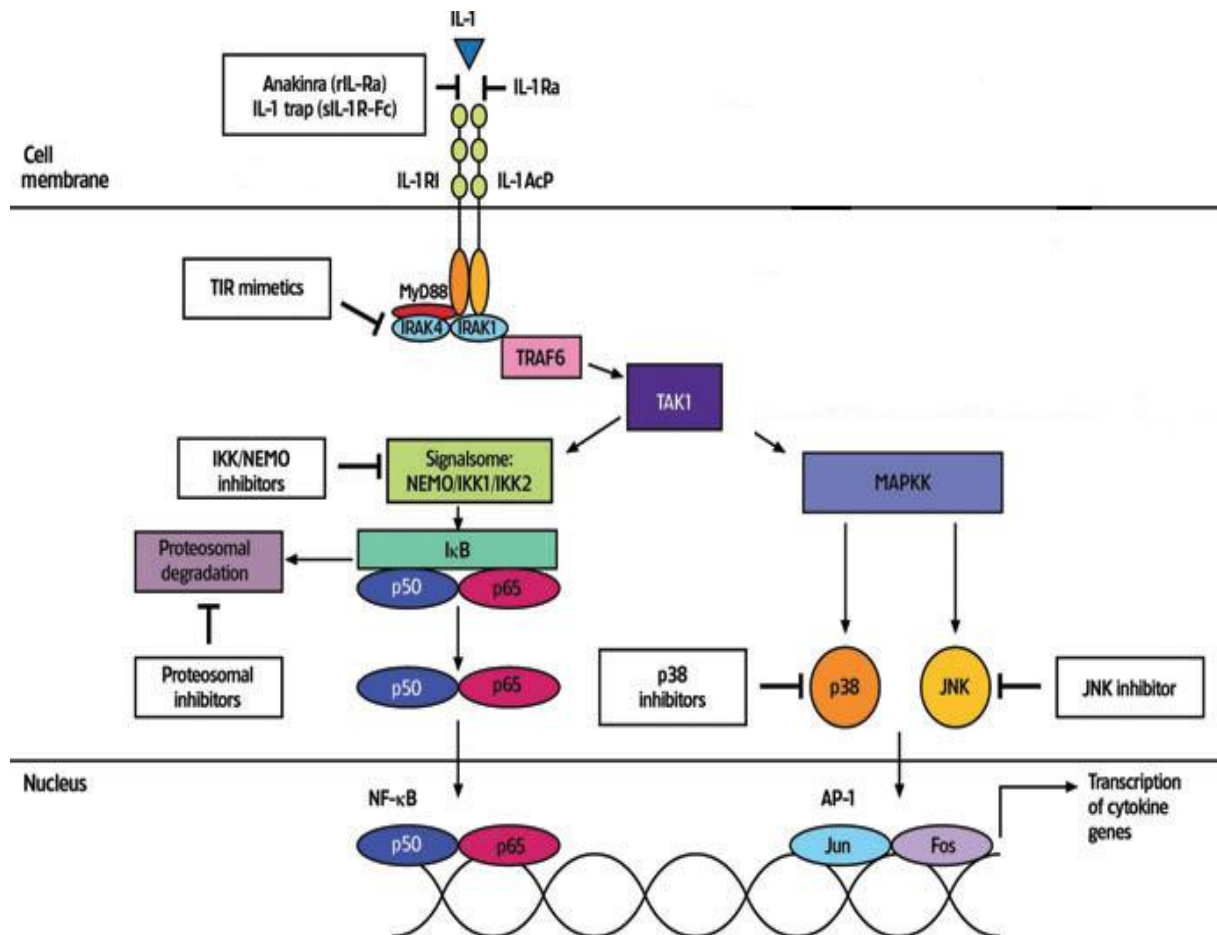


Figure 6. Voie de signalisation induite par l'IL-1. D'après (Barksby et al., 2007)

2.3.2.2/ IL-17A

Cette cytokine appartient à la famille des IL-17 comportant aussi les IL-17B, C, D, E, F. Elle est essentiellement synthétisée par les LTh17. L'IL-17A et IL-17F se lient au même récepteur hétérodimérique formé des sous-unités IL-17RC et IL-17RA. Le signal d'auto-immunité engendré par l'IL-17A est le plus important (Gaffen, 2009). L'IL-17A est synthétisée par les cellules de l'immunité adaptative (LT α β CD4 $^{+}$ et CD8 $^{+}$) mais aussi innée (LT γ δ , cellules lymphoïdes innées) (Sutton et al., 2012). L'IL-17RA et IL-17RC sont présentes de façon

ubiquitaire mais à des niveaux d'expression différents. L'IL-17RA est particulièrement présente à la surface des cellules hématopoïétiques alors que l'IL-17RC est surtout présente au sein de tissus épithéliaux. Il pourrait exister des homodimères ou hétérodimères en proportion différente d'IL-17RA et IL-17RC entraînant une action tissulaire spécifique de l'IL-17A et IL-17F (Ho and Gaffen, 2010). La signalisation intracellulaire du récepteur IL-17RA et IL-17RC passe par l'interaction entre son domaine SEFIR (SEF/IL-17R) et les adaptateurs TRAF6 et Act1, ce qui active les voies des MAPK et les facteurs de transcription NF- κ B, C/EBP β et AP-1 (Ho and Gaffen, 2010) (figure 7). L'IL-17A participe à l'inflammation cutanée en favorisant la synthèse d'AMP (hBD2, S100A7) et de chimiokines (CXCL1, CXCL3, CXCL5, CXCL8) (Wilson et al., 2007). Elle altère la fonction barrière cutanée en affectant la différenciation kératinocytaire ainsi que la formation de la couche cornée par diminution de l'expression de la profilaggrine et des molécules composant les jonctions serrées et les desmosomes (ZO-1, ZO-2, E-cadherine, integrine) (Hänel et al., 2013).

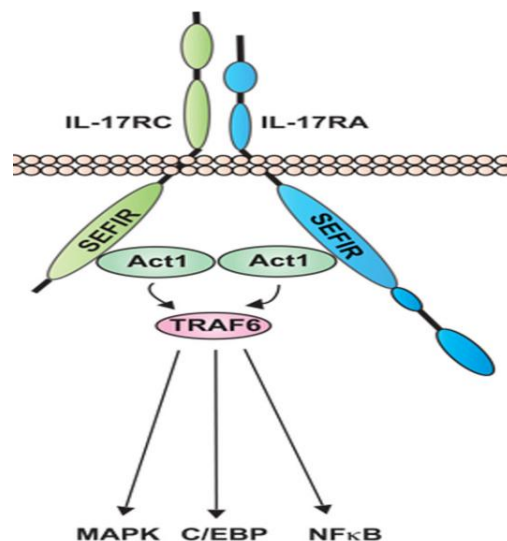


Figure 7. Voie de signalisation induite par l'IL17A. D'après (Ho and Gaffen, 2010)

2.3.2.3/ IL-22

Elle appartient à la famille de l'IL-10 (Boniface et al., 2005). Elle est synthétisée sous l'influence de l'IL-23 principalement par les Th22, Th17 ainsi que les NKT et les cellules dendritiques (Yu et al., 2013). Elle se lie à un récepteur hétérodimérique composé des sous unités IL-22R1 et IL-10R2. L'IL-10R2 est ubiquitaire alors que l'IL-22R1 est exprimée par les cellules épithéliales (cutanées, hépatiques, pancréatiques, rénales et coliques) mais non par

les leucocytes. Ainsi, l'IL-22 transmet une information aux cellules épithéliales mais n'a pas de fonction autocrine ni paracrine vis-à-vis des leucocytes (Lécart et al., 2002). La liaison à son récepteur entraîne la phosphorylation de JAK-1 et TYK-2 puis l'activation des facteurs de transcription ERK1/2 et STAT1, 3, 5 selon les types cellulaires (Pan et al., 2013), principalement STAT3 pour les kératinocytes (Boniface et al., 2005). Au niveau cutané, elle induit la prolifération et la migration des kératinocytes et diminue leur différenciation : baisse d'expression des gènes de différenciation (codant pour l'involucrine, la loricrine, la cytokératine 10, la filaggrine) et inhibition de la synthèse d'enzymes nécessaires à la différenciation terminale et à la desquamation (kallikreine 7, desmocolline 1, calmodulin-like 5). En conséquence, cela entraîne une hyperplasie et une acanthose épidermique. Elle favorise aussi l'inflammation cutanée en augmentant la synthèse kératinocytaire de chimiokines (CXCL5) et AMP (S100A7, S100A8, S100A9) (Boniface et al., 2005).

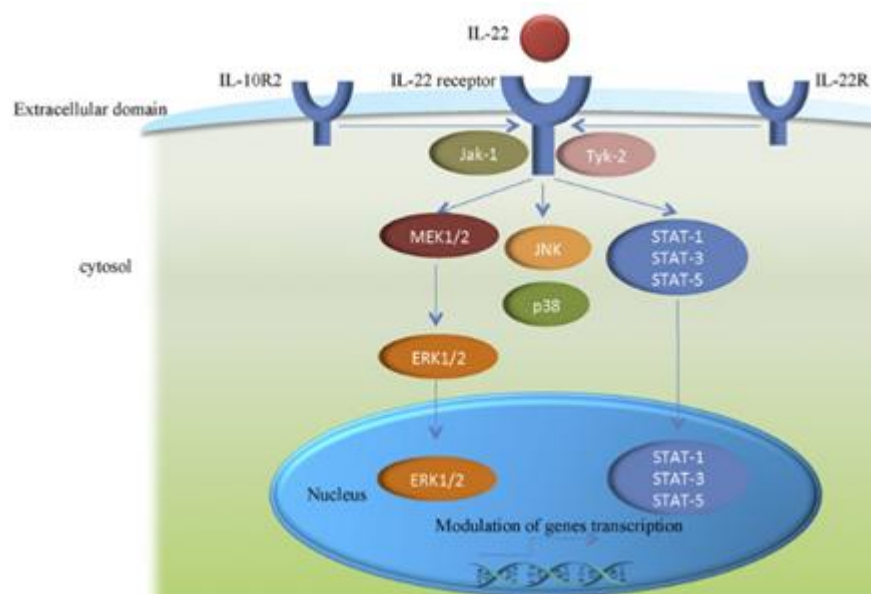


Figure 7. Voie de signalisation induite par l'IL22. D'après (Pan et al., 2013)

2.3.2.4/ Oncostatine M

L'Oncostatine M (OSM) est une glycoprotéine de 28 kDa appartenant à la famille de l'IL- 6, comme l'IL-6, l'IL-11, le LIF (Leukaemia Inhibitory Factor), le CNTF (Ciliary Neurotrophic fFactor), le CT-1 (CardioTrophin-1) et le CLC (Cardiotrophin-Like Cytokine). Ces cytokines ont des rôles variés dans l'immunité anti-infectieuse, anti-tumorale, l'inflammation, la réparation tissulaire, l'hématopoïèse, le développement embryonnaire (Heinrich et al.,

2003). Elle est synthétisée par les LT activés, les PNN, les monocytes/macrophages, les cellules endothéliales et les hépatocytes (Finelt et al., 2005). L'OSM peut se lier à deux types de récepteurs : l'OSM récepteur 1 composé des sous-unités gp130 et Leukemia Inhibitory Factor receptor β (LIFR β) (Mosley et al., 1996) ; L'OSM récepteur 2 composé des sous-unités gp130 et OSM receptor β (OSMR β) dont l'affinité pour l'OSM est plus importante. Alors que le récepteur gp130 est localisé de façon ubiquitaire, L'OSMR β est principalement exprimé par les fibroblastes, les cellules hématopoïétiques, endothéliales, hépatiques, pulmonaires et les kératinocytes. A noter que Les kératinocytes n'expriment pas le récepteur LIFR β (Boniface et al., 2007). La liaison de l'OSM à son récepteur indifféremment de type 1 ou 2 entraîne une cascade de signalisations impliquant les voies des MAPK, et l'activation des facteurs de transcription : STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) 1, 3, et 5 (Heinrich et al., 2003) (Figure 8). Au niveau cutané, l'OSM a une action plus puissante que l'IL-6. Elle module l'expression kératinocytaire de différents gènes entraînant une inflammation (synthèse d'AMP, chimiokines et facteurs de croissance), une hyperplasie épidermique (inhibition de la transcription de gènes de différenciation) et une migration kératinocytaire (Boniface et al., 2007).

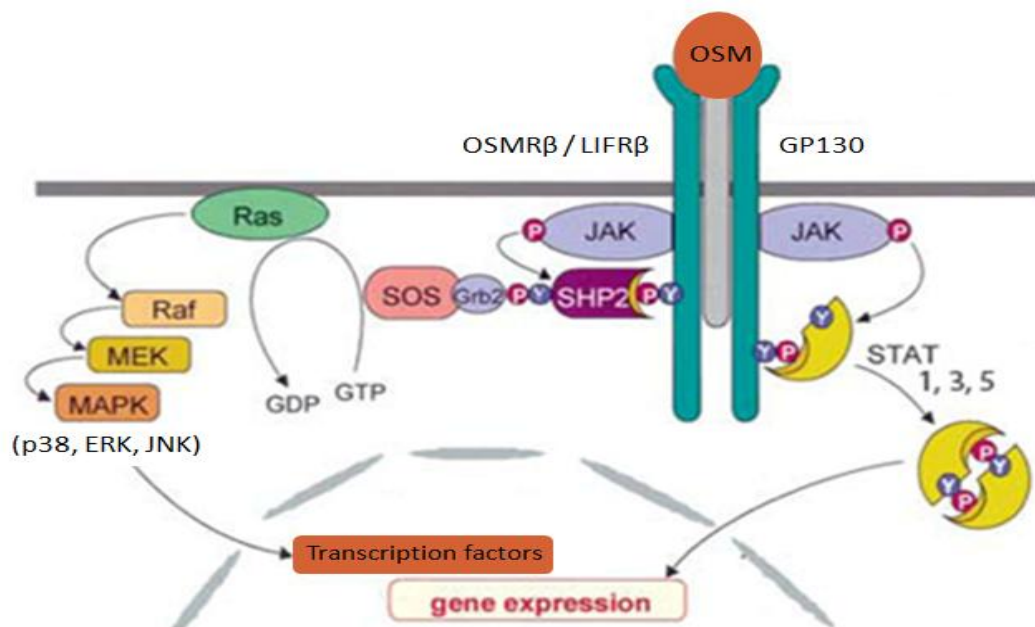


Figure 8. Voie de signalisation induite par L'OSM. D'après (Heinrich et al., 2003) et (Boniface et al., 2007)

2.3.2.5/ *TNF α*

C'est une cytokine proinflammatoire appartenant à la superfamille du Tumor Necrosis Factor (TNF) composée de plus de 40 membres. Le $TNF\alpha$ est impliqué dans divers processus biologiques tels que la régulation de la prolifération cellulaire, la différenciation, l'apoptose et la réponse immunitaire. Il est principalement synthétisé par les leucocytes, cellules endothéliales, fibroblastes, chondrocytes, ostéoblastes, cellules gliales, cellules musculaires lisses et kératinocytes (Mukhopadhyay et al., 2006). Le $TNF\alpha$ est initialement synthétisé sous la forme d'un précurseur transmembranaire de 212 acides aminés, de 26 kDa puis clivé par une métalloprotéase, la TACE ($TNF\text{-}\alpha$ Converting Enzyme) en une forme soluble de 175 acides aminés, de 17 kDa. Les formes solubles se lient aux récepteurs cellulaires de surface TNFRI et TNFRII exprimés de façon ubiquitaire, mais l'activité biologique du $TNF\alpha$ transmembranaire serait principalement médiée par le récepteur TNFRII (Horiuchi et al., 2010). Les domaines extra-cellulaires de ces 2 récepteurs peuvent subir un clivage enzymatique libérant des fragments solubles (sTNFRI et sTNFRII) capables d'interagir avec le $TNF\alpha$, empêchant sa liaison aux récepteurs cellulaires et inhibant son activité (Edwards et al., 2003). La liaison du $TNF\alpha$ au TNFRI entraîne sa trimérisation et la libération d'une protéine inhibitrice : SODD (Silencer of Death Domain), localisée au niveau du domaine intracellulaire. Ainsi exposé, le domaine intracellulaire est reconnu par la protéine TRADD (TNF Receptor-Associated Death Domain) qui recrute alors FADD (Fas-Associated Death Domain) qui active la voie des caspases. Par ailleurs, la signalisation intracellulaire se poursuit avec l'intervention de TRAF2 (TNF-R Associated Factor 2) aboutissant à l'activation des facteurs de transcription AP-1 et NF- κ B via la voie des MAPK et celle des JNK (Janus kinases) (Li and Lin, 2008). Le TNFRII active les mêmes facteurs de transcription mais en recrutant directement TRAF2 (Balkwill, 2009) (figure 9). Sur le plan cutané, le $TNF\alpha$ présente des activités proches de celles de l'IL-1, stimulant l'immunité innée (Guilloteau et al., 2010).

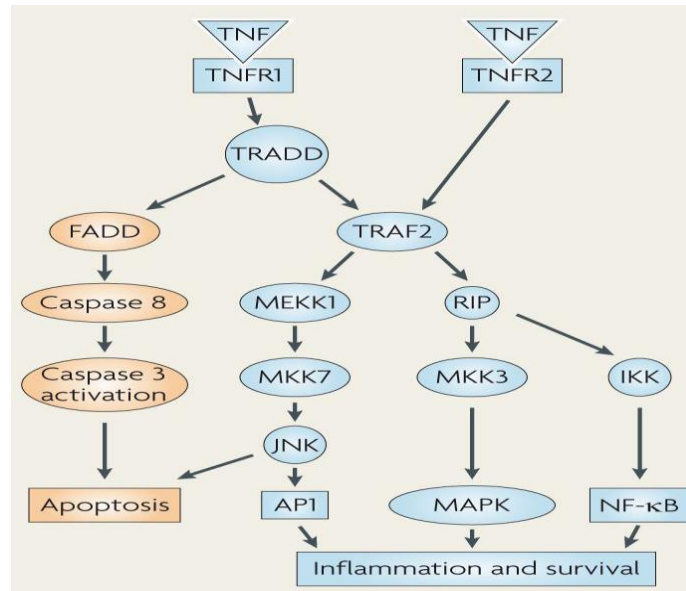


Figure 9. Signalisation induite par le TNF α . D'après (Balkwill, 2009)

2.3.2.6/ Les chimiokines

Elles appartiennent à la famille des cytokines et sont classées en 4 groupes selon le nombre d'acides aminés présents entre les deux premières cystéines (situées en N-terminal) (IUIS/WHO Subcommittee on Chemokine Nomenclature, 2003) :

- CC : les deux premières cystéines sont adjacentes
- CXC : un acide aminé entre les deux premières cystéines
- CX3C : trois acides aminés
- XC : une seule cystéine.

Les chimiokines doivent leur nom à leurs propriétés chimioattractives mais elles régulent de nombreux autres processus biologiques tels que la polarisation des Th0, la prolifération cellulaire, l'apoptose, l'angiogénèse, l'hématopoïèse.... (Bachelierie et al., 2014). La nomenclature des chimiokines associée à leurs principales fonctions est représentée figure 9. Les chimiokines et leurs récepteurs sont exprimés par les leucocytes ainsi que par certaines cellules non hématopoïétiques telles que les kératinocytes. Ces dernières expriment les récepteurs CCR3, CXCR1, CXCR2 jouant un rôle dans la cicatrisation cutanée en favorisant la migration et la prolifération kératinocytaires (Esche et al., 2005).

Il est intéressant de noter que des thérapies ciblant certaines chimiokines sont en cours de développement pour traiter le psoriasis notamment un AC monoclonal neutralisant anti-CXCL8 actuellement en étude de phase II (Bachelierie et al., 2014).

Name	Human ligand	Receptor agonist or [antagonist]
CXC family		
CXCL1	GRO α /MGS α - α	CXCR2
CXCL2	GRO β /MGS α - β	CXCR2
CXCL3	GRO γ /MGS α - γ	CXCR2
CXCL4	PF4	
CXCL5	ENA-78	CXCR2
CXCL6	GCP-2	CXCR1, CXCR2
CXCL7	NAP-2	CXCR2
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR2
CXCL9	MIG	CXCR3 [CCR3]
CXCL10	IP-10	CXCR3 [CCR3]
CXCL11	I-TAC	CXCR3 [CCR3]
CXCL12	SDF-1 α / β	CXCR4
CXCL13	BLC/BCA-1	CXCR5
CXCL14	BRAK/bolekine	
CXCL15	—	
CXCL16	SR-PSOX	CXCR6
CC family		
CCL1	I-309	CCR8
CCL2	MCP-1/MCAF	CCR2
CCL3	MIP-1 α /LD78 α	CCR1/CCR5
CCL4	MIP-1 β	CCR5
CCL5	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5
CCL6	—	
CCL7	MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3 [CCR5]
CCL8	MCP-2	CCR3
CCL9/10	—	
CCL11	Eotaxin	CCR3, CCR5 [CCR2]
CCL12	—	CCR2
CCL13	MCP-4	CCR2, CCR3
CCL14	HCC-1	CCR1
CCL15	HCC-2/Ukn-1/ MIP1 δ	CCR1, CCR3
CCL16	HCC-4/LEC	CCR1
CCL17	TARC	CCR4
CCL18	DC-CK1/PARC/ AMAC-1	[CCR3]
CCL19	MIP-3 β /ELC/ exodus-3	CCR7
CCL20	MIP-3 α /LARC/ exodus-1	CCR6
CCL21	6CKine/SLC/ exodus-2	CCR7
CCL22	MDC/STCP-1	CCR4
CCL23	MPIF-1	CCR1
CCL24	MPIF-2/Eotaxin-2	CCR3
CCL25	TECK	CCR9
CCL26	Eotaxin-3	CCR3 [CCR1, CCR2, CCR5]
CCL27	CTACK/ILC	CCR10
CCL28	MEC	CCR3, CCR10
C family		
XCL1	Lymphotactin/ SCM-1 α /ATAC	XCR1
XCL2	SCM-1 β	XCR1
CX3C family		
CX3CL1	Fractalkine	CX3CR1

Standard Name	Key Immunoregulatory Functions
CXCL1	Neutrophil trafficking
CXCL2	Neutrophil trafficking
CXCL3	Neutrophil trafficking
CXCL4	Procoagulant
CXCL4L1	Procoagulant
CXCL5	Neutrophil trafficking
CXCL6	Neutrophil trafficking
CXCL7	Neutrophil trafficking
CXCL8	Neutrophil trafficking
CXCL9	Th1 immune response
CXCL10	Th1 immune response
CXCL11	Th1 immune response
CXCL12	Myelopoiesis; B lymphopoiesis; HPC, neutrophil homing to marrow
CXCL13	B and T-cell trafficking in lymphoid tissue
CXCL14	Macrophage migration
Cxcl15	Neutrophil trafficking
CXCL16	NKT cell trafficking and survival
CXCL17	Mo and DC chemotaxis
CCL1	Th2 response
CCL2	Innate immunity
CCL3	Th2 response
CCL3L1	T cell and monocyte/macrophage trafficking
CCL3L3	Innate immunity
CCL4	Th1 and Th2 immune responses
CCL4L1	T/DC interaction
CCL4L2	HIV suppression
CCL5	innate and adaptive immunity
Ccl6	ND
CCL7	Th2 immune response
CCL8	Th2 immune response
Ccl9	ND
CCL10 (reserved)	NA
CCL11	Th2 immune response
Ccl12	Eo, Ba, MC trafficking, and degranulation
CCL13	ND
CCL14	ND
CCL15	ND
CCL16	DC maturation factor
CCL17	Th2 immune response
CCL18	DC attraction of T and B cells
CCL19	Hematopoiesis
CCL20	T cell and DC homing to lymph node
	GALT development
	B and DC homing to GALT
	Th17 immune response
	IgA humoral response in gut
CCL21	T cell and DC homing to lymph node
CCL22	Th2 immune response
CCL23	ND
CCL24	Eo migration
CCL25	Thymocyte migration
	Homing of memory T cells to gut
CCL26	Th2 immune response
CCL27	Homing of T cells to skin
CCL28	Homing of T cells to mucosal surfaces
XCL1	Ag cross-presentation by CD8 ⁺ DCs
XCL2	Ag cross-presentation by CD8 ⁺ DCs
CX ₃ CL1	NK, Monocyte, M Φ and Th1 cell migration

Figure 9. Classification des chimiokines, leurs récepteurs et leurs principaux effets d'après (Esche et al., 2005) et (Bachelier et al., 2014) 30

2.3/ Le système immunitaire cutané en action

En réponse à une agression extérieure notamment infectieuse, le système immunitaire cutané se défend par une première réponse innée qui, si elle est dépassée, est relayée par une réponse secondaire adaptative.

2.3.1/ Réponse immunitaire innée

Après franchissement de l'épiderme, les PAMPS des pathogènes interagissent avec les TLR présents sur la membrane des kératinocytes, des CD, des macrophages, des PNN et des mastocytes. Ainsi activées ces cellules deviennent effectrices : elles synthétisent des cytokines proinflammatoires et des chimiokines et acquièrent la capacité de phagocytose pour les CD, les macrophages et les PNN. De plus, elles synthétisent des AMP aux actions directes antibactériennes, antivirales et/ou antifongiques ainsi que chimiotactiques.

Sous l'effet des cytokines et chimiokines, les cellules endothéliales expriment des molécules d'adhésion qui vont permettre aux leucocytes de s'y fixer et de migrer vers le derme. Le type de cellules recrutées dépend des cytokines produites au site de l'infection, elles-mêmes dépendantes du type de l'agent infectieux.

Lorsque la réponse innée s'avère insuffisante une deuxième ligne de défense dite adaptative se met en place.

2.3.2/ Immunité adaptative

Initiation de l'immunité cellulaire : les cellules présentatrices d'Ag (CL, CD dermiques) phagocytent un Ag qu'ils vont présenter à leur surface sous forme de complexe peptide/CMH. Leur maturation entraîne l'allongement des dendrites, l'apparition à leur surface de molécules de costimulation (B7, CD40...), de molécules d'adhésion et l'expression de cytokines activatrices des LT. Elles vont alors migrer à travers l'épiderme et le derme vers les ganglions de drainage et présenter les Ag associés au CMH aux LT naïfs porteurs de récepteurs spécifiques. Décrit en amont, le second signal émis par des molécules de costimulation est indispensable à l'activation des LT. Sont ainsi produits, des LT effecteurs

(CD4+ et CD8+) et mémoire, clones spécifiques de l'Ag. Environ sept jours après, ces lymphocytes sortent du ganglion, passent dans le canal thoracique puis dans le sang et migrent dans la peau après avoir traversé l'endothélium vasculaire grâce à la présence de molécules d'adhésion.

Initiation de l'immunité humorale : le drainage par la lymphe des liquides cutanés infectés apporte au ganglion des débris microbiens capables d'interagir directement avec les lymphocytes B porteurs d'immunoglobulines de membrane et de les activer. Comme décrit en amont, l'activation des LB nécessite aussi la participation des LT. Ainsi des LB effecteurs et mémoire sont produits par expansion clonale et les AC sont libérés dans le sang. Les AC passent dans le liquide extracellulaire cutané et se fixent aux Ag de surface (opsonisation) activant ainsi le complément et la phagocytose.

2.3.3/ Tolérance immune

Au niveau central (moelle osseuse pour les LB et thymus pour les LT) : les APC présentent au LTh0 les Ag du soi mais sans le signal de co-stimulation, ce qui induit la tolérance et la résistance des LT à toute stimulation ultérieure par les APC. En cas d'échec, les lymphocytes autoréactifs programment leur suicide.

Au niveau périphérique : les LT régulateurs synthétisent des cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et TGF β) et inhibent par contact les lymphocytes cibles (notamment par le CTLA-4).

L'inhibition des LT régulateurs peut ainsi conduire à des maladies inflammatoires chroniques.

3/ Une maladie inflammatoire cutanée : le psoriasis

Le psoriasis est une maladie inflammatoire cutanée chronique fréquente atteignant 2 à 3 % de la population soit un million de Français (JJ Guilhou, 2000). Cliniquement, il existe plusieurs formes : le psoriasis vulgaire est le plus fréquent avec des lésions en plaques érythémato-squameuses bien limitées. A l'histologie, sont observés une hyperkératose, une parakératose (traduisant une anomalie de différenciation kératinocytaire), un affinement de la couche granuleuse, un épaissement de la couche spinieuse avec une hyperacanthose (JJ

Guilhou, 2000). Le psoriasis résulte de l'interaction entre les kératinocytes et les cellules immunitaires dont le fonctionnement peut être modulé par des facteurs environnementaux et des gènes de susceptibilité.

3.1/ Génétique

La susceptibilité génétique du psoriasis se transmet sur un mode polygénique. Plusieurs régions chromosomiques distinctes y ont été rattachées :

- PSORS1 (Psoriasis Susceptibility 1) est le locus de susceptibilité le plus régulièrement identifié en association à la maladie. Ce segment d'ADN est situé sur le chromosome 6p21 au sein de la région du CMH de type I (Trembath et al., 1997). Il rend compte de 35 à 50 % des cas de psoriasis en plaques de type I (familial à début précoce) dans la population caucasienne ; il est également un facteur de risque du psoriasis en gouttes. Il n'est pas associé au psoriasis pustuleux palmo-plantaire ni au psoriasis de type II (sporadique à début tardif) (Jullien, 2012).

- De nombreux autres gènes de prédisposition ont aussi été décrits notamment les gènes IL12B, IL23A, et IL23R codant respectivement pour une sous unité de l'IL-12, IL-23 et une chaîne du récepteur de l'IL-23 (Nestle et al., 2009b) ; TRAF3IP2 codant pour une protéine impliquée dans la régulation de la voie de signalisation de l'IL-17 ; TNFAIP3 et TNIP1 participant à la voie de signalisation du TNF- α ; RNF114 impliqué dans la régulation de voies de signalisation qui conduisent à la production d'Interféron (IFN) de type 1 ; DEFB4 codant pour la β -défensine ; LCE3B (late cornified envelope 3B) impliqué dans la différenciation terminale épidermique (Jullien, 2012).

- Il a été montré que des lésions de psoriasis traitées et blanchies cliniquement et histologiquement, conservaient des altérations de la transcription de très nombreux gènes, notamment ceux impliqués dans l'inflammation (IL-12p35, MX1, IL-22, IL-17, et IFN γ) (Suárez-Fariñas et al., 2011).

3.2/ Immunopathologie

3.2.1/ Activation des cellules dendritiques plasmacytoïdes et myéloïdes

Les DC plasmacytoïdes (pDC), sont absentes de la peau saine et sont recrutées par un facteur chimioattractant, la chémérine surexprimée dans les peaux psoriasiques (Albanesi et al., 2009). Les TLR-7 et 9 exprimés dans leurs vésicules endosomales vont reconnaître des fragments d'acides nucléiques kératinocytaires libérés lors d'un traumatisme cutané et combinés à un AMP (LL37). Les pDC activées produisent alors de l'IFN- α , qui active les DC myéloïdes (mDC) (dont les CL) (Nestle et al., 2005).

3.2.2/ Activation des LTh1, LTh17, LTh22

Les mDC et pDC activées sécrètent des cytokines proinflammatoires (TNF α , IL-6, IL-12, IL-23) et migrent vers les ganglions lymphatiques. Elles y rencontrent les LTh0 et entraînent leur différenciation en LT effecteurs : LTh1 induit par l'IL-12, LTh17 par l'IL-1, IL-6, IL-23, LTh22 induit par TNF α et l'IL-6 (Michalak-Stoma et al., 2011). Ces LT effecteurs vont ensuite circuler dans le sang pour rejoindre la peau et notamment l'épiderme en raison de l'interaction entre le VLA-1 ((Very Late Antigen 1) lymphocytaire et le collagène IV de la membrane basale (Nestle et al., 2009b).

3.2.3/ Activation des kératinocytes

Les cytokines synthétisées par les LTh1 (INF γ), LTh17 (IL-17, IL-22), et les Th22 (IL-22) vont favoriser la libération de molécules proinflammatoires par les kératinocytes via l'activation des facteurs de transcription STAT1, STAT3 et NF- κ B (Albanesi et al., 2007) (figure 10) :

- facteurs de croissance : TGF α (transforming growth factor α), KGF (keratinocyte growth factor), amphiréguline, FGF-10 (fibroblast growth factor-10), GM-CSF (Albanesi et al., 2007).

- AMP : LL-37, S100A7, β défensine 1 et 2 (Nestle et al., 2009b)

- cytokines : l'IL-19, l'IL-20 qui favorisent la prolifération kératinocytaire, l'IL-15 qui active les LT et les monocytes, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-23 nécessaires au développement des Th17 ainsi que l'IL-6 et TNF α (Ghoreschi et al., 2010)

- chimiokines : IL-8, MCP-1, RANTES, IP-10, GRO α , MIG (Albanesi et al., 2007)

Ces molécules entraînent, une vasodilatation, une néo-vascularisation, le recrutement de PNN, de LT, de monocytes, la prolifération et la diminution de la différenciation des kératinocytes (Albanesi et al., 2007).

3.2.4/ Chronicisation de la réponse inflammatoire

Un déficit numérique et fonctionnel des LT régulateurs avec diminution de la synthèse d'IL-10 et TGF β empêcherait l'inhibition de la réponse immune (Michalak-Stoma et al., 2011),

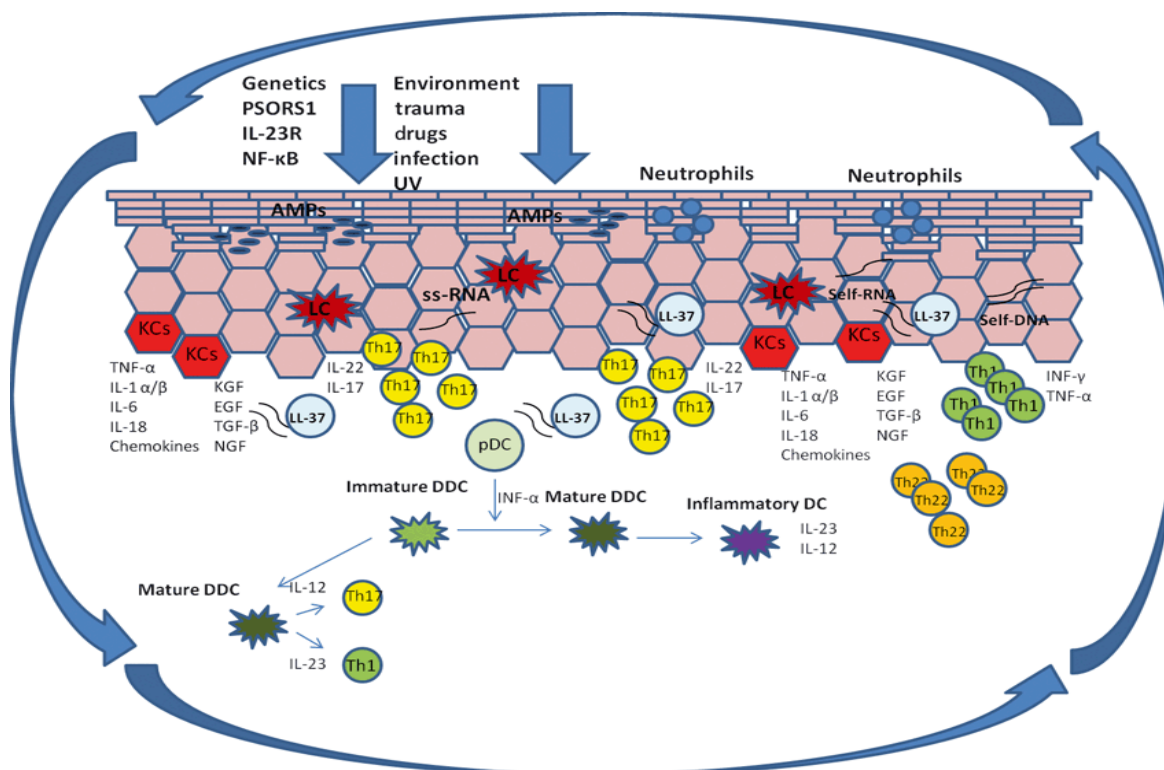


Figure 10. Schématisation de la physiopathologie du psoriasis (Mattozzi et al., 2012).

3.3/ Modèles de psoriasis

Les modèles reproduisant une pathologie sont très utilisés pour étudier les mécanismes physiopathologiques d'une maladie et notamment le rôle particulier d'une molécule. Dans notre travail, ces modèles nous ont permis d'étudier la synthèse de la A-SAA.

3.3.1/ Modèle *in vitro* de psoriasis

D'antérieures études du laboratoire ont permis la mise au point d'un modèle cytokinique *in vitro* de psoriasis. L'effet de 36 cytokines sur les kératinocytes en culture, a été évalué par

l'étude de l'expression de 154 gènes potentiellement impliqués dans l'inflammation cutanée (Boniface et al., 2007). Parmi elles, 5 cytokines ont été sélectionnées pour leurs rôles connus dans le psoriasis et leurs effets proinflammatoires intenses et synergiques sur les kératinocytes en culture (NHEK : Normal Human Epidermal Keratinocyte) : l'IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM et TNF α . En effet, ce mélange de 5 cytokines (M5) permet l'activation des facteurs de transcription NF- κ B, C/EBP β et STAT3 entraînant des effets particuliers sur l'inflammation cutanée : défense anti-microbienne (activation de la synthèse kératinocytaire d'AMP : BD2, S100A7, LL37, RNase7), recrutement de cellules immunitaires (via la synthèse de chimiokines : CXCL1, CXCL2, CXCL3, CCL20), hyperplasie épidermique (par l'inhibition de la différenciation kératinocytaire et l'activation de leur prolifération) (Guilloteau et al., 2010). Enfin, le profil d'expression génique des NHEK *in vitro* stimulés par M5 a pu être corrélé significativement à celui des peaux issues de patients psoriasiques (figure 11).

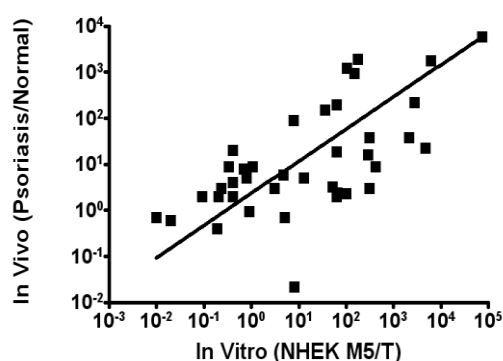


Figure 11. Corrélation entre les profils transcriptomiques des NHEK stimulés avec le mélange M5 et des peaux lésées issues de patients psoriasiques (Spearman $r=0.9072$; $p<0.00001$) (Guilloteau et al., 2010).

3.3.2/ Modèle murin de psoriasis

Un modèle murin de psoriasis décrit dans la littérature est utilisé au laboratoire LITEC (van der Fits et al., 2009). L'Imiquimod 5% en crème (Aldara®) appliquée sur la peau rasée du dos de souris quotidiennement pendant 6 jours, permet d'obtenir un phénotype cutané de psoriasis. L'Imiquimod (IMQ) est un activateur du système immunitaire dont les propriétés anti-tumorales et anti-virales sont utilisées en médecine humaine pour le traitement de certains cancers cutanés superficiels (carcinomes basocellulaires superficiels, kératoses actiniques) et certaines infections cutanées à papilloma virus humain (verruës génitales). L'IMQ est un ligand agoniste du TLR7/8 exprimé par les pDC, les monocytes et les

macrophages (van der Fits et al., 2009). L'application cutanée d'IMQ induit le recrutement de cellules pDC et l'activation du facteur de transcription NF- κ B, entraînant la synthèse de médiateurs proinflammatoires tels que des cytokines (IFN α , IFN γ , TNF α , IL-6, IL-12), des facteurs de croissance (G-CSF, GM-CSF), des chimiokines (IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β) (Schön et al., 2006). L'immunité est alors orientée vers un profil Th1 favorisant les défenses anti-tumorales et anti-virales. Chez la souris l'IMQ active aussi l'axe IL-23/IL-17 connu pour être impliqué dans la physiopathologie du psoriasis. En effet, l'inflammation cutanée induite par l'application d'IMQ était totalement inhibée chez les souris IL-17 Knockout (KO) et les souris IL-23 KO (van der Fits et al., 2009). L'IMQ aurait une action directe sur les kératinocytes : *in vitro*, les NHEK stimulés par l'IMQ synthétisent des cytokines proinflammatoires telles que l'IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α (Kono et al., 1994) (Schön et al., 2006). L'IMQ est un antagoniste du récepteur A_{2A} de l'adénosine exprimé par les kératinocytes. Les effets immunorégulateurs de ce récepteur permettent de protéger les tissus d'une inflammation excessive. Lors de dommages tissulaires l'adénosine libérée, active ce récepteur. Cela majore l'activité de l'Adenylyl cyclase et la synthèse d'AMPc (adénosine monophosphate cyclique) qui diminue la transcription de médiateurs proinflammatoires. L'action inhibitrice de l'IMQ sur ce récepteur explique son effet proinflammatoire sur les cellules n'exprimant pas de TLR7/TLR8 comme les kératinocytes (Schön et al., 2006). Globalement, le phénotype de psoriasis induit par l'application cutanée d'IMQ, serait dû à l'activation des kératinocytes et du système immunitaire orienté Th1 / Th17.

4/ La protéine A-SAA humaine

4.1/ Généralités

Les protéines Serum Amyloid A (SAA) constituent une famille d'apolipoprotéines liées aux HDL (High density Lipoprotein), leur poids moléculaire est approximativement de 12 kDa (Hari-Dass et al., 2005). Elles sont présentes chez de nombreuses espèces dont l'homme et la souris (Uhlir and Whitehead, 1999).

4.2/ Les gènes de la famille SAA

Il existe 4 gènes codant pour la SAA, situés sur le bras court du chromosome 11 (11p15.1) (Magy, 2004). Les gènes SAA1 et SAA2 codent pour des protéines de 107 acides aminés, de 11,7 kDa qui correspondent à la A-SAA (Acute SAA). Les protéines SAA1 et 2 ne diffèrent que par une séquence d'environ 6 acides aminés, (Moshkovskii, 2012) ce qui rend leur discrimination difficile en RT qPCR (Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction) et ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). En phase inflammatoire aigue, le taux sérique de A-SAA peut atteindre 1000 mg/L (Uhlir and Whitehead, 1999), alors qu'il est inférieur à 1 mg/L en conditions physiologiques (Baranova et al., 2005). Elle intervient dans la physiopathologie de l'amylose AA, secondaire à des maladies inflammatoires chroniques. Après son clivage, elle constitue le principal composant des dépôts amyloïdes (Urieli-Shoval et al., 1998). Le gène SAA3 est un pseudo gène non codant. Le gène SAA4 code pour la C-SAA une protéine constitutive synthétisée en conditions normales et non inductible (Uhlir and Whitehead, 1999).

4.3/ Synthèse hépatique

Sa production est connue pour être principalement hépatique. La synthèse par les cellules de la lignée d'hépatome HepG2 est stimulée principalement par les cytokines IL-1 β , IL-6, et TNF α (Steel et al., 1996). Les facteurs de transcriptions NF- κ B, C/EBP β , STAT3 activés forment alors un complexe hétérodimérique qui initie la transcription des gènes SAA1 et 2 (Hagihara et al., 2005) (figure 12).

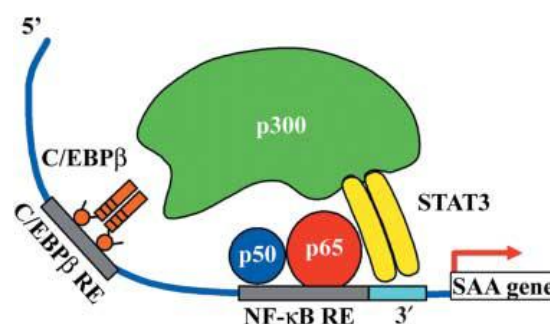


Figure 12. Schéma du complexe hétérodimérique formé par les facteurs de transcription NF- κ B, C/EBP β , STAT3, initiant la transcription des gènes SAA1 et 2 après stimulation des hépatocytes (HepG2) par l'IL-1 et IL-6 (Hagihara et al., 2005).

4.4/ Synthèse extra hépatique

Si les protéines SAA1, 2, 4 sont principalement synthétisées par les hépatocytes, plusieurs études ont montré leur expression par d'autres types cellulaires tels que les leucocytes (Yamada et al., 2000), les synoviocytes (O'Hara et al., 2000), les chondrocytes (Momohara et al., 2008), les adipocytes (Poitou et al., 2005), les cellules épithéliales notamment épidermiques (Urieli-Shoval et al., 1998) (figure 13).

Tissues	Histological localization	ISH ^a	IHC ^b	RT-PCR ^c
Breast	Lobule + duct epithelium	+ ^d	+	+
Large intestine	Glandular epithelium, lymphoid follicles	+	+	+
Small intestine	Glandular epithelium	+	+	
Stomach	Glandular epithelium	+		
Esophagus				+
Pancreas	Glandular epithelium	+	+	
Prostate	Glandular epithelium	+	+	
Lung	Alveolar epithelium	+		
Skin	Epidermis	+	+	
Brain	Neurons	+	+	
Tonsil	Crypt epithelium, lymphoid follicles	+		
Kidney	Tubule epithelium	+	+	+
Thyroid	Follicular epithelium	+	+	
Pituitary	Glandular epithelium	+	+	
Placenta	Trophoblasts	+	+	
Spleen	Sinusoid lining cells, white pulp	+		+
Liver	Hepatocytes	+	+	

^aIn situ hybridization.

^bImmunohistochemistry.

^cReverse transcriptase-polymerase chain reaction.

^dPresence of SAA mRNA (by ISH or RT-PCR) or presence of SAA protein (by IHC). This is a summary of experiments shown in Figures 1–3 as well as others not shown. Blank spaces indicate studies that were not done.

Figure 13. Expression de SAA 1, 2, 4 dans les tissus épithéliaux humains sains (Urieli-Shoval et al., 1998).

4.5/ Ses récepteurs et voies de signalisation

4.5.1/ Formyl Peptide Receptor like 1

Le récepteur Formyl Peptide Receptor Like 1 (FPRL1) aussi appelé Formyl Peptide Receptor 2 (FPR2) appartient à la famille des récepteurs transmembranaires couplés à la protéine G (Le et al., 2002). Il est exprimé par les PNN, les monocytes/macrophages, les CD, les LT, les LB, les cellules épithéliales, les fibroblastes, les cellules endothéliales, les hépatocytes (Migeotte et al., 2006). Il peut se lier à différentes protéines telles que A-SAA, LL-37, lipoxine A4, des peptides microbiens, entraînant une action antimicrobienne par l'activation du chimiotactisme, de la phagocytose et de la synthèse de cytokines (Le et al., 2002). En

particulier, sa liaison à la protéine A-SAA entraîne la mobilisation du calcium intracellulaire, la phosphorylation des MAPK (ERK1/2, p38) et l'activation du NF-κB. Cette signalisation induit le chimiotactisme des PNN, des LT, des monocytes et des mastocytes (Su et al., 1999a), la synthèse de cytokines (dont IL-8, TNFα, IL-10) par les PNN (He et al., 2003), la production de MMP-9 par les monocytes sanguins humains (Lee et al., 2005) et de MMP-1, 3 par les fibroblastes synoviaux issus d'articulations de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) (O'Hara et al., 2004).

4.5.2/ TLR2

Ni Cheng et Al ont montré que la protéine A-SAA pouvait se lier au TLR2 des cellules HeLa et activer les MAPK (ERK1/2, p38, and JNK) ainsi que le NF-κB. Utilisant des macrophages murins sauvages et TLR2 ^{-/-}, la A-SAA induisait *via* ce récepteur, la synthèse de cytokines IL-10, IL-1Ra, TNFα, IL-23p19 (Cheng et al., 2008), comme de G-CSF responsable d'une neutrophilie chez la souris (He et al., 2009).

4.5.3/ TLR4

A-SAA est un agoniste endogène du TLR4. Elle induit la production par les macrophages péritonéaux murins de monoxyde d'azote (NO), substance microbicide. La signalisation intracellulaire induite entraîne l'activation des MAPK (ERK1/2 et p38) (Sandri et al., 2008) et du NF-κB (Baranova et al., 2010).

4.5.4/ Scavenger receptors

Il s'agit d'une famille de récepteurs composée de glycoprotéines transmembranaires jouant un rôle dans le métabolisme du cholestérol en se liant aux apolipoprotéines LDL (low density lipoproteins), aux VLDL (very low density lipoproteins) et aux HDL (high-density lipoproteins) (Valacchi et al., 2011). Ils reconnaissent les hélices α amphiphiles, une structure secondaire commune aux apolipoprotéines, dont la A-SAA (Baranova et al., 2005). Ils assurent aussi leur rôle « d'éboueur » en se liant aux cellules apoptotiques (Baranova et al., 2005).

4.5.4.1/ SR-B1 (*Scavenger receptor classe B type 1*)

Ce récepteur de 82 KDa est exprimé par de nombreux types cellulaires dont les hépatocytes, les macrophages, les cellules endothéliales, les fibroblastes (Valacchi et al., 2011), les cellules des glandes surrénales, les cellules ovariennes (Baranova et al., 2005), les kératinocytes

(Fujimoto et al., 2010). Mullan *et al* ont montré que la A-SAA pouvait avoir un rôle dans la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde (PR) *via* ce récepteur. Les tissus synoviaux enflammés issus d'articulations atteintes de PR surexpriment ce récepteur. Sa liaison à la A-SAA entraîne la production d'IL-6 et IL-8 *via* l'activation des MPAK (ERK1/2 et p38) (Mullan et al., 2010).

4.5.4.1/ CD36

Le CD36 est une glycoprotéine transmembranaire de 88 KDa exprimée par les érythrocytes, les monocytes, les macrophages, les plaquettes, les cellules endothéliales, les adipocytes (Nicholson et al., 2000), les kératinocytes (Fujimoto et al., 2010). Son activation par la A-SAA induit la production d'IL-6, IL-8 et TNF α par les monocytes sanguins humains et les macrophages murins *via* l'activation de MAPK (ERK1/2, JNK) (Baranova et al., 2010).

4.5.4.2/ CLA-1 (CD36 and LIMPII Analogous-1)

Ce récepteur de 85 KDa (Calvo et al., 1997) est exprimé par de nombreux types cellulaires dont les hépatocytes, les monocytes, les macrophages, les cellules des glandes surrénales, les cellules ovariennes (Baranova et al., 2005). Sa liaison à la A-SAA entraîne *in vitro*, sur des cellules surexprimant ce récepteur (HeLa et Human monocyte cell line (TPH-1)) la phosphorylation des MAPK (ERK1/2, p38) et la production d'IL-8 (Baranova et al., 2005).

4.5.5/ RAGE (Receptor of Advanced Glycation End-products)

C'est un récepteur transmembranaire de 55 KDa appartenant à la superfamille des immunoglobulines (Yan et al., 2000). Il est exprimé par différents types cellulaires dont les monocytes, les macrophages, les LT, les LB, les PNN, les cellules dendritiques, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses vasculaires, les cellules pulmonaires, les fibroblastes, les kératinocytes (Fujimoto et al., 2010). Surexprimé en situations inflammatoires, il pourrait avoir un rôle dans différentes pathologies comme le cancer, le diabète, les maladies cardio-vasculaires, neurologiques et pulmonaires (Sparvero et al., 2009). La liaison de la A-SAA au récepteur RAGE de cellules mononuclées humaines normales (PBMC), entraîne l'activation de MAPK (ERK1/2, p38) et de NF- κ B, induisant la production de Tissue Factor (Cai et al., 2007) ayant un rôle dans l'hémostase, l'inflammation, l'angiogénèse et la migration cellulaire (Mackman, 2004). Utilisant des fibroblastes humains issus

d'articulations de patients atteints de PR, il a été montré que la liaison de A-SAA au récepteur RAGE entraînait l'activation du NF- κ B et l'expression de cytokines proinflammatoires IL-6 et IL-8 (Okamoto et al., 2008).

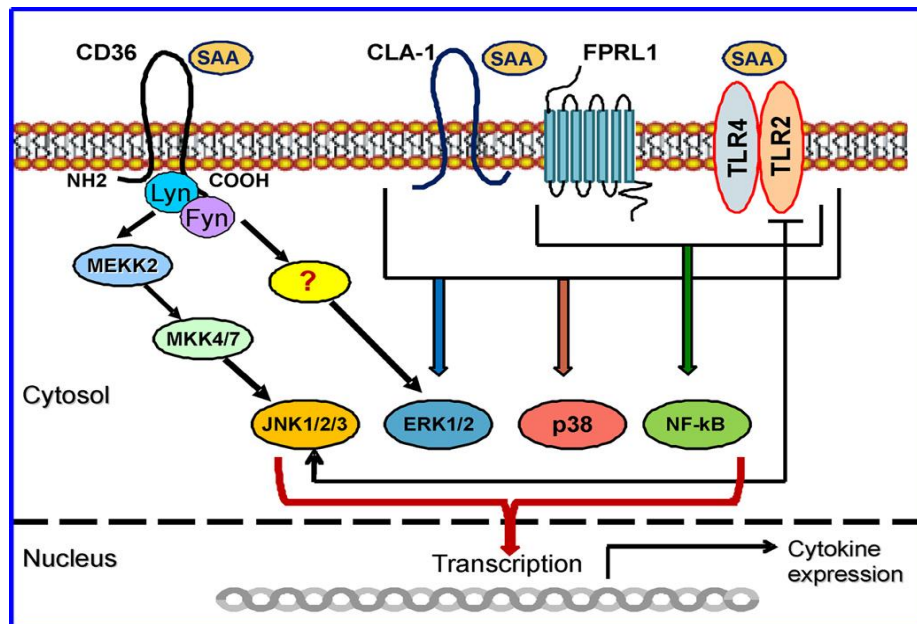


Figure 14. Schématisation de différents récepteurs liant la protéine A-SAA et leurs voies de signalisation intra-cellulaire (Baranova et al., 2010)

4.6/ Les activités biologiques de la protéine A-SAA

4.6.1/ Transport et métabolisme du cholestérol

Les protéines SAA1, SAA2, SAA4 sont des apolipoprotéines principalement liées au HDL (Hari-Dass et al., 2005). En phase inflammatoire aiguë, la A-SAA est synthétisée en grande quantité par le foie. La A-SAA remplace alors l'apolipoprotéine A-1 (ApoA1) des HDL, devenant leur apolipoprotéine prédominante (Uhlir and Whitehead, 1999). Ainsi, leur affinité pour les hépatocytes diminue et celle pour les macrophages augmente. Les HDL seront alors préférentiellement redistribués vers les macrophages leur permettant d'être phagocytés au site de la lésion tissulaire (Magy, 2004). Alors que la SAA4 n'a qu'une fonction d'apolipoprotéine, la A-SAA libre (non liée aux HDL) va pouvoir jouer différents rôles dans un contexte inflammatoire.

4.6.2/ Cicatrisation

Via le récepteur FPR2, la A-SAA favorise la production de metalloprotéinases par les fibroblastes des tissus synoviaux issus de patients atteints de PR (O'Hara et al., 2004) et les cellules monocytaires (Lee et al., 2005).

In vitro la A-SAA favorise la synthèse de molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1) par les fibroblastes synoviaux et les cellules endothéliales des tissus synoviaux issus de patients atteints de PR, entraînant le recrutement des leucocytes. Elle active aussi l'angiogénèse (Mullan et al., 2006).

La A-SAA favorise la prolifération des fibroblastes *via* la production de ROS (reactive oxygen species) qui ont un rôle dans la différenciation, la mort cellulaire et la synthèse de cytokines. Si ce processus est nécessaire à la réparation tissulaire, l'augmentation pathologique de la A-SAA peut aller jusqu'à une fibrose impliquée dans de nombreuses pathologies comme la PR, l'athérosclérose, la néphropathie et la rétinopathie diabétique (Hatanaka et al., 2011).

4.6.3/ Agrégation plaquettaire

La A-SAA inhibe l'agrégation plaquettaire en activant *in vitro* la synthèse d'un agent antiagrégant, la prostaglandine I₂ par les cellules endothéliales (Shainkin-Kestenbaum et al., 1996) et en se liant au récepteur plaquettaire α IIb β 3 (GPIIb-IIIa) (Urieli-Shoval et al., 2002).

4.6.4/ Immunité innée

La A-SAA favorise la chimioattraction et l'activation des PNN et monocytes *via* le récepteur FPR2 (Su et al., 1999b).

Elle se comporte comme une opsonine en se liant à la protéine OmpA (outer membrane protein A) présente sur la plupart des bacilles gram négatif (dont *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), activant leur phagocytose par les macrophages et les PNN (Hari-Dass et al., 2005). Cette opsonisation favorise la synthèse de TNF α et IL-10 par les phagocytes (Shah et al., 2006). Ce phénomène apparaît à des concentrations physiologiques de A-SAA, ce qui conforte son rôle dans l'immunité innée (Shah et al., 2006).

4.6.5/ Immunité adaptative

La A-SAA entraîne la chimioattraction des LT (Xu et al., 1995). De plus, Elle induit la synthèse de différentes cytokines par les leucocytes, entraînant la modulation des fonctions lymphocytaires T (He et al., 2006).

La A-SAA *in vitro* la synthèse de :

- l'IL-23 par les monocytes sanguins humains (He et al., 2006) et les synoviocytes issus de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (Migita et al., 2010)
- l'IL-1 α , l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-23, et le TNF α par les CD murines. (Ather et al., 2011),
- l'IL-1 β , le TNF α , et l'IL-8 par les PNN sanguins humains *in vitro* (Furlaneto and Campa, 2000),
- l'IL-17 par les LTCD4⁺ murins mis en présence de CD stimulés par la A-SAA, suggérant leur différenciation en LTh17 (Ather et al., 2011).

4.6.7/ Amylose AA

L'amylose est une maladie de surcharge rare résultant du dépôt tissulaire de fibrilles amyloïdes, en feuillets β plissés, entraînant une perturbation fonctionnelle de l'organe correspondant. La protéine précurseur est différente suivant le type d'amylose, par exemples : chaînes légères d'immunoglobulines pour les amyloses AL, transthyrétine pour les amyloses séniles et β 2 microglobuline pour les amyloses des hémodialysés, A-SAA pour les amyloses AA aussi appelées amyloses secondaires (Stankovic et al., 2012).

L'amylose AA est secondaire à des pathologies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante, l'arthrite chronique juvénile, les maladies inflammatoires du tube digestif, la fièvre méditerranéenne familiale, les infections chroniques (tuberculose, ostéomyélite), certaines néoplasies (cancer rénal, hépatome, lymphome). De rares cas d'Amylose AA secondaires à des maladies dermatologiques ont été décrites telles que le psoriasis (associé à une atteinte articulaire dans 85% des cas) (Bergis et al., 2003), des ulcères veineux de jambes (Waton et al., 2008).

Tous les organes peuvent être touchés, mais il existe une prédilection pour le rein (insuffisance rénale), la rate, le tube digestif (douleur abdominale, malabsorption), le foie (hépatomégalie), la thyroïde (goitre, hypothyroïdie), les glandes surrénales (insuffisance

surrénalienne) (Grateau, 2006). L'atteinte cutanée est inhabituelle, seulement quelques cas sont rapportés dans la littérature avec principalement des lésions purpuriques (Modiano, 2003) et rarement, des lésions nodulaires (Katsikas et al., 2008), bullo-hémorragiques (Grundmann et al., 2000), des ulcérations, des papules buccales (Kolokotronis et al., 2003) (Cengiz et al., 2010), des dystrophies unguéales (Fich S et al., 2012).

Le diagnostic est effectué par l'analyse histologique de la biopsie d'un organe atteint, la coloration rouge congo révèle des dépôts rouges vifs, biréfringents. Dans 40 à 70% des cas, des dépôts sont retrouvés en peau saine (Bergis et al., 2003).

La protéine A-SAA est le précurseur de la protéine amyloïde, principal constituant des dépôts amyloïdes AA (Uhlir and Whitehead, 1999). L'augmentation du taux sérique de A-SAA dans les situations inflammatoires chroniques est l'étape préalable à la formation des fibrilles amyloïdes. Le système de dégradation de la protéine normalement assuré par les macrophages serait alors saturé, entraînant un déficit de protéolyse par les cathepsines endosomiques avec dégradation de son extrémité C-terminale et conservation de son extrémité N-terminale. Ainsi, ces fragments accumulés acquièrent une structure β -plissée au contact de l'AEF (Amyloid enhancing factor), une structure protéique qui serait contenue dans les endosomes macrophagiques et qui agirait comme un échafaudage (Magy, 2004). Les complexes fibrilles-AEF seraient ensuite exocytés puis s'associeraient au composant P amyloïde sérique et aux glycosaminoglycannes (héparane sulfate) leur conférant une résistance à la protéolyse (Magy, 2004). Certains polymorphismes génétiques correspondant à des isoformes de la A-SAA sont plus amyloïdogènes que d'autres, et favoriseraient le développement d'une amylose AA lors de maladie inflammatoire chronique (van der Hilst, 2011).

5/ Particularités de la protéine A-SAA murine

Comme chez l'homme il existe 4 gènes codant pour la protéine SAA : SAA1, 2, 3, 4. Chez la souris les gènes SAA1, 2, et 3 codent pour la A-SAA, dont le rôle est similaire à celui observé chez l'homme, alors que le gène SAA4 code pour la C-SAA. La synthèse des protéines SAA1 et 2 est principalement hépatique alors que celle de la SAA3 est aussi extra-hépatique (Uhlir and Whitehead, 1999) (figure 15).

Tissue	Treatment		
	LPS		
	SAA ₁	SAA ₂	SAA ₃
Liver	100	100	100
Kidney	20	5	11
Large intestine	4.5	0	25
Small intestine	1	0	10
Duodenum	0	0	3
Jejunum	1	0	7
Ileum	15	0	10
Adrenal	1	2	35
Lung	1	0.5	60
Spleen	0	0	25
Heart	0	0	30
Testis	0	0	12
Skeletal muscle	0	1	8
Stomach	0	0.5	7
Brain, pituitary, pancreas	0	0	1
Macrophages	0	0	100

Figure 15. Expression relative des transcrits codant pour SAA 1, 2, 3 dans les tissus épithéliaux de souris BALBc après injection systémique de LPS (Meek and Benditt, 1986).

Schlingemann *et al* détectent des transcrits codant pour SAA3 dans la peau de souris C57BL/6. L'expression est faible en peau saine et plus importante en peaux issues de carcinomes épidermoïdes chimio-induits où la SAA3 pourrait participer à l'inflammation et à la prolifération épidermique (Schlingemann et al., 2003).

II/ Objectifs

Des travaux suggèrent la production de A-SAA au niveau cutané exacerbée en situation inflammatoire (résultats préliminaires du laboratoire). Nos objectifs sont de confirmer ces observations par une étude *in vitro* des conditions de production de la A-SAA par les kératinocytes et d'étudier une éventuelle surexpression dans le psoriasis, maladie inflammatoire chronique de la peau ou dans un modèle de psoriasis induit chez la souris.

1/ Etude in vitro de la synthèse de A-SAA par les kératinocytes humains

Notre objectif est de quantifier l'expression cutanée des transcrits codant pour A-SAA issus de NHEK stimulés par différentes cytokines proinflammatoires parmi celles du mélange M5 (IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM et TNF α) en comparaison avec les NHEK contrôles non stimulés.

En parallèle, nous doserons de la protéine A-SAA dans les surnageants de cultures provenant de NHEK stimulés par les cytokines du mélange M5, en comparaison avec les surnageants issus de NHEK contrôles non stimulés (Guilloteau et al., 2010) (Rabeony et al., 2014, en révision).

2/ Etude de l'expression de A-SAA en situation inflammatoire cutanée : le psoriasis

Notre objectif est de quantifier l'expression des transcrits codant pour A-SAA dans les échantillons de peaux lésées issues de patients psoriasiques en comparaison avec les échantillons de peaux issues de patients sains contrôles.

En parallèle, nous réaliserons le dosage de la protéine A-SAA dans les sérums de patients psoriasiques en comparaison avec les sérums de patients sains contrôles.

3/ Etude de l'expression cutanée de A-SAA dans un modèle murin de psoriasis

Nous quantifions l'expression cutanée des transcrits codant pour SAA1/2 et SAA3 dans les lésions de psoriasis induites par l'application de crème Imiquimod 5% en comparaison avec des souris contrôles traitées par vaseline ou non traitées.

III/ Article

Proinflammatory cytokines induce A-SAA synthesis by keratinocytes : a contribution to A-SAA overexpression in psoriasis ?

E. Couderc^{1,2}, H. Rabeony¹, C. Lacombe³, A. Morgado^{1,2}, C. paquier^{1,2}, J.F. Jegou, L. Favot, C. Sylvain, P. Levillain³, F.X. Bernard⁴, G. Guillet^{1,2}, F. Morel¹, J-C Lecron^{1,5}

1 Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines, UPRES EA 4331, Pôle Biologie Santé, Université de Poitiers, 1 rue Georges Bonnet, 86022 Poitiers Cedex, France

2 Service de Dermatologie, CHU de Poitiers, 86021 Poitiers, France

3 Service d'Anatomopathologie, CHU de Poitiers, 86021 Poitiers, France

4 Laboratoire Bioalternatives, 1 bis rue des plantes, 86160 Gencay, France

5 Laboratoire Immunologie et Inflammation, CHU de Poitiers, 86021 Poitiers, France

Corresponding author : Jean-Claude Lecron, Address : Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines, Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines, EA 4331 Université de Poitiers, UFR SFA Pôle Biologie Santé, Bâtiment B36/B37 zone alpha 1, 1 Rue Georges Bonnet, TSA 51106, 86073 POITIERS Cedex 9, France; Phone: +33.5.49.45.40.54. ; Fax: +33.5.49.45.37.03, E-mail address : Jean-Claude.Lecron@univ-poitiers.fr

Abbreviations ; A-SAA (Acute Serum Amyloid A), NHEK (Normal Human Epidermal Keratinocyte), IMQ (Imiquimod), TLR (Toll-Like Receptor), AMP (antimicrobial peptide), pDC (plasmacytoid dendritic cell), mDC (myeloid dendritic cell)

Abstract

Background : Acute-serum Amyloid A (A-SAA) is one of the major acute-phase proteins, mainly produced in the liver but also detected in extra-hepatic tissues. Its expression is regulated by the transcription factors NF- κ B, C/EBP β , STAT3 activated by proinflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, TNF α . A-SAA plasma levels are increased in acute-phase response and chronic inflammatory disease like psoriasis, a skin disease with a systemic immune-mediated disorder.

Objectives : Investigate A-SAA synthesis by resting and cytokine activated Normal Human Epidermal Keratinocytes (NHEK) and study A-SAA expression in psoriatic skins and sera from human patients and in skin from mouse model resembling psoriasis.

Methods : NHEK were cultured and stimulated by cytokines IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF- α alone or in combination, chosen for their reported proinflammatory effects on skin, reproducing some features of psoriasis. Human skin and sera were obtained from psoriatic patients and murine skins, from an Imiquimod mouse model of psoriasis. A-SAA mRNA from NHEK and skins were analyzed by RT qPCR and proteins were dosed by ELISA in NHEK supernatants and by immunonephelometry assay in sera.

Results : A-SAA was significantly overexpressed in stimulated NHEK and its supernatants, mainly activated by IL-17A, IL-1 α and TNF α . A-SAA expression was increased in human psoriatic skins and sera and was correlated with the disease severity and duration. Finally, A-SAA skin expression from mouse psoriasis model was also raised.

Conclusion : A-SAA overexpression in psoriatic skins and sera could be due to keratinocyte synthesis mainly stimulated by Th17 relevant cytokines and could participate to the disease pathogenesis. Its role in psoriasis could be investigated by studying psoriatic skin inflammation in A-SAA knockout mice.

Key words : Serum amyloid A, psoriasis, keratinocytes, cytokines, inflammation, secondary amyloidosis.

Introduction

Serum amyloid A (SAA) is a family of small homologous apolipoproteins of High Density Lipoprotein (HDL) ranging from 12 kDa to 14 kDa with a cholesterol metabolism function (Lee et al., 2005). The human SAA family contains different isoforms. Whereas SAA3 is a pseudogene and SAA4 a constitutive and not inducible protein (C-SAA), SAA1 and 2 are inducible in inflammatory conditions and known as acute-phase proteins (A-SAA). Characterised by 95% homology, mRNA and proteins can hardly be differentiated by RT qPCR (Real Time quantitative PCR) or ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Mouse SAA family is also composed of four isoforms : SAA4 gene corresponds to C-SAA protein and SAA1, 2, 3 genes express A-SAA protein (Uhlir and Whitehead, 1999).

Binding to different sets of receptors, A-SAA has a panel of different activities. Through the Formyl Peptide Receptor Like 1 also named Formyl Peptide Receptor 2 (FPR1/FPR2), A-SAA promotes the chemotaxis of neutrophils, lymphocytes, monocytes (Su et al., 1999a), proinflammatory cytokines production by neutrophils (He et al., 2003), matrix metalloproteinases synthesis by fibroblasts (O'Hara et al., 2004) and angiogenesis (Mullan et al., 2006). By binding to Toll-Like Receptor (TLR) 2, A-SAA stimulates the proinflammatory cytokine production by mouse (Cheng et al., 2008) and human macrophages (He et al., 2009). Through the TLR4, A-SAA activates Nitric Oxide (NO) production by mouse peritoneal macrophages (Sandri et al., 2008). A-SAA also promotes proinflammatory cytokine synthesis by human monocytes through scavenger receptors (SR-B1 (Scavenger Receptor classe B type 1) and CLA-1 (CD36 and LIMPII Analogous-1)) that are known to bind to apolipoprotein (Baranova et al., 2005) and RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) a member of the immunoglobulin superfamily (Baranova et al., 2010)). A-SAA also plays a role of opsonine binding to the outer membrane protein A of gram-negative bacteria, facilitating phagocytosis (Hari-Dass et al., 2005).

A-SAA is produced by hepatocytes and can be dosed in sera. Whereas, normal human sera concentration are < 1 mg/L, synthesis can be dramatically increased during the acute phase response, able to reach as 1000 mg/L (He et al., 2009). A-SAA serum levels are also increased in chronic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis (Chambers et al., 1983), ankylosing spondylitis (Jung et al. 2007), psoriasis (Dogan and Atakan, 2010), familial Mediterranean fever (Dzhendoian 2011), neoplastic diseases (Kimura et al., 2001). After many

years of a chronic serum A-SAA increase, insufficient degradation systems can induce amyloid fibril organ deposition leading to the development of secondary amyloidosis (Cai et al., 2005). Psoriasis is a rare cause of secondary amyloidosis with forty cases described up to now in the literature (Bergis et al., 2003).

A human A-SAA extra-hepatic production has been described by Urieli-Shoval *et al.* (Urieli-Shoval et al., 1998). *In vitro*, A-SAA synthesis by hepatoma, fibroblast, epithelial or endothelial cell lines is stimulated by proinflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, TNF α (Steel et al., 1996). Cytokine stimulation leads to the formation of a transcription factor heterodimeric complex composed of NF- κ B, C/EBP β , STAT3, resulting in the augmentation of the transcriptional activity of SAA1 and 2 genes (Hagihara et al., 2005). In mice, SAA1 and 2 are mainly synthesized by hepatocytes whereas, SAA3 is detected in several hepatic and extrahepatic tissues (Upragarin et al., 2005).

Psoriasis is a chronic inflammatory skin disease with a systemic, immune-mediated response (Reich, 2012). Pathogenesis can be initiated by activated plasmacytoid dendritic cells (pDCs) through complexes of the antimicrobial peptide (AMPs) cathelicidin (LL-37) and DNA in a TLR 7 and 9 dependent manner (Nestle et al., 2009b). Interferon α (IFN α) synthesized by pDCs activates myeloid DCs (mDCs) producing IL-23 and IL-12 which stimulate the skin-resident and newly recruited T cells and polarize them into Th17, Th22, and Th1 cells (Lowes et al., 2013). DC and T cell-derived cytokines including IFN β and γ , IL-17A, IL-17F, IL-22, TNF α stimulate keratinocytes to synthesize proinflammatory cytokines (including IL-1 β , IL-6, TNF α), AMPs (including LL-37, β -defensins, S100 proteins), T cell and neutrophil-attracting chemokines (including CXCL1, CXCL3, CXCL8-11, CCL17-20) (Boniface et al., 2005) (Boniface et al., 2007) (Nestle et al., 2009b). This promotes epidermal hyperplasia by impairing keratinocyte differentiation (Di Meglio et al., 2011) (Rabeony et al., 2014), increasing keratinocyte proliferation and leukocyte recruitment (Nestle et al., 2009b). This skin orchestrated cascade of pathogenic events ultimately leads to the local formation of psoriatic plaques and contribute to a systemic inflammation (Nestle et al., 2009b).

We previously demonstrate the advantage to investigate the effect of the cytokines IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, and TNF α on cultured Normal Human Epidermal Keratinocytes (NHEK) and Reconstituted Human Epidermis (Guilloteau et al., 2010) (Rabeony et al., 2014). These cytokines were chosen for their intense and synergic proinflammatory effects

reproducing some features of psoriasis with a significant transcriptional profile correlation with psoriatic skins. In particular, we showed a dramatically keratinocyte overexpression of antimicrobial peptides (BD2, S100A7, LL37, RNase7), chemokines (CXCL1, CXCL2, CXCL3, CCL20), cytokines (IL-17A, IL-22, IL-23) known to be involved in psoriasis (Guilloteau et al., 2010). *In vitro*, A-SAA synthesis has been studied with different cell types like hepatocytes (Steel et al., 1993), leucocytes (Yamada et al., 2000), chondrocytes (Momohara et al., 2008) but keratinocyte production had never been investigated.

Our aim is to investigate the *in vitro* A-SAA synthesis by NHEK activated by proinflammatory cytokines and to analyze its expression in psoriatic skin and sera from human patients and in psoriatic skins from mice.

Materials and methods

Subjects, skin and serum samples

Normal skin biopsies and sera were obtained from 28 surgical samples of healthy abdominal or breast skin and 11 healthy donors respectively. Lesional skin biopsies and sera were derived from 33 and 17 psoriatic patients respectively. Nine skin and serum samples were taken together to the same patients. They did not receive any therapy for four weeks. Clinical data were collected retrospectively and patient characteristics are presented in table 1. The following laboratory parameters were measured in psoriatic patient sera: high-sensitivity CRP (C Reactive Protein), fasting serum lipid profile and glycemic index. The use of skin and serum samples was approved by the Ethical Committee of the Poitiers Hospital and they were collected after informed consent.

Cell cultures, cytokines and supernatants

Normal Human Epidermal Keratinocytes (NHEK) were obtained from surgical samples of healthy breast or abdominal skin as described previously (Boniface et al., 2005). NHEK were cultured to 80% of confluence in Keratinocyte Serum-Free Medium (K-SFM; Invitrogen Life Technologies), supplemented with epidermal growth factor (5 ng/ml) and bovine pituitary extract (50 µg/ml ; all purchased from Invitrogen Life Technologies) at 37 °C, 5% CO₂ in a humidified incubator. Then, NHEK were starved for 24h in K-SFM without addition of growth factors. NHEK were stimulated with five human recombinant cytokines alone or in

combination (IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF- α : M5) as described previously (final concentration 10 ng/ml of each cytokine ; R&D Systems) (Guilloteau et al., 2010). We kept cells for the transcriptomic analysis and the supernatants for the proteomic dosage.

Mice and treatments

8-10 week-old male C57BL/6J wild type (WT) mice were purchased from Janvier (Le Genest, France). They were kept under specific pathogen-free conditions and they had free access to standard rodent diet and water. Experimental procedures were approved by French Government's ethical and animal experiment regulations. Mice were shaved on the back skin and remaining hairs were removed using a depilatory cream (Veet, Reckitt Benckiser, France). Psoriasis-like skin disease was induced as described previously (van der Fits et al., 2009). Shaved back skin were daily treated with 62,5 mg of Aldara® cream (5% Imiquimod, 3M pharmaceuticals) during 6 days. Control Mice from the first control group were shaved but no treated (3 NT mice) and mice from the second control group, were treated with Vaseline (Vaseline Lanette cream, Fagron) (4 VAS mice) similarly to Imiquimod cream (6 IMQ mice). Due to weight loss observed in IMQ-treated mice, a daily volume substitution by intraperitoneal injection of 300 μ l sterile PBS was performed from day 1 to 5 in all experimental groups.

RNA isolation and RT qPCR

Total cellular RNA from skin samples and cell cultures was extracted using β mercapto-ethanol following the manufacturer's instructions of the nucleospin II kit (Macherey-Nagel). Total RNA was reverse-transcribed using random hexamer primers, oligo(dT) and Superscript II enzyme (Invitrogen Life Technologies). cDNAs, were subsequently analyzed by RT qPCR using the LightCycler-Fast-Start DNA Master SYBR Green I kit (Roche). Human SAA1/2 primer sequences were : forward 5'-GGA-ACT-ATG-ATG-CTG-CCA-AAA-3' and reverse 3'-GCA-GAG-TGA-AGA-GGA-AGC-TCA-5'. Murine SAA3 primer sequences were : forward 5'- GGG-AGT-TGA-CAG-CCA-AAG-AT-3' and reverse 3'-GAG-TCC-TCT-GCT-CCA-TGT-CC-5'. Murine SAA1/2 primer sequences were : forward 5'-GCG-AGC-CTA-CAC-TGA-CAT-GA-3' and 3'-GGC-AGT-CCA-GGA-GGT-CTG-TA-5' reverse. The calculated amount was normalized to the housekeeping gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH).

A-SAA Protein dosages

A-SAA protein was quantified by human Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) using SAA Antibody pair kit (Invitrogen Life Technologies) in NHEK supernatants and immunonephelometry assay (Siemens) in patient sera.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5 Software (Inc, San Diego, CA, USA). Significance was determined using the appropriate test : Mann-Whitney test, 2way Anova test or Spearman rank correlation test. The p values ≤ 0.05 were considered as significant and all data are represented as mean $\pm$ SEM.

Results

A-SAA production by cultured NHEK

NHEK were cultured with IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF- α alone or in combination. A-SAA was significantly induced by IL-1 α , TNF α or IL-17A when compared to unstimulated cell controls and IL-17A appeared to be the most effective (figure 1A). Together, these 5 cytokines appeared to have an additive effect on A-SAA production (Figure 1A). The Subtraction of IL-17A to this mixture significantly decreased A-SAA synthesis (Figure 1B) confirming the importance of IL-17A in the A-SAA synthesis by NHEK. All these results were observed both at mRNA and protein levels of A-SAA.

kinetic study with five cytokine stimulation showed an increased A-SAA mRNA expression reaching a maximum at 24 hours (88 fold increased relative to unstimulated keratinocytes) and A-SAA protein concentration in supernatants reaching a plateau at 48 hours (12 fold increased) (Figure 1C).

A-SAA expression is increased in psoriatic skins and sera

A-SAA mRNA skin expression determined by RT qPCR was 9 fold increased in psoriatic patients compared to healthy controls (Figure 2 A1) and A-SAA protein blood level measured by ELISA was 26 fold increased (Figure 2 A2). We confirmed that circulating A-SAA were correlated with blood CRP (C Reactive Protein), the commonly protein measured in inflammation (Figure 2 A3).

Further analysis showed A-SAA skin and serum expression was more important in patients with severe and long duration psoriasis with Psoriasis Area Severity Index (PASI) score > 20 (Figure 2 B1) and disease duration > 10 years (Figure 2 B2). A-SAA skin and serum overexpression is also associated with cigarette smoking (Figure 2 B3) and metabolic syndrome (Figure 2 B4) as diagnosed according to the American Heart Association (Grundy et al., 2005). Interestingly, circulating A-SAA protein and skin A-SAA mRNA were correlated (Figure 2 A4).

SAA3 skin expression in inflammatory mouse skins

We demonstrated a 55 fold increased SAA1/2 mRNA (Figure 3A) and a 3265 fold increased SAA3 mRNA psoriatic skin expression compared to untreated controls (figure 3B).

Correlation skin A-SAA and antimicrobial peptides

Antimicrobial peptides (AMP) are known to be directly implicated in psoriasis pathogenesis. We showed significant correlation between hBD2, S100A7 mRNA and A-SAA mRNA from psoriatic human skins and stimulated NHEK (Figure 4).

Discussion

A-SAA synthesis by keratinocytes was mainly stimulated by IL-17A, IL-1 α , TNF α and IL-17A seemed to be the most effective. IL-22 and OSM alone did not activate the A-SAA synthesis but they had a potentiating effect noticed after subtracting them from M5. Interestingly, M5 activates the same transcription factors NF- κ B, STAT3 and C/EBP β (Guilloteau et al., 2010) implicated in the transcription of A-SAA genes (Hagihara et al., 2005). Specifically, NF- κ B is activated by IL-1 α (Barksby et al., 2007), IL-17A (Gaffen, 2009) and TNF α (Balkwill, 2009) ; STAT3 by IL-22 (Pan et al., 2013) and OSM (Boniface et al., 2007) ; C/EBP β by IL-17A (Gaffen, 2009). Therefore, A-SAA synthesis was significantly decreased removing IL-17A from M5 : probably due to its ability to activate C/EBP β .

We demonstrate that A-SAA from psoriatic sera is higher compared to controls and associated with severity and duration of the disease in agreement with Dogan *et al.*, showing that A-SAA blood levels were increased in severe psoriatic patients (Dogan and Atakan, 2010). Serum A-SAA was correlated with CRP, also been reported to be correlated with

psoriasis severity (Beygi et al., 2013). In agreement with our *in vitro* experiment, we showed that skin is a major expression site of A-SAA and is able to overexpress A-SAA in inflammatory conditions like psoriasis. Together, these results lead to ask for a contribution of A-SAA derived keratinocyte to the circulating level.

Like A-SAA which it were correlated, AMPs are overexpressed by psoriatic keratinocytes and have antimicrobial properties, chemotactic activities and shape immune-cell functions including dendritic cells and T cells (Nestle et al., 2009b). A-SAA could have a role in psoriasis pathogenesis especially through chemotactism of T cells, monocytes and neutrophils ; activation of dendritic cells and polarization of Th17 by binding to different receptors known to be expressed by keratinocytes. It remains a question to explore if A-SAA could have an autocrine effect on keratinocyte. TLR2, expressed by NHEK, activates the NF- κ B pathway that leads to synthesis of proinflammatory cytokines (as IL-8) (Pivarcsi et al., 2003), AMPs (as hBD2, hBD3) (Baroni et al., 2006) and chimiokines (as CCL2, CCL20) (Niebuhr et al., 2010). Futhermore, TLR2 is known to be overexpressed in inflammatory skin disease like psoriasis (Baker et al., 2003a). Scavenger (SR-BI, CD36) are also present on NHEK, and have a role in the regulation of cutaneous barrier homeostasis by mediating lipid uptake from hydrophobic lipoproteins (Sticozzi et al., 2012). Binding to A-SAA, this receptor could activate a proinflammatory signaling as it was demonstrated with rheumatoid arthritis synoviocytes, thought a MAPK pathway stimulation (Mullan et al., 2010). RAGE could also have a role in inflammatory skin by activating NF- κ B pathway (Zhang et al., 2011) and in wound healing by increasing matrix metalloproteinases-9 synthesis by keratinocytes (Zhu et al., 2012). There are at least four keratinocyte receptors suppose to bind to A-SAA, so it could be interesting to study the transcriptomic profile of cultured NHEK stimulated by A-SAA protein.

Circulating and cutaneous A-SAA expressions were increased in smoker patients compared to non smokers. Smoking status is associated with systemic inflammation evaluated by raised CRP blood levels (Ohsawa et al., 2005) and increased circulating TNF α (Petrescu et al., 2010). Furthermore, the cutaneous proinflammatory effect of nicotine could be implicated in the significant association found between psoriasis and tobacco (Ortiz and Grando, 2012). In the skin, nicotine binds to nicotinic acetylcholine receptors on DCs, macrophages, endothelial cells and keratinocytes that enhance synthesis of proinflammatory

cytokines as IL-12, IL-1 β , TNF α leading to Th1 polarization, innate immune cell stimulation, leucocyte migration, pathological angiogenesis and keratinocyte proliferation (Armstrong et al., 2011). A such proinflammatory cytokine environment could lead to systemic and local A-SAA synthesis, probably through the IL-1 β and TNF α activity.

Psoriasis is known to be associated with metabolic and cardiovascular comorbidities (obesity, hyperlipidemia, hypertension, diabetes mellitus) that contribute to the development of atherosclerosis and increased cardiovascular risk profile (Balci et al., 2009). Like A-SAA skin expression and serum levels, metabolic syndrome, is correlated with psoriasis severity (Gelfand et al., 2006) and duration (Michalak-Stoma et al., 2011). A-SAA is known to have a role in metabolic syndrome. In obesity, A-SAA is increased in sera and adipose tissue. Also synthesized by inflamed adipocytes, it promotes lipolysis, the release of free fatty acids into the circulation and decreases insulin sensitivity in adipocytes. By binding to scavenger receptor CLA-1 highly expressed in adipose tissue, A-SAA could have an autocrine feedback action on adipocytes and an indirect effect through the stimulation of lipolytic cytokines synthesis as IL-6, TNF α especially by endothelial cells and monocytes (Yang et al., 2006). Moreover, high blood A-SAA level may be associated with an increased cardiovascular risk (Johnson et al., 2004) : in case of patients with chronic vascular disease, A-SAA levels are moderately enhanced (Glurich et al., 2002). A-SAA may have a direct effect on atherogenesis : it stimulates the synthesis of many atherogenic inflammatory markers (including CCL2, MMP-9, M-CSF) by monocytes and endothelial cells ; it upregulates lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor 1 (LOX-1) on macrophages, increasing their LDL uptake and their transformation into atherogenic foamy cells (Lee et al., 2013a) ; A-SAA also contributes to decrease the serum anti-oxidative activity of paraoxonase-1 that impairs HDL atheroprotection function (Kappelle et al., 2011). Thereby, A-SAA overproduction could be a link between psoriasis, metabolic syndrome and atherosclerosis.

As in patients, SAA3 skin expression was strongly increased in psoriasis mouse model compared to untreated controls. Imiquimod's immunomodulatory effects in triggering psoriasis are attributed to increased number of plasmacytoid dendritic cells (pDCs) (Baek et al., 2012), stimulation of Toll like Receptor (TLR) 7 on pDCs resulting in an upregulation of type I interferon pathway (Patel et al., 2011) and induction of epidermal expression of IL-23, IL-17A, and IL-17F (van der Fits et al., 2009). Interestingly, we have demonstrated *in vitro*

that IL-17A was strongly involved in A-SAA keratinocyte synthesis. It will be interesting to evaluate psoriatic skin inflammation in SAA3 knockout mice, to study specifically the A-SAA role in psoriasis and to test A-SAA on cultured keratinocytes.

Conclusion

We have shown for the first time the A-SAA synthesis by NHEK stimulated by Th17 relevant cytokines. We have also demonstrated the A-SAA upregulation in skins and sera from psoriatic patients and skins from psoriasis mouse model. This locally A-SAA skin expression could play a role in psoriasis pathogenesis and may contribute to the systemic inflammation leading to atherosclerosis.

Conflic of interest

The authors state no conflict of interest.

Acknowledgments

We thank Immunology department of Poitiers Hospital for contribution to serum A-SAA dosages by immunonephlemetry assay.

Table and figures

Table 1. Characteristics of psoriatic patient :

Data are expressed as Means $\pm$ SD or percentage

Abbreviations : PASI, Psoriasis Area and Severity Index ; BMI, Body Mass Index
CRP, C-reactive protein.

	Psoriatic patients
Number	41
Male sex	28 (62.2%)
Age (years) : Mean $\pm$ SD	49.2 $\pm$ 15.6
PASI score : Mean $\pm$ SD	20.45 $\pm$ 12.42
Psoriasis duration (years) : Mean $\pm$ SD	22 $\pm$ 13.09
Tabacco smoking	17 (41.5%)
BMI (kg/m ²) : Mean $\pm$ SD	27.79 $\pm$ 6.71
Metabolic syndrome	13 (31.7%)

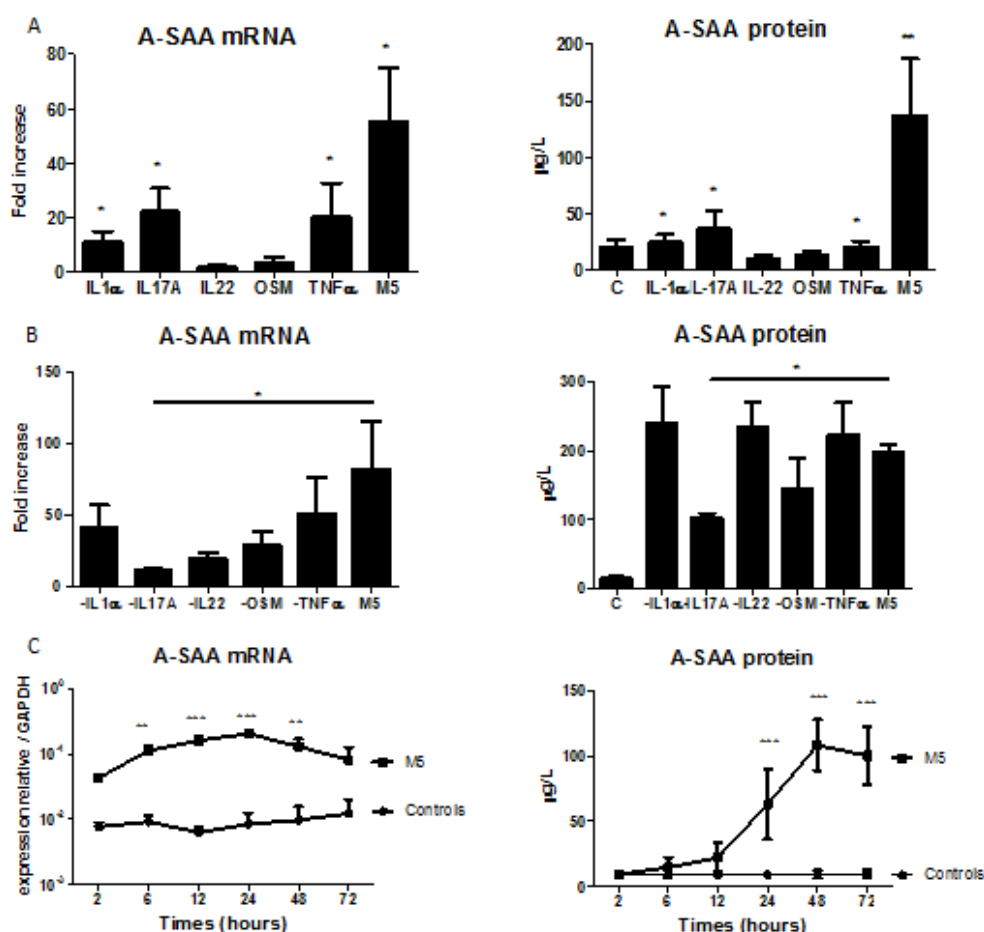


Figure 1. A-SAA production by NHEK stimulated by human recombinant IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF- α alone or in combination. (A) A-SAA keratinocyte expression was examined 40 hours after 10 ng/ml of one cytokine stimulation. Values were compared to unstimulated controls (c). Three independent experiments with duplicate were performed. (B) NHEK were stimulated during 40 hours by 10 ng/ml of four cytokines (subtracting one cytokine from M5). Value were compared to M5 stimulated NHEK. Two independent experiments with duplicate were performed. (C) Cells were cultured with M5 during different times. A-SAA expression was compared to unstimulated controls. Three independent experiments with duplicate were performed. A-SAA mRNA was measured by RT qPCR and the relative expression levels of A-SAA mRNA were corrected with the housekeeping gene GAPDH. A-SAA protein secreted in culture supernatants was dosed by ELISA. Values are expressed as mean $\pm$ SEM and statistical comparisons were performed using Mann Whitney test (A) (B) and (C) 2way Anova. *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001.

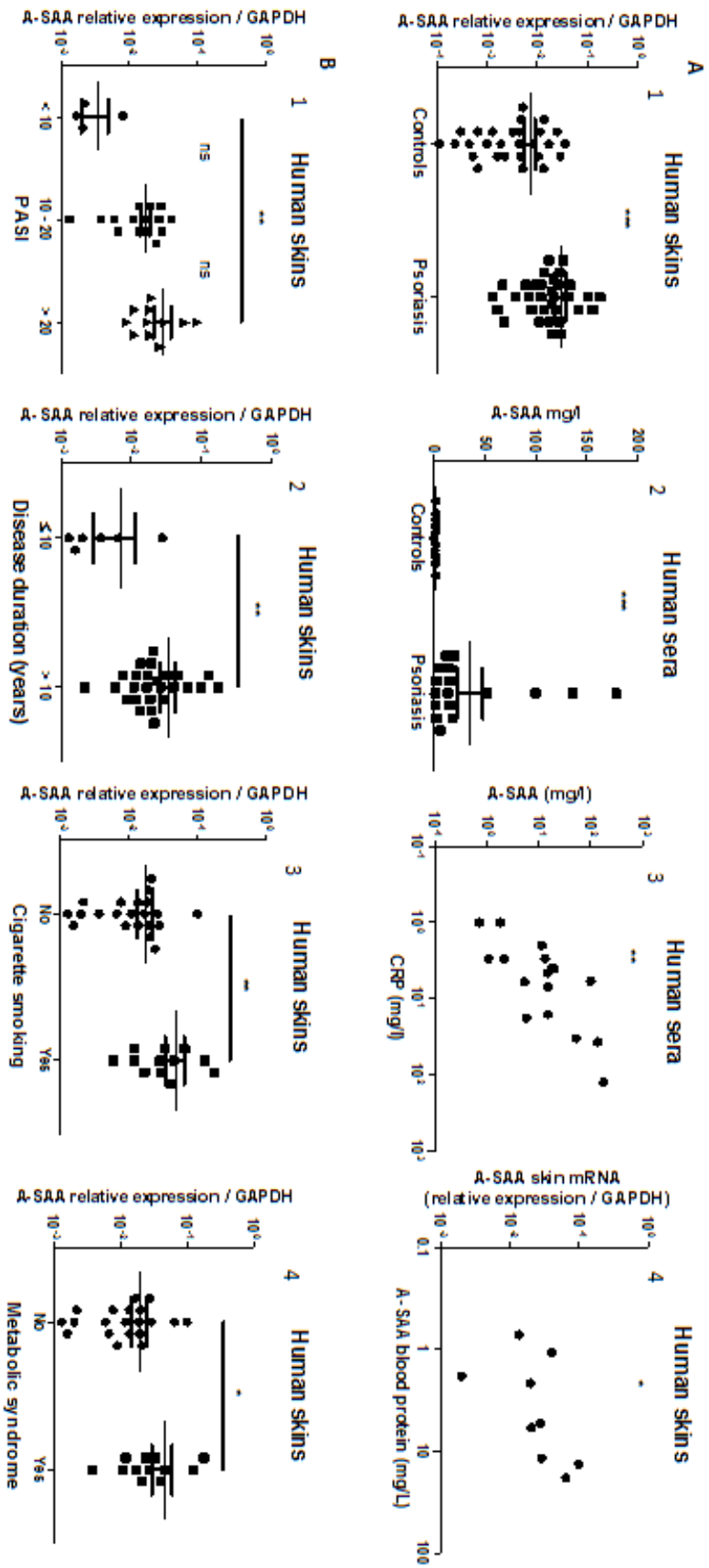


Figure 2. Expression of A-SAA mRNA in skins and sera from psoriatic and control healthy patients. (A) A-SAA expression in (A1) skin and (A2) serum samples from psoriatic patients was increased compared to healthy controls. (A3) A-SAA plasma level were correlated with CRP plasma level in psoriatic patients ($r = 0.72.03$) and (A4) A-SAA skin expression was correlated with its serum expression ($r = 0.6833$). (B) A-SAA mRNA from psoriatic skins and protein from psoriatic sera were associated with (B) psoriasis severity evaluated by PASI score, (C) disease duration, (D) Cigarette smoking and (E) Metabolic syndrome. A-SAA mRNA were evaluated in 33 psoriatic skins and compared to 28 healthy skins by RT-qPCR and were corrected with housekeeping gene GAPDH. A-SAA protein from 17 psoriatic sera were dosed by ELISA and compared to 11 healthy sera. Values are expressed as mean $\pm$ SEM. Statistical comparisons were performed using Mann Whitney test. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$.

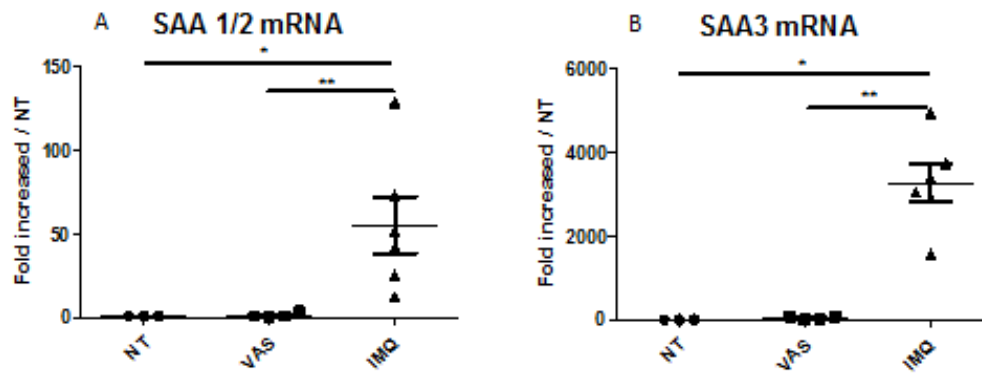


Figure 3. A-SAA Mouse skin expression in a psoriasis model. C57BL/6 WT mice were daily treated (A) with Imiquimod cream 5% (IMQ) (n=6), (B) with Vaseline (VAS) (n=4) and (C) No Treated (NT) (n=3) during six days and sacrificed. (D) SAA3 and (E) SAA1/2 mRNA expression was determined by RT qPCR. Housekeeping gene GAPDH was used to normalize gene expression. All data are represented as mean $\pm$ SEM. Statistical comparisons were performed using Mann Whitney test. *P<0,05 ; **P<0,01.

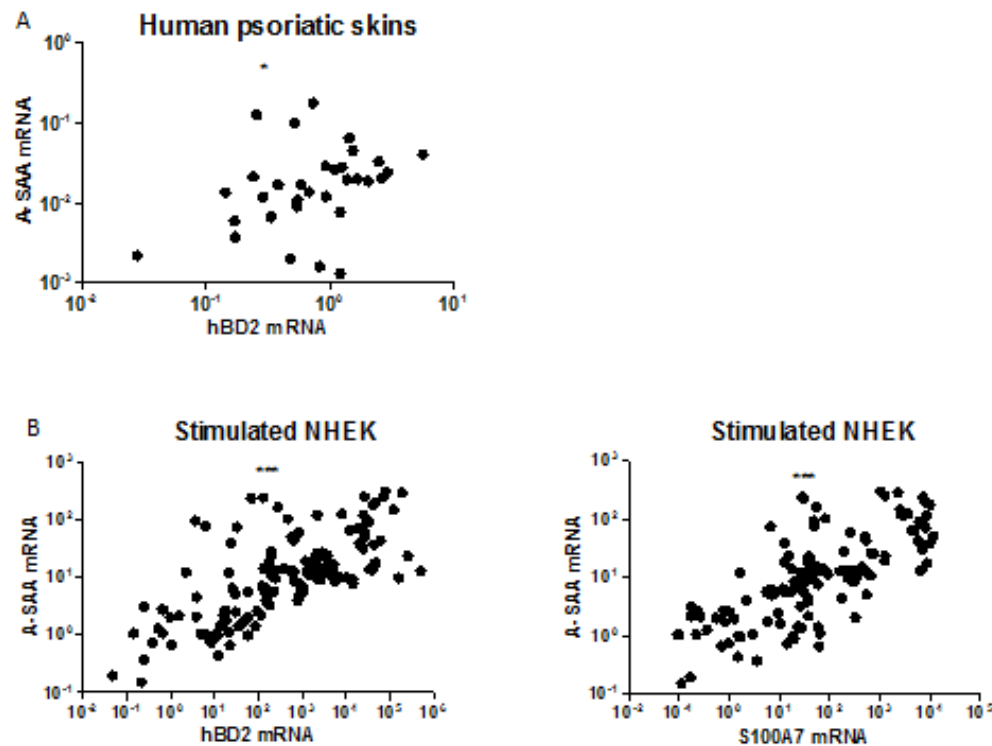


Figure 4. Correlation between A-SAA and hBD2, S100A7 mRNA expression from (A) psoriatic skins and (B) stimulated NHEK. The relative expression was normalized using the housekeeping gene GAPDH. Comparison studies were performed using the Spearman rank correlation test (A) (hBD2 : $r = 0.4218$; $p < 0.05$) ; (B) (hBD2 : $r = 0.7044$; $p < 0.0001$). (S100A7 : $r = 0.7370$; $p < 0.0001$) *P<0.05 ; **P<0.01 ; ***P<0.0001.

References

- Abul-K Abbas, and Andrew-H Lichtman (2010). *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*.
- Akdis, M., Palomares, O., van de Veen, W., van Splunter, M., and Akdis, C.A. (2012). TH17 and TH22 cells: a confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J. Allergy Clin. Immunol.* 129, 1438–1449; quiz 1450–1451.
- Albanesi, C., De Pità, O., and Girolomoni, G. (2007). Resident skin cells in psoriasis: a special look at the pathogenetic functions of keratinocytes. *Clin. Dermatol.* 25, 581–588.
- Albanesi, C., Scarponi, C., Pallotta, S., Daniele, R., Bosio, D., Madonna, S., Fortugno, P., Gonzalvo-Feo, S., Franssen, J.-D., Parmentier, M., et al. (2009). Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *J. Exp. Med.* 206, 249–258.
- Armstrong, A.W., Armstrong, E.J., Fuller, E.N., Sockolov, M.E., and Voyles, S.V. (2011). Smoking and pathogenesis of psoriasis: a review of oxidative, inflammatory and genetic mechanisms. *Br. J. Dermatol.* 165, 1162–1168.
- Ather, J.L., Ckless, K., Martin, R., Foley, K.L., Suratt, B.T., Boyson, J.E., Fitzgerald, K.A., Flavell, R.A., Eisenbarth, S.C., and Poynter, M.E. (2011). Serum amyloid A activates the NLRP3 inflammasome and promotes Th17 allergic asthma in mice. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 187, 64–73.
- Bachelier, F., Ben-Baruch, A., Burkhardt, A.M., Combadiere, C., Farber, J.M., Graham, G.J., Horuk, R., Sparre-Ulrich, A.H., Locati, M., Luster, A.D., et al. (2014). International Union of Pharmacology. LXXXIX. Update on the Extended Family of Chemokine Receptors and Introducing a New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Pharmacol. Rev.* 66, 1–79.
- Badolato, R., Wang, J.M., Murphy, W.J., Lloyd, A.R., Michiel, D.F., Bausserman, L.L., Kelvin, D.J., and Oppenheim, J.J. (1994). Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion, and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.* 180, 203–209.
- Baker, B.S., Ovigne, J.-M., Powles, A.V., Corcoran, S., and Fry, L. (2003a). Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 148, 670–679.
- Baker, B.S., Ovigne, J.-M., Powles, A.V., Corcoran, S., and Fry, L. (2003b). Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 148, 670–679.
- Balci, D.D., Balci, A., Karazincir, S., Ucar, E., Iyigun, U., Yalcin, F., Seyfeli, E., Inandi, T., and Egilmez, E. (2009). Increased carotid artery intima-media thickness and impaired endothelial function in psoriasis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* 23, 1–6.
- Balkwill, F. (2009). Tumour necrosis factor and cancer. *Nat. Rev. Cancer* 9, 361–371.
- Baranova, I.N., Vishnyakova, T.G., Bocharov, A.V., Kurlander, R., Chen, Z., Kimelman, M.L., Remaley, A.T., Csako, G., Thomas, F., Eggerman, T.L., et al. (2005). Serum amyloid A binding to CLA-1 (CD36 and LIMPII analogous-1) mediates serum amyloid A protein-induced activation of ERK1/2 and p38 mitogen-activated protein kinases. *J. Biol. Chem.* 280, 8031–8040.

- Baranova, I.N., Bocharov, A.V., Vishnyakova, T.G., Kurlander, R., Chen, Z., Fu, D., Arias, I.M., Csako, G., Patterson, A.P., and Eggerman, T.L. (2010). CD36 is a novel serum amyloid A (SAA) receptor mediating SAA binding and SAA-induced signaling in human and rodent cells. *J. Biol. Chem.* **285**, 8492–8506.
- Barksby, H.E., Lea, S.R., Preshaw, P.M., and Taylor, J.J. (2007). The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin. Exp. Immunol.* **149**, 217–225.
- Baroni, A., Orlando, M., Donnarumma, G., Farro, P., Iovene, M.R., Tufano, M.A., and Buommino, E. (2006). Toll-like receptor 2 (TLR2) mediates intracellular signalling in human keratinocytes in response to *Malassezia furfur*. *Arch. Dermatol. Res.* **297**, 280–288.
- Bens, G., Maccari, F., and Estève, E. (2012). [Psoriasis: a systemic disease]. *Presse Médicale Paris Fr.* **1983** **41**, 338–348.
- Bergis, M., Dega, H., Planquois, V., Benichou, O., and Dubertret, L. (2003). [Amyloidosis complicating psoriatic arthritis]. *Ann Dermatol Venereol* **130**, 1039–1042.
- Beygi, S., Lajevardi, V., and Abedini, R. (2013). C-reactive protein in psoriasis: a review of the literature. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV.*
- Boniface, K., Bernard, F.-X., Garcia, M., Gurney, A.L., Lecron, J.-C., and Morel, F. (2005). IL-22 inhibits epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **174**, 3695–3702.
- Boniface, K., Diveu, C., Morel, F., Pedretti, N., Froger, J., Ravon, E., Garcia, M., Venereau, E., Preisser, L., Guignouard, E., et al. (2007). Oncostatin M secreted by skin infiltrating T lymphocytes is a potent keratinocyte activator involved in skin inflammation. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **178**, 4615–4622.
- Bozinovski, S., Uddin, M., Vlahos, R., Thompson, M., McQualter, J.L., Merritt, A.S., Wark, P.A., Hutchinson, A., Irving, L.B., Levy, B.D., et al. (2012). Serum amyloid A opposes lipoxin A(4) to mediate glucocorticoid refractory lung. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 935–940.
- Cai, H., Song, C., Endoh, I., Goyette, J., Jessup, W., Freedman, S.B., McNeil, H.P., and Geczy, C.L. (2007). Serum amyloid A induces monocyte tissue factor. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **178**, 1852–1860.
- Cai, L., de Beer, M.C., de Beer, F.C., and van der Westhuyzen, D.R. (2005). Serum amyloid A is a ligand for scavenger receptor class B type I and inhibits high density lipoprotein binding and selective lipid uptake. *J. Biol. Chem.* **280**, 2954–2961.
- Calvo, D., Gómez-Coronado, D., Lasunción, M.A., and Vega, M.A. (1997). CLA-1 is an 85-kD plasma membrane glycoprotein that acts as a high-affinity receptor for both native (HDL, LDL, and VLDL) and modified (OxLDL and AcLDL) lipoproteins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **17**, 2341–2349.
- Cengiz, M.I., Wang, H.-L., and Yildiz, L. (2010). Oral involvement in a case of AA amyloidosis: a case report. *J. Med. Case Reports* **4**, 200.
- Chambers, R.E., MacFarlane, D.G., Whicher, J.T., and Dieppe, P.A. (1983). Serum amyloid-A protein concentration in rheumatoid arthritis and its role in monitoring disease activity. *Ann. Rheum. Dis.* **42**, 665–667.

Cheng, N., He, R., Tian, J., Ye, P.P., and Ye, R.D. (2008). Cutting edge: TLR2 is a functional receptor for acute-phase serum amyloid A. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **181**, 22–26.

Connolly, D.J., and O'Neill, L.A.J. (2012). New developments in Toll-like receptor targeted therapeutics. *Curr. Opin. Pharmacol.* **12**, 510–518.

Démarchez, M. (2011). L'épiderme et la différenciation des kératinocytes. *Biologiedelapeau.fr*.

Dogan, S., and Atakan, N. (2010). Is serum amyloid A protein a better indicator of inflammation in severe psoriasis? *Br. J. Dermatol.* **163**, 895–896.

Doutre, M.-S. (2009). [Cutaneous immune system]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* **136 Suppl 6**, S257–262.

Dunn, S., Vohra, R.S., Murphy, J.E., Homer-Vanniasinkam, S., Walker, J.H., and Ponnambalam, S. (2008). The lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor: a pro-inflammatory factor in vascular disease. *Biochem. J.* **409**, 349–355.

Dupuy, A. (2008). [Severity scores in dermatology]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* **135**, 259–260.

Eckhardt, E.R., Witta, J., Zhong, J., Arsenescu, R., Arsenescu, V., Wang, Y., Ghoshal, S., de Beer, M.C., de Beer, F.C., and de Villiers, W.J. (2010). Intestinal epithelial serum amyloid A modulates bacterial growth in vitro and. *BMC Gastroenterol* **10**, 133.

Edwards, C.K., 3rd, Martin, S.W., Seely, J., Kinstler, O., Buckel, S., Bendele, A.M., Ellen Cosenza, M., Feige, U., and Kohno, T. (2003). Design of PEGylated soluble tumor necrosis factor receptor type I (PEG sTNF-RI) for chronic inflammatory diseases. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **55**, 1315–1336.

Esche, C., Stellato, C., and Beck, L.A. (2005). Chemokines: key players in innate and adaptive immunity. *J. Invest. Dermatol.* **125**, 615–628.

Fich S, F., Chahuán Y, M., Farías N, M.M., Cárdenas D, C., Abarzúa A, A., Araya C, G., and González B, S. (2012). [AA amyloidosis with cutaneous manifestations. Report of one case]. *Rev. Médica Chile* **140**, 499–502.

Finelt, N., Gazel, A., Gorelick, S., and Blumenberg, M. (2005). Transcriptional responses of human epidermal keratinocytes to Oncostatin-M. *Cytokine* **31**, 305–313.

Van der Fits, L., Mourits, S., Voerman, J.S.A., Kant, M., Boon, L., Laman, J.D., Cornelissen, F., Mus, A.-M., Florencia, E., Prens, E.P., et al. (2009). Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **182**, 5836–5845.

Fujimoto, E., Kobayashi, T., Fujimoto, N., Akiyama, M., Tajima, S., and Nagai, R. (2010). AGE-modified collagens I and III induce keratinocyte terminal differentiation through AGE receptor CD36: epidermal-dermal interaction in acquired perforating dermatosis. *J. Invest. Dermatol.* **130**, 405–414.

Furlaneto, C.J., and Campa, A. (2000). A novel function of serum amyloid A: a potent stimulus for the release of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interleukin-8 by human blood neutrophil. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **268**, 405–408.

G. Girolomoni (2006). Les cellules immunocompétentes. In *Dermatologie*, (Elsevier Masson),.

- Gaffen, S.L. (2009). Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat. Rev. Immunol.* 9, 556–567.
- Gelfand, J.M., Neimann, A.L., Shin, D.B., Wang, X., Margolis, D.J., and Troxel, A.B. (2006). Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* 296, 1735–1741.
- Ghoreschi, K., Laurence, A., Yang, X.-P., Tato, C.M., McGeachy, M.J., Konkel, J.E., Ramos, H.L., Wei, L., Davidson, T.S., Bouladoux, N., et al. (2010). Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature* 467, 967–971.
- Glurich, I., Grossi, S., Albini, B., Ho, A., Shah, R., Zeid, M., Baumann, H., Genco, R.J., and De Nardin, E. (2002). Systemic inflammation in cardiovascular and periodontal disease: comparative study. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9, 425–432.
- Grateau, G. (2006). Amylose AA. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale de Néphrologie*, (Elsevier Masson),.
- Grundmann, J.U., Bonnekoh, B., and Gollnick, H. (2000). Extensive haemorrhagic-bullous skin manifestation of systemic AA-amyloidosis. *Eur J Dermatol* 10, 139–142.
- Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Franklin, B.A., Gordon, D.J., Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C., Jr, et al. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112, 2735–2752.
- Guilloteau, K., Paris, I., Pedretti, N., Boniface, K., Juchaux, F., Huguier, V., Guillet, G., Bernard, F.-X., Lecron, J.-C., and Morel, F. (2010). Skin Inflammation Induced by the Synergistic Action of IL-17A, IL-22, Oncostatin M, IL-1 α , and TNF- α Recapitulates Some Features of Psoriasis. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950.
- Hagihara, K., Nishikawa, T., Isobe, T., Song, J., Sugamata, Y., and Yoshizaki, K. (2004). IL-6 plays a critical role in the synergistic induction of human serum amyloid A. *Biochem Biophys Res Commun* 314, 363–369.
- Hagihara, K., Nishikawa, T., Sugamata, Y., Song, J., Isobe, T., Taga, T., and Yoshizaki, K. (2005). Essential role of STAT3 in cytokine-driven NF-kappaB-mediated serum amyloid A gene expression. *Genes Cells Devoted Mol. Cell. Mech.* 10, 1051–1063.
- Hänel, K.H., Cornelissen, C., Lüscher, B., and Baron, J.M. (2013). Cytokines and the skin barrier. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 6720–6745.
- Hari-Dass, R., Shah, C., Meyer, D.J., and Raynes, J.G. (2005). Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram-negative bacteria. *J Biol Chem* 280, 18562–18567.
- Hatanaka, E., Furlaneto, C.J., Ribeiro, F.P., Souza, G.M., and Campa, A. (2004). Serum amyloid A-induced mRNA expression and release of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human neutrophils. *Immunol. Lett.* 91, 33–37.
- Hatanaka, E., Monteagudo, P.T., Marrocos, M.S.M., and Campa, A. (2007). Interaction between serum amyloid A and leukocytes - a possible role in the progression of vascular complications in diabetes. *Immunol. Lett.* 108, 160–166.

- Hatanaka, E., Dermargos, A., Armelin, H.A., Curi, R., and Campa, A. (2011). Serum amyloid A induces reactive oxygen species (ROS) production and proliferation of fibroblast. *Clin. Exp. Immunol.* 163, 362–367.
- He, R., Sang, H., and Ye, R.D. (2003). Serum amyloid A induces IL-8 secretion through a G protein-coupled receptor, FPRL1/LXA4R. *Blood* 101, 1572–1581.
- He, R., Shepard, L.W., Chen, J., Pan, Z.K., and Ye, R.D. (2006). Serum amyloid A is an endogenous ligand that differentially induces IL-12 and IL-23. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 177, 4072–4079.
- He, R.L., Zhou, J., Hanson, C.Z., Chen, J., Cheng, N., and Ye, R.D. (2009). Serum amyloid A induces G-CSF expression and neutrophilia via Toll-like receptor 2. *Blood* 113, 429–437.
- Heinrich, P.C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H.M., Müller-Newen, G., and Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem. J.* 374, 1–20.
- Van der Hilst, J.C. (2011). Recent insights into the pathogenesis of type AA amyloidosis. *ScientificWorldJournal* 11, 641–650.
- Ho, A.W., and Gaffen, S.L. (2010). IL-17RC: a partner in IL-17 signaling and beyond. *Semin. Immunopathol.* 32, 33–42.
- Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S., Tsukamoto, H., and Shimoda, T. (2010). Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 49, 1215–1228.
- IUIS/WHO Subcommittee on Chemokine Nomenclature (2003). Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *Cytokine* 21, 48–49.
- JJ Guilhou (2000). Psoriasis : diagnostic et étiopathogénie. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale de Dermatologie*, pp. 98–190–A–10.
- Johnson, B.D., Kip, K.E., Marroquin, O.C., Ridker, P.M., Kelsey, S.F., Shaw, L.J., Pepine, C.J., Sharaf, B., Bairey Merz, C.N., Sopko, G., et al. (2004). Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation* 109, 726–732.
- Jullien, D. (2012). [Pathogenesis of psoriasis]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* 139 Suppl 2, S68–72.
- Kappelle, P.J.W.H., Bijzet, J., Hazenberg, B.P., and Dullaart, R.P.F. (2011). Lower serum paraoxonase-1 activity is related to higher serum amyloid a levels in metabolic syndrome. *Arch. Med. Res.* 42, 219–225.
- Katsikas, G.A., Maragou, M., Rontogianni, D., Gouma, P., Koutsouvelis, I., and Kappou-Rigatou, I. (2008). Secondary cutaneous nodular AA amyloidosis in a patient with primary Sjogren. *J Clin Rheumatol* 14, 27–29.
- Kimura, M., Tomita, Y., Imai, T., Saito, T., Katagiri, A., Ohara-Mikami, Y., Matsudo, T., and Takahashi, K. (2001). Significance of serum amyloid A on the prognosis in patients with renal cell carcinoma. *Cancer* 92, 2072–2075.
- Kolokotronis, A., Chatzigiannis, I., and Paloukidou, N. (2003). Oral involvement in a case of AA amyloidosis. *Oral Dis.* 9, 269–272.

- Kono, T., Kondo, S., Pastore, S., Shivji, G.M., Tomai, M.A., McKenzie, R.C., and Sauder, D.N. (1994). Effects of a novel topical immunomodulator, imiquimod, on keratinocyte cytokine gene expression. *Lymphokine Cytokine Res.* *13*, 71–76.
- Kotani, K., Koibuchi, H., Yamada, T., and Taniguchi, N. (2009). The effects of lifestyle modification on a new oxidized low-density lipoprotein marker, serum amyloid A-LDL, in subjects with primary lipid disorder. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* *409*, 67–69.
- Kumar, H., Kawai, T., and Akira, S. (2009). Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *388*, 621–625.
- Lai, Y., Di Nardo, A., Nakatsuji, T., Leichtle, A., Yang, Y., Cogen, A.L., Wu, Z.-R., Hooper, L.V., Schmidt, R.R., von Aulock, S., et al. (2009). Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nat. Med.* *15*, 1377–1382.
- Le, Y., Murphy, P.M., and Wang, J.M. (2002). Formyl-peptide receptors revisited. *Trends Immunol.* *23*, 541–548.
- Lécart, S., Morel, F., Noraz, N., Pène, J., Garcia, M., Boniface, K., Lecron, J.-C., and Yssel, H. (2002). IL-22, in contrast to IL-10, does not induce Ig production, due to absence of a functional IL-22 receptor on activated human B cells. *Int. Immunol.* *14*, 1351–1356.
- Lee, H.Y., Kim, M.-K., Park, K.S., Bae, Y.H., Yun, J., Park, J.-I., Kwak, J.-Y., and Bae, Y.-S. (2005). Serum amyloid A stimulates matrix-metalloproteinase-9 upregulation via formyl peptide receptor like-1-mediated signaling in human monocytic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *330*, 989–998.
- Lee, H.Y., Kim, S.D., Baek, S.-H., Choi, J.H., and Bae, Y.-S. (2013a). Role of formyl peptide receptor 2 on the serum amyloid A-induced macrophage foam cell formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *433*, 255–259.
- Lee, H.Y., Kim, S.D., Baek, S.-H., Choi, J.H., Cho, K.-H., Zabel, B.A., and Bae, Y.-S. (2013b). Serum amyloid A stimulates macrophage foam cell formation via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 upregulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *433*, 18–23.
- Li, H., and Lin, X. (2008). Positive and negative signaling components involved in TNF α -induced NF- κ B activation. *Cytokine* *41*, 1–8.
- Li, J., Wang, X., Zhang, F., and Yin, H. (2013). Toll-like receptors as therapeutic targets for autoimmune connective tissue diseases. *Pharmacol. Ther.* *138*, 441–451.
- Liu, Z., Fan, H., and Jiang, S. (2013). CD4(+) T-cell subsets in transplantation. *Immunol. Rev.* *252*, 183–191.
- Loryman, C., and Mansbridge, J. (2008). Inhibition of keratinocyte migration by lipopolysaccharide. *Wound Repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.* *16*, 45–51.
- Lowes, M.A., Russell, C.B., Martin, D.A., Towne, J.E., and Krueger, J.G. (2013). The IL-23/T17 pathogenic axis in psoriasis is amplified by keratinocyte responses. *Trends Immunol.*
- Mackman, N. (2004). Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *24*, 1015–1022.

- Magy, N. (2004). [AA Amyloidosis: recent knowledges on pathophysiology]. *Rev Med Interne* 25, 129–134.
- Mattozzi, C., Richetta, A.G., Cantisani, C., Macaluso, L., and Calvieri, S. (2012). Psoriasis: new insight about pathogenesis, role of barrier organ integrity, NLR/CATERPILLER family genes and microbial flora. *J. Dermatol.* 39, 752–760.
- McInturff, J.E., Modlin, R.L., and Kim, J. (2005). The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J. Invest. Dermatol.* 125, 1–8.
- Meek, R.L., and Benditt, E.P. (1986). Amyloid A gene family expression in different mouse tissues. *J. Exp. Med.* 164, 2006–2017.
- Meek, R.L., Urieli-Shoval, S., and Benditt, E.P. (1994). Expression of apolipoprotein serum amyloid A mRNA in human atherosclerotic. *Proc Natl Acad Sci U A* 91, 3186–3190.
- Di Meglio, P., Perera, G.K., and Nestle, F.O. (2011). The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity* 35, 857–869.
- Mempel, M., Voelcker, V., Köllisch, G., Plank, C., Rad, R., Gerhard, M., Schnopp, C., Fraunberger, P., Walli, A.K., Ring, J., et al. (2003). Toll-like receptor expression in human keratinocytes: nuclear factor kappaB controlled gene activation by *Staphylococcus aureus* is toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4 or platelet activating factor receptor dependent. *J. Invest. Dermatol.* 121, 1389–1396.
- Metz, M., Siebenhaar, F., and Maurer, M. (2008). Mast cell functions in the innate skin immune system. *Immunobiology* 213, 251–260.
- Michalak-Stoma, A., Pietrzak, A., Szepietowski, J.C., Zalewska-Janowska, A., Paszkowski, T., and Chodorowska, G. (2011). Cytokine network in psoriasis revisited. *Eur. Cytokine Netw.* 22, 160–168.
- Migeotte, I., Communi, D., and Parmentier, M. (2006). Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 17, 501–519.
- Migita, K., Koga, T., Torigoshi, T., Motokawa, S., Maeda, Y., Jiuchi, Y., Izumi, Y., Miyashita, T., Nakamura, M., Komori, A., et al. (2010). Induction of interleukin-23 p19 by serum amyloid A (SAA) in rheumatoid synoviocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 162, 244–250.
- Modiano, P. (2003). Amylose cutanée. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale de Dermatologie*.
- Momohara, S., Okamoto, H., and Yamanaka, H. (2008). Chondrocyte of rheumatoid arthritis serve as a source of intra-articular acute-phase serum amyloid A protein. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* 398, 155–156.
- Moshkovskii, S.A. (2012). Why do cancer cells produce serum amyloid A acute-phase protein? *Biochem. Biokhimiia* 77, 339–341.
- Mosley, B., De Imus, C., Friend, D., Boiani, N., Thoma, B., Park, L.S., and Cosman, D. (1996). Dual oncostatin M (OSM) receptors. Cloning and characterization of an alternative signaling subunit conferring OSM-specific receptor activation. *J. Biol. Chem.* 271, 32635–32643.

Mukhopadhyay, S., Hoidal, J.R., and Mukherjee, T.K. (2006). Role of TNF α in pulmonary pathophysiology. *Respir. Res.* 7, 125.

Mullan, R.H., Bresnihan, B., Golden-Mason, L., Markham, T., O'Hara, R., FitzGerald, O., Veale, D.J., and Fearon, U. (2006). Acute-phase serum amyloid A stimulation of angiogenesis, leukocyte recruitment, and matrix degradation in rheumatoid arthritis through an NF-kappaB-dependent signal transduction pathway. *Arthritis Rheum.* 54, 105–114.

Mullan, R.H., McCormick, J., Connolly, M., Bresnihan, B., Veale, D.J., and Fearon, U. (2010). A role for the high-density lipoprotein receptor SR-B1 in synovial inflammation via serum amyloid-A. *Am. J. Pathol.* 176, 1999–2008.

Nataf, S. (2009). Les épithéliums de revêtement. Cours PCEM1 Univ. Lyon.

Nestle, F.O., Conrad, C., Tun-Kyi, A., Homey, B., Gombert, M., Boyman, O., Burg, G., Liu, Y.-J., and Gilliet, M. (2005). Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon- α production. *J. Exp. Med.* 202, 135–143.

Nestle, F.O., Di Meglio, P., Qin, J.-Z., and Nickoloff, B.J. (2009a). Skin immune sentinels in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 9, 679–691.

Nestle, F.O., Kaplan, D.H., and Barker, J. (2009b). Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 361, 496–509.

Nicholson, A.C., Febbraio, M., Han, J., Silverstein, R.L., and Hajjar, D.P. (2000). CD36 in atherosclerosis. The role of a class B macrophage scavenger receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 902, 128–131; discussion 131–133.

Niebuhr, M., Baumert, K., and Werfel, T. (2010). TLR-2-mediated cytokine and chemokine secretion in human keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 19, 873–877.

O'Hara, R., Murphy, E.P., Whitehead, A.S., FitzGerald, O., and Bresnihan, B. (2000). Acute-phase serum amyloid A production by rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Res.* 2, 142–144.

O'Hara, R., Murphy, E.P., Whitehead, A.S., FitzGerald, O., and Bresnihan, B. (2004). Local expression of the serum amyloid A and formyl peptide receptor-like 1 genes in synovial tissue is associated with matrix metalloproteinase production in patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 50, 1788–1799.

Ohsawa, M., Okayama, A., Nakamura, M., Onoda, T., Kato, K., Itai, K., Yoshida, Y., Ogawa, A., Kawamura, K., and Hiramori, K. (2005). CRP levels are elevated in smokers but unrelated to the number of cigarettes and are decreased by long-term smoking cessation in male smokers. *Prev. Med.* 41, 651–656.

Okamoto, H., Katagiri, Y., Kiire, A., Momohara, S., and Kamatani, N. (2008). Serum amyloid A activates nuclear factor-kappaB in rheumatoid synovial fibroblasts through binding to receptor of advanced glycation end-products. *J. Rheumatol.* 35, 752–756.

Ortiz, A., and Grando, S.A. (2012). Smoking and the skin. *Int. J. Dermatol.* 51, 250–262.

Pan, H.-F., Li, X.-P., Zheng, S.G., and Ye, D.-Q. (2013). Emerging role of interleukin-22 in autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* 24, 51–57.

- Patel, U., Mark, N.M., Machler, B.C., and Levine, V.J. (2011). Imiquimod 5% cream induced psoriasis: a case report, summary of the literature and mechanism. *Br. J. Dermatol.* **164**, 670–672.
- Petrescu, F., Voican, S.C., and Silosi, I. (2010). Tumor necrosis factor-alpha serum levels in healthy smokers and nonsmokers. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* **5**, 217–222.
- Pivarcsi, A., Bodai, L., Réthi, B., Kenderessy-Szabó, A., Koreck, A., Széll, M., Beer, Z., Bata-Csörgö, Z., Magócsi, M., Rajnavölgyi, E., et al. (2003). Expression and function of Toll-like receptors 2 and 4 in human keratinocytes. *Int. Immunol.* **15**, 721–730.
- Poitou, C., Viguerie, N., Cancellio, R., De Matteis, R., Cinti, S., Stich, V., Coussieu, C., Gauthier, E., Courtine, M., Zucker, J.D., et al. (2005). Serum amyloid A: production by human white adipocyte and regulation by obesity and nutrition. *Diabetologia* **48**, 519–528.
- Rabeony, H., Petit-Paris, I., Garnier, J., Barrault, C., Pedretti, N., Guilloteau, K., Guillet, G., Huguier, V., Lecron, J.C., Bernard, F.X., et al. (2014). Inhibition of keratinocyte differentiation by the synergistic effect of IL-17A, IL-22, IL-1a, TNFa and Oncostatin M. *PLoS One*.
- Reich, K. (2012). The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* **26 Suppl 2**, 3–11.
- Rozires, A., Bensaid, B., and Berard, F. (2013). Système immunitaire cutané.
- Sandri, S., Rodriguez, D., Gomes, E., Monteiro, H.P., Russo, M., and Campa, A. (2008). Is serum amyloid A an endogenous TLR4 agonist? *J. Leukoc. Biol.* **83**, 1174–1180.
- Schlingemann, J., Hess, J., Wrobel, G., Breitenbach, U., Gebhardt, C., Steinlein, P., Kramer, H., Fürstenberger, G., Hahn, M., Angel, P., et al. (2003). Profile of gene expression induced by the tumour promotor TPA in murine epithelial cells. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer* **104**, 699–708.
- Schön, M.P., Schön, M., and Klotz, K.-N. (2006). The small antitumoral immune response modifier imiquimod interacts with adenosine receptor signaling in a TLR7- and TLR8-independent fashion. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 1338–1347.
- Schröder, J.-M. (2004). [Epithelial antimicrobial peptides: local innate defense effector molecules]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* **131**, 411–416.
- Schwarz, T. (2003). Skin immunity. *Br. J. Dermatol.* **149 Suppl 66**, 2–4.
- Seneschal, J., Clark, R.A., Gehad, A., Baecher-Allan, C.M., and Kupper, T.S. (2012). Human epidermal Langerhans cells maintain immune homeostasis in skin by activating skin resident regulatory T cells. *Immunity* **36**, 873–884.
- Shah, C., Hari-Dass, R., and Raynes, J.G. (2006). Serum amyloid A is an innate immune opsonin for Gram-negative bacteria. *Blood* **108**, 1751–1757.
- Shainkin-Kestenbaum, R., Zimlichman, S., Lis, M., Preciado-Patt, L., Fridkin, M., and Berenheim, J. (1996). Modulation of prostaglandin I₂ production from bovine aortic endothelial cells by serum amyloid A and its N-terminal tetradecapeptide. *Biomed. Pept. Proteins Nucleic Acids Struct. Synth. Biol. Act.* **2**, 101–106.

- Sjöholm, K., Palming, J., Olofsson, L.E., Gummesson, A., Svensson, P.-A., Lystig, T.C., Jennische, E., Brandberg, J., Torgerson, J.S., Carlsson, B., et al. (2005). A microarray search for genes predominantly expressed in human omental adipocytes: adipose tissue as a major production site of serum amyloid A. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *90*, 2233–2239.
- Sparvero, L.J., Asafu-Adjei, D., Kang, R., Tang, D., Amin, N., Im, J., Rutledge, R., Lin, B., Amoscato, A.A., Zeh, H.J., et al. (2009). RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. *J. Transl. Med.* *7*, 17.
- Stankovic, K., Colombat, M., and Grateau, G. (2012). Amylose. In *AKOS Traité de Médecine*,.
- Steel, D.M., Rogers, J.T., DeBeer, M.C., DeBeer, F.C., and Whitehead, A.S. (1993). Biosynthesis of human acute-phase serum amyloid A protein (A-SAA) in vitro: the roles of mRNA accumulation, poly(A) tail shortening and translational efficiency. *Biochem. J.* *291 (Pt 3)*, 701–707.
- Steel, D.M., Donoghue, F.C., O'Neill, R.M., Uhlar, C.M., and Whitehead, A.S. (1996). Expression and regulation of constitutive and acute phase serum amyloid A mRNAs in hepatic and non-hepatic cell lines. *Scand J Immunol* *44*, 493–500.
- Sticozzi, C., Belmonte, G., Pecorelli, A., Arezzini, B., Gardi, C., Maioli, E., Miracco, C., Toscano, M., Forman, H.J., and Valacchi, G. (2012). Cigarette smoke affects keratinocytes SRB1 expression and localization via H₂O₂ production and HNE protein adducts formation. *PLoS One* *7*, e33592.
- Su, S.B., Gong, W., Gao, J.L., Shen, W., Murphy, P.M., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (1999a). A seven-transmembrane, G protein-coupled receptor, FPRL1, mediates the chemotactic activity of serum amyloid A for human phagocytic cells. *J. Exp. Med.* *189*, 395–402.
- Su, S.B., Gong, W., Gao, J.L., Shen, W., Murphy, P.M., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (1999b). A seven-transmembrane, G protein-coupled receptor, FPRL1, mediates the chemotactic activity of serum amyloid A for human phagocytic cells. *J. Exp. Med.* *189*, 395–402.
- Suárez-Fariñas, M., Fuentes-Duculan, J., Lowes, M.A., and Krueger, J.G. (2011). Resolved psoriasis lesions retain expression of a subset of disease-related genes. *J. Invest. Dermatol.* *131*, 391–400.
- Sutton, C.E., Mielke, L.A., and Mills, K.H.G. (2012). IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and innate lymphoid cells. *Eur. J. Immunol.* *42*, 2221–2231.
- Trembath, R.C., Clough, R.L., Rosbotham, J.L., Jones, A.B., Camp, R.D., Frodsham, A., Browne, J., Barber, R., Terwilliger, J., Lathrop, G.M., et al. (1997). Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum. Mol. Genet.* *6*, 813–820.
- Uhlar, C.M., and Whitehead, A.S. (1999). Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* *265*, 501–523.
- Urieli-Shoval, S., Cohen, P., Eisenberg, S., and Matzner, Y. (1998). Widespread expression of serum amyloid A in histologically normal human tissues. *J Histochem Cytochem* *46*, 1377–1384.
- Urieli-Shoval, S., Shubinsky, G., Linke, R.P., Fridkin, M., Tabi, I., and Matzner, Y. (2002). Adhesion of human platelets to serum amyloid A. *Blood* *99*, 1224–1229.

- Valacchi, G., Sticozzi, C., Lim, Y., and Pecorelli, A. (2011). Scavenger receptor class B type I: a multifunctional receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1229, E1–7.
- Vreugdenhil, A.C., Dentener, M.A., Snoek, A.M., Greve, J.W., and Buurman, W.A. (1999). Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 163, 2792–2798.
- Waton, J., Fays-Michel, S., Chandeclerc, M.L., Corby, S., Cuny, J.F., Barbaud, A., and Schmutz, J.L. (2008). [AA amyloidosis: a little-known complication of chronic leg ulcer]. *Ann Dermatol Venereol* 135, 119–122.
- Wiesner, J., and Vilcinskas, A. (2010). Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system. *Virulence* 1, 440–464.
- Wilson, N.J., Boniface, K., Chan, J.R., McKenzie, B.S., Blumenschein, W.M., Mattson, J.D., Basham, B., Smith, K., Chen, T., Morel, F., et al. (2007). Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat. Immunol.* 8, 950–957.
- Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A., et al. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 112, 1821–1830.
- Xu, L., Badolato, R., Murphy, W.J., Longo, D.L., Anver, M., Hale, S., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (1995). A novel biologic function of serum amyloid A. Induction of T lymphocyte migration and adhesion. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 155, 1184–1190.
- Yamada, T., Wada, A., Itoh, K., and Igari, J. (2000). Serum amyloid A secretion from monocytic leukaemia cell line THP-1 and cultured. *Scand J Immunol* 52, 7–12.
- Yan, S.D., Zhu, H., Zhu, A., Golabek, A., Du, H., Roher, A., Yu, J., Soto, C., Schmidt, A.M., Stern, D., et al. (2000). Receptor-dependent cell stress and amyloid accumulation in systemic amyloidosis. *Nat. Med.* 6, 643–651.
- Yang, R.-Z., Lee, M.-J., Hu, H., Pollin, T.I., Ryan, A.S., Nicklas, B.J., Snitker, S., Horenstein, R.B., Hull, K., Goldberg, N.H., et al. (2006). Acute-phase serum amyloid A: an inflammatory adipokine and potential link between obesity and its metabolic complications. *PLoS Med.* 3, e287.
- Yu, L.-Z., Wang, H.-Y., Yang, S.-P., Yuan, Z.-P., Xu, F.-Y., Sun, C., and Shi, R.-H. (2013). Expression of interleukin-22/STAT3 signaling pathway in ulcerative colitis and related carcinogenesis. *World J. Gastroenterol. WJG* 19, 2638–2649.
- Zhang, J., Xu, X., Rao, N.V., Argyle, B., McCoard, L., Rusho, W.J., Kennedy, T.P., Prestwich, G.D., and Krueger, G. (2011). Novel sulfated polysaccharides disrupt cathelicidins, inhibit RAGE and reduce cutaneous inflammation in a mouse model of rosacea. *PLoS One* 6, e16658.
- Zhu, P., Ren, M., Yang, C., Hu, Y.-X., Ran, J.-M., and Yan, L. (2012). Involvement of RAGE, MAPK and NF-κB pathways in AGEs-induced MMP-9 activation in HaCaT keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 21, 123–129.

IV/ Discussion

D'antérieures études du laboratoire ont évalué *in vitro* l'effet des cytokines sur les NHEK (Normal Human Epidermal Keratinocyte) par l'analyse de l'expression kératinocytaire de 154 gènes potentiellement impliqués dans la physiopathologie de l'inflammation cutanée. Cinq cytokines (l'IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM et TNF α) présentent des effets proinflammatoires reproduisant certaines caractéristiques du psoriasis. Combiné, ce mélange de 5 cytokines (M5) présente un effet synergique puissant *via* l'activation des facteurs de transcription NF- κ B, C/EBP β et STAT3. Il favorise la synthèse d'AMP (BD2, S100A7, LL37, RNase7), de cytokines (IL-23), de chimiokines (CXCL1, CXCL2, CXCL3, CCL20) ainsi qu'une hyperplasie épidermique (par l'inhibition de la différenciation kératinocytaire et l'activation de leur prolifération) (Guilloteau et al., 2010) (Rabeony et al., 2014) . Il est intéressant de noter que la transcription des gènes SAA1 et 2 est induite par les mêmes facteurs de transcription activés par M5 (Hagihara et al., 2004). En effet, NF- κ B est activé par l'IL-1 α (Barksby et al., 2007), le TNF α (Balkwill, 2009), l'IL-17A (Gaffen, 2009) ; STAT3 par l'IL-22 (Pan et al., 2013) et l'OSM (Heinrich et al., 2003) ; C/EBP β par l'IL-17A (Gaffen, 2009).

La synthèse de A-SAA a été explorée dans différents types cellulaires humains stimulés par des cytokines proinflammatoires : elle est induite par l'IL-1 α , IL-6, TNF α dans les hépatocytes (lignée HepG2) (Hagihara et al., 2004) ; par l'IL-1 α , IL-6, TNF α dans les entérocytes (lignée cellulaire de carcinome colique) (Vreugdenhil et al., 1999) ; par le TNF α dans les PNN (Hatanaka et al., 2004) ; par l'IL-1 β , l'IL-6 dans les monocytes (Yamada et al., 2000), par l'IL-1, l'IL-6 dans les cellules endothéliales (Meek et al., 1994). A notre connaissance, il n'y a à ce jour aucune étude portant sur la production de A-SAA par les kératinocytes *in vitro*.

Dans ce travail, nous avons étudié l'expression des transcrits codant pour A-SAA dans les lysats cellulaires de NHEK par RT qPCR et nous avons dosé la protéine dans les surnageants de cultures par ELISA. Les NHEK étaient stimulés par différentes combinaisons des cytokines IL1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF α (Guilloteau et al., 2010) (Rabeony et al., 2014, en révision). Nous avons ainsi démontré que les NHEK étaient capables de synthétiser spontanément cette protéine en faible quantité et que cette production était stimulée par ces cytokines proinflammatoires.

L'IL-17A, le TNF α et l'IL-1 α seuls permettaient une augmentation significative de la production de A-SAA, respectivement de 22, 20 et 11 fois plus pour les transcrits et de 3,7, 2,1, 2,4 fois plus pour la protéine des surnageants. En éliminant une cytokine du mélange de cinq cytokines (M5), l'absence d'IL-17A provoquait une diminution significative de la synthèse de A-SAA comparativement aux stimulations par M5. Comme nous l'avons vu plus haut, M5 permet l'activation des trois facteurs de transcription nécessaires à la synthèse de A-SAA : NF- κ B, STAT3 and C/EBP β (Guilloteau et al., 2010) (Hagihara et al., 2005). Ainsi, l'IL-1 α , le TNF α et l'IL-17A sont les principales cytokines inductrices de la synthèse kératinocytaire de A-SAA et l'IL-17A paraît avoir un rôle majeur, probablement dû au fait qu'elle seule active le facteur de transcription C/EBP β . L'expression maximale des transcrits est de 88 fois après 24 heures de stimulation par M5 et celle de la protéine de 12 fois après 48 heures de stimulation par M5 comparativement aux NHEK contrôles non stimulés.

Comme pour l'induction d'AMP, l'IL-1 α , l'IL-17A et le TNF α étaient les principaux inducteurs et l'ajout de l'IL-22, OSM majorait cette activité (Guilloteau et al., 2010). De ce fait, la corrélation entre les AMP et les transcrits codant pour A-SAA issus de NHEK stimulés et ceux issus des peaux psoriasiques, est significative. Les AMP et la A-SAA ont en commun un rôle dans l'immunité innée en tant qu'agents chimiotactiques des PNN et des LT (Su et al., 1999a), activateurs de la synthèse de cytokines pro-inflammatoires et stimulateurs des CD (Ather et al., 2011).

Urieli-Shoval *et al* ont montré que la protéine A-SAA pouvait être synthétisée dans de nombreux tissus extra-hépatiques sains dont l'épiderme et lui ont supposé un rôle à son site d'expression (Urieli-Shoval et al., 1998). Ultérieurement, la production de A-SAA fut décrite dans des tissus inflammatoires chroniques : synoviaux issus de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (O'Hara et al., 2000), intestinaux provenant de patients atteints de colite inflammatoire (Eckhardt et al., 2010), pulmonaires issus de patients atteints de bronchite chronique obstructive (Bozinovski et al., 2012), adipeux issus de patients obèses (Sjöholm et al., 2005), ou encore dans des plaques d'athérosclérose (Meek et al., 1994).

Si la production de A-SAA au niveau de la peau inflammatoire n'a pas été décrite, Dogan *et al* ont montré que le taux sérique de A-SAA était plus élevé chez les patients atteints de psoriasis sévère. Ils proposaient que le taux de A-SAA sérique puisse être un marqueur de l'inflammation systémique liée au psoriasis (Dogan and Atakan, 2010). Par ailleurs, plusieurs cas d'amylose AA secondaire à un psoriasis ont été rapportés. Cela suppose une augmentation sérique chronique de la protéine, étape clé préalable à la formation de l'amylose secondaire. Il s'agissait dans 85% des cas de psoriasis cutané-articulaire (Bergis et al., 2003).

Dans notre étude, nous avons évalué l'expression de A-SAA au niveau cutané (ARNm) et sérique (protéine) chez des patients atteints de psoriasis comparativement à des patients sains contrôles. Les taux sériques sont significativement plus élevés chez les patients psoriasiques par rapport aux contrôles, en accord avec les résultats récemment publiés (Dogan and Atakan, 2010). Nous montrons pour la première fois une surexpression locale cutanée des transcrits codant pour A-SAA chez les patients psoriasiques ce qui conduit à s'interroger sur son possible rôle dans la physiopathologie de cette maladie. Cette surexpression sérique et cutanée était plus importante dans les cas de maladie sévère (score PASI >20), ancienne (durée d'évolution de la maladie >10ans), d'association à un tabagisme ou à un syndrome métabolique. Nous avons montré que les taux sériques de A-SAA étaient corrélés à ceux d'une autre protéine de l'inflammation, la CRP (Protéine C réactive). Synthétisée par le foie, la CRP sérique est aussi augmentée chez les patients psoriasiques et corrélée à la sévérité de la maladie (Beygi et al., 2013).

Ainsi, la surexpression cutanée de A-SAA en situation inflammatoire comme le psoriasis implique une production locale. Nos données *in vitro* et sa corrélation avec les dosages sériques conduit à s'interroger sur la contribution des kératinocytes à l'élévation des taux sériques.

Un modèle murin de psoriasis est utilisé au laboratoire pour étudier le rôle des cytokines dans cette pathologie. L'application d'Imiquimod 5% en crème durant 6 jours sur la peau rasée du dos de souris mâles C57BL/6 sauvages, induit un phénotype de psoriasis (van der Fits et al., 2009). Le même phénomène a d'ailleurs été rapporté chez l'homme

(Patel et al., 2011). En effet, comme détaillé en introduction, le phénotype de psoriasis est induit par l'activation des kératinocytes et du système immunitaire orienté Th1 / Th17 *via* la stimulation des TLR7/8 (van der Fits et al., 2009).

Chez la souris, les gènes SAA1, 2, et 3 codent pour la protéine A-SAA dont le rôle est similaire à celui observé chez l'homme, et le gène SAA4 code pour la C-SAA. La synthèse des protéines SAA1 et 2 est principalement hépatique alors que celle de la SAA3 est aussi extra-hépatique (Uhlir and Whitehead, 1999). Schlingemann *et al* ont détecté les transcrits codant pour SAA3 dans la peau saine de souris C57BL/6 ; l'expression était plus importante dans les peaux issues de carcinomes épidermoïdes chimio-induits. Ces auteurs suggèrent que la SAA3 pourrait participer à l'inflammation cutanée et à la prolifération épidermique (Schlingemann et al., 2003). Dans notre étude, nous montrons que l'expression des transcrits codant pour SAA1/2 et SAA3 issus de peaux traitées par IMQ était augmentée de respectivement 55 et 3265 fois plus par rapport aux peaux contrôles. L'application cutanée d'IMQ induit l'expression épidermique d'IL-23, d'IL-17A et d'IL-17F (van der Fits et al., 2009). Or, nous avons démontré que l'IL-17A était une cytokine fortement impliquée dans la synthèse kératinocytaire de A-SAA *in vitro*. Il est donc attendu que l'expression cutanée de A-SAA soit augmentée après traitement par IMQ. Comme pour l'homme, on peut s'interroger sur le rôle de A-SAA dans l'induction du phénotype psoriasique. Il serait intéressant d'évaluer l'inflammation cutanée psoriasique induite par l'IMQ chez des souris SAA3 knockout (KO). Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'équipe ayant travaillé avec des souris SAA3 KO, mais des souris SAA1/2 KO ont déjà été utilisées pour l'étude du rôle de la A-SAA dans un modèle murin de colite inflammatoire. Étonnamment, l'expression colique des transcrits codant pour SAA3 était beaucoup plus faible que ceux codant pour SAA1/2 (Eckhardt et al., 2010).

Il reste à démontrer que la protéine A-SAA produite localement puisse avoir un rôle dans la physiopathologie du psoriasis, comme cela a été démontré pour d'autres pathologies inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde (O'Hara et al., 2000), les colites inflammatoires (Eckhardt et al., 2010), la bronchite chronique obstructive (Bozinovski et al., 2012). En effet, elle stimule l'angiogénèse (Mullan et al., 2006), induit le chimiotactisme des lymphocytes T (Xu et al., 1995), des monocytes et des PNN (Badolato et al., 1994) *via* le

récepteur FPR2 (Su et al., 1999a) et elle active les monocytes et les polynucléaires synthétisant alors des cytokines proinflammatoires telles que l'IL-8, TNF- α et l'IL-1 β (Hatanaka et al., 2007). Chez la souris, elle active la production macrophagique de cytokines proinflammatoires telles que l'IL-23, le TNF α et de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-1 Ra (antagoniste du récepteur de l'IL-1) et l'IL-10 *via* le récepteur TLR2 (Cheng et al., 2008). De plus, elle favorise la synthèse d'IL-1, d'IL-6, d'IL-23 et de TNF α par les cellules dendritiques murines, participant ainsi à la polarisation des lymphocytes Th17 (Ather et al., 2011).

Précisons que les kératinocytes présentent différents récepteurs susceptibles de se lier à la protéine A-SAA tels que le TLR2, le CD36, le RAGE. L'engagement du TLR2 active la voie du NF- κ B et la synthèse de médiateurs proinflammatoires tels que des AMP (dont hBD2, hBD3) (Baroni et al., 2006) et des chimiokines (dont IL-8, CCL2, CCL20) (Niebuhr et al., 2010). De plus, l'expression kératinocytaire du TLR2 est augmentée dans certaines dermatoses inflammatoires telles que le psoriasis (Baker et al., 2003a). Enfin, la liaison de la A-SAA au TLR2 des macrophages murins induit *in vitro* la synthèse de cytokines telles que l'IL-10, IL-1ra, TNF α , IL-23p19 (Cheng et al., 2008). Par contre, les kératinocytes n'exprimeraient pas le TLR4, autre récepteur de la A-SAA (Mempel et al., 2003). Les récepteurs Scavenger (SR-BI, CD36) sont physiologiquement présents à la surface des kératinocytes et ont un rôle dans l'homéostasie de la barrière cutanée, en maintenant sa composition en cholestérol (Sticozzi et al., 2012). Dans les tissus synoviaux issus d'articulations de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, le récepteur SR-BI lié à la A-SAA active la production d'IL-6 et IL-8 *via* l'activation des MPAK (ERK1/2 et p38) (Mullan et al., 2010). *In vitro*, la liaison de la protéine A-SAA au récepteur CD36 de monocytes sanguins humains, entraîne la production d'IL-6, IL-8 et TNF α *via* l'activation des MAPK (ERK1/2, JNK) (Baranova et al., 2010). Enfin, le récepteur RAGE exprimé par les kératinocytes aurait un rôle dans la cicatrisation en favorisant la synthèse de métalloprotéinases (Zhu et al., 2012) et dans l'inflammation cutanée *via* l'activation de la voie du NF- κ B (Zhang et al., 2011).

Ainsi, au moins 3 récepteurs kératinocytaires décrits comme possibles inducteurs de signaux proinflammatoires, sont susceptibles de se lier à la protéine A-SAA. Cela devra conduire à s'intéresser à sa possible action autocrine, par exemple, en étudiant *in vitro*, le profil transcriptomique des NHEK stimulés par la protéine A-SAA.

L'association du psoriasis à un risque plus important d'athérosclérose est maintenant bien documentée. Balci *et al* ont par exemple mesuré certains paramètres échographiques reflétant l'athérosclérose des troncs supra-aortiques chez des patients psoriasiques et des sujets sains, exempts de facteurs de risque cardio-vasculaires. Chez les patients psoriasiques, l'épaisseur de l'intima-média carotidienne était anormalement augmentée, et les paramètres d'étude du flux artériel présentaient une altération dont l'intensité était associée à la durée d'évolution du psoriasis (Balci et al., 2009).

Parallèlement, l'augmentation du taux de A-SAA sérique est associée à un risque cardio-vasculaire plus élevé (Johnson et al., 2004). Il a été montré que les patients atteints de maladie cardio-vasculaire chronique avaient un taux sérique de A-SAA élevé, environ 11 à 15 mg/l (Lee et al., 2013b). En effet, la A-SAA aurait une action directe sur la formation des plaques d'athérome. Elle augmenterait *via* le FPR2, le nombre de récepteurs aux LDL oxydées (entités hétérogènes formées de lipides et protéines dénaturés) (Lee et al., 2013b) tels que le récepteur scavenger LOX-1 (lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor), présent au niveau des cellules endothéliales, des monocytes, des macrophages, des plaquettes et des cellules musculaires lisses. Ce récepteur est surexprimé en situation inflammatoire comme l'athérosclérose, le diabète, l'hypertension, la dyslipidémie (Dunn et al., 2008). La liaison des LDL oxydées à ce récepteur active les MAPK (p38), JNK, ERK et NF- κ B (Lee et al., 2013b). Cela entraîne la synthèse de médiateurs proinflammatoires notamment des molécules d'adhésion vasculaire (comme P-selectine, E-selectine, VCAM-1=vascular cell adhesion molecule 1, ICAM-1=intercellular adhesion molecule 1, PECAM-1=platelet/endothelial cell adhesion molecule 1), des facteurs de croissance (G-CSF, M-CSF) et des chimiokines (CCL2) (Dunn et al., 2008). En conséquence, les monocytes sont attirés au niveau des parois artérielles et se différencient en macrophages. Après phagocytose des LDL oxydées, ces macrophages se transforment en cellules spumeuses, productrices de médiateurs inflammatoires notamment le TNF α , qui favorise la prolifération des cellules musculaires lisses et l'inflammation de la paroi vasculaire à l'origine du processus d'athérosclérose (Kotani et al., 2009). De plus, La A-SAA contribuerait à la diminution de l'activité anti-oxydative d'une enzyme hépatique circulante : la paraoxonase-1 (PON-1). Son fonctionnement nécessite l'apolipoprotéine A1 (ApoA1), principale apolipoprotéine des HDL.

L'augmentation sérique de la A-SAA remplace l'apoA1 par la A-SAA. Ainsi l'activité de la PON-1 diminue et les HDL perdent leurs propriétés anti-oxydatives (Kappelle et al., 2011).

Ainsi, nous émettons l'hypothèse que la A-SAA puisse être un lien entre le psoriasis et l'athérosclérose.

Des comorbidités métaboliques et cardio-vasculaires comme le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle, les dyslipidémies ont été décrites en association avec le psoriasis (Bens et al., 2012). En effet, chez ces patients la survenue d'un syndrome métabolique est plus fréquente et ce d'autant plus que la maladie est sévère (Gelfand et al., 2006) et ancienne (Michalak-Stoma et al., 2011). Ce syndrome contribue aussi au développement d'athérosclérose et augmente le risque de maladie cardio-vasculaire (Balci et al., 2009). En effet, le tissu adipeux des patients atteints de syndrome métabolique est un tissu inflammatoire avec un infiltrat macrophagique (Xu et al., 2003) et une surexpression d'adipokines proinflammatoires telles que l'IL-1, l'IL-6, le TNF α , le MCP-1, le PAI-1 (plasminogene activator inhibitor-1) (Yang et al., 2006) (Xu et al., 2003). Chez les patients obèses, le niveau d'expression des transcrits codant pour A-SAA dans les tissus adipocytaires ainsi que le taux de A-SAA circulante sont augmentés. Cette surexpression est corrélée à l'indice de masse corporelle et diminue après perte de poids (Yang et al., 2006). Nous suggérons que la A-SAA puisse contribuer au développement d'un syndrome métabolique associé au psoriasis. En effet, elle favorise la lipolyse, le relargage d'acides gras libres dans la circulation et diminue la sensibilité à l'insuline des adipocytes. En se liant au récepteur scavenger CLA-1, fortement exprimé dans le tissu adipeux, la A-SAA aurait une action autocrine sur les adipocytes et un effet indirect stimulant la synthèse de cytokines lipolytiques telles que l'IL-6, le TNF α notamment par les cellules endothéliales et les monocytes (Yang et al., 2006).

L'expression cutanée des transcrits codant pour A-SAA était augmentée chez les patients psoriasiques fumeurs comparativement aux patients psoriasiques non fumeurs. Le tabagisme est un facteur environnemental favorisant du psoriasis bien connu : c'est un facteur de risque indépendant de psoriasis et la durée de rémission de la maladie est écourtée chez les fumeurs (Ortiz and Grando, 2012). En effet, la nicotine se lie aux « nicotinic acetylcholine receptors » des cellules dendritiques, des macrophages, des cellules

endothéliales, des kératinocytes, entraînant une modification de l'environnement cytokinique favorable à la production d'A-SAA. Au niveau des cellules dendritiques, elle induit l'expression de molécules de maturation (CD83), de molécules d'adhésion lymphocytaire (ICAM-1), du CMH II, de molécules de costimulation (CD40, CD86) ainsi que de l'IL-12 favorisant une polarisation Th1. De plus, les cellules dendritiques ainsi activées favorisent la production de CD40 ligand et d'IL-2 par les LT. L'IL-2 stimule l'activité et la prolifération des LT cytotoxiques, des NKT, des monocytes, des macrophages et des cellules souches hématopoïétiques en déclenchant notamment la production d'IFN- γ , de TNF α , d'IL-6, de GM-CSF. Enfin, la nicotine peut directement stimuler les macrophages produisant alors de l'IL-1 β et du TNF α (Armstrong et al., 2011). L'environnement cytokinique proinflammatoire ainsi engendré par la nicotine pourrait donc favoriser la production kératinocytaire de A-SAA *via* notamment l'action de l'IL-1 β , l'IL-6 et du TNF α .

Ainsi, la fréquence accrue d'athérosclérose chez les patients psoriasiques, pourrait être en partie expliquée par l'augmentation cutanée et sérique de la A-SAA, reflet de l'inflammation locale et systémique liée au psoriasis.

V/ Conclusion

Nous avons confirmé la surexpression sérique de la protéine A-SAA chez les patients psoriasiques et montré pour la 1^{ère} fois une surexpression cutanée des transcrits codant pour A-SAA chez les patients et les souris psoriasiques en lien avec une synthèse kératinocytaire induite par les cytokines Th17. Cette synthèse locale pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie du psoriasis et contribuer à l'inflammation systémique associée, favorisant l'athérosclérose. L'hypothèse pourrait être abordée par l'étude de l'inflammation cutanée psoriasique induite chez des souris SAA3 KO ainsi que par l'étude *in vitro* des effets de la A-SAA sur les kératinocytes.

Annexes

Annexe 1 : Définition du syndrome métabolique

3 des 5 critères :

- obésité abdominale *seuils ethno-centrés : tour de taille ≥ 94 cm chez l'homme, ≥ 80 cm chez la femme pour les Européens*
- hypertriglycéridémie $> 1,5$ g/L ou traitée
- taux abaissé de HDL-c $< 0,40$ g/L chez l'homme ou $< 0,50$ g/L chez la femme
- élévation de la pression artérielle $PAS \geq 130$ et/ou $PAD \geq 85$ mmHg ou traitée
- élévation de la glycémie ≥ 1 g/L ou traitée

(l'IDF (International Diabetes Federation), l'AHA (American Heart Association), 2009)

Annexe 2 : Psoriasis Area Severity Index (PASI)

Tableau des modalités de cotations							
Score	0	1	2	3	4	5	6
Érythème	Absence	Léger	Modéré	Sévère	Très sévère	–	–
Infiltration	Absence	Léger	Modéré	Sévère	Très sévère	–	–
Desquamation	Absence	Léger	Modéré	Sévère	Très sévère	–	–
% surface atteinte	0-5	5-25	25-45	45-55	55-75	75-95	95-100

Indiquez les différents scores de l'atteinte des différentes parties du corps

TÊTE (T1)	Score	TRONC (T2)	Score
Érythème	_	Érythème	_
Infiltration	_	Infiltration	_
Desquamation	_	Desquamation	_
Total =	_ _	Total =	_ _
Surface atteinte	_	Surface atteinte	_
X Total	_ _	X Total	_ _
X 0,1 =	_ _ _ _	X 0,2 =	_ _ _ _
MEMBRES SUP (MS)	Score	MEMBRES INF (MI)	Score
Érythème	_	Érythème	_
Infiltration	_	Infiltration	_
Desquamation	_	Desquamation	_
Total =	_ _	Total =	_ _
Surface atteinte	_	Surface atteinte	_
X Total	_ _	X Total	_ _
X 0,3 =	_ _ _ _	X 0,4 =	_ _ _ _
PASI = T1 + T2 + MS + MI = _ _ _ _ (pas d'atteinte = 0 et score maximum = 72)			

(Dupuy, 2008)

Bibliographie

Abul-K Abbas, and Andrew-H Lichtman (2010). Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique.

Akdis, M., Palomares, O., van de Veen, W., van Splunter, M., and Akdis, C.A. (2012). TH17 and TH22 cells: a confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J. Allergy Clin. Immunol.* 129, 1438–1449; quiz1450–1451.

Albanesi, C., De Pità, O., and Girolomoni, G. (2007). Resident skin cells in psoriasis: a special look at the pathogenetic functions of keratinocytes. *Clin. Dermatol.* 25, 581–588.

Albanesi, C., Scarponi, C., Pallotta, S., Daniele, R., Bosio, D., Madonna, S., Fortugno, P., Gonzalvo-Feo, S., Franssen, J.-D., Parmentier, M., et al. (2009). Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *J. Exp. Med.* 206, 249–258.

Armstrong, A.W., Armstrong, E.J., Fuller, E.N., Sockolov, M.E., and Voyles, S.V. (2011). Smoking and pathogenesis of psoriasis: a review of oxidative, inflammatory and genetic mechanisms. *Br. J. Dermatol.* 165, 1162–1168.

Ather, J.L., Ckless, K., Martin, R., Foley, K.L., Suratt, B.T., Boyson, J.E., Fitzgerald, K.A., Flavell, R.A., Eisenbarth, S.C., and Poynter, M.E. (2011). Serum amyloid A activates the NLRP3 inflammasome and promotes Th17 allergic asthma in mice. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 187, 64–73.

Bachelier, F., Ben-Baruch, A., Burkhardt, A.M., Combadiere, C., Farber, J.M., Graham, G.J., Horuk, R., Sparre-Ulrich, A.H., Locati, M., Luster, A.D., et al. (2014). International Union of Pharmacology. LXXXIX. Update on the Extended Family of Chemokine Receptors and Introducing a New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Pharmacol. Rev.* 66, 1–79.

Badolato, R., Wang, J.M., Murphy, W.J., Lloyd, A.R., Michiel, D.F., Bausserman, L.L., Kelvin, D.J., and Oppenheim, J.J. (1994). Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion, and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.* 180, 203–209.

Baker, B.S., Ovigne, J.-M., Powles, A.V., Corcoran, S., and Fry, L. (2003a). Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 148, 670–679.

Baker, B.S., Ovigne, J.-M., Powles, A.V., Corcoran, S., and Fry, L. (2003b). Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 148, 670–679.

Balci, D.D., Balci, A., Karazincir, S., Ucar, E., Iyigun, U., Yalcin, F., Seyfeli, E., Inandi, T., and Egilmez, E. (2009). Increased carotid artery intima-media thickness and impaired endothelial function in psoriasis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* 23, 1–6.

Balkwill, F. (2009). Tumour necrosis factor and cancer. *Nat. Rev. Cancer* 9, 361–371.

Baranova, I.N., Vishnyakova, T.G., Bocharov, A.V., Kurlander, R., Chen, Z., Kimelman, M.L., Remaley, A.T., Csako, G., Thomas, F., Eggerman, T.L., et al. (2005). Serum amyloid A binding to CLA-1 (CD36 and LIMPII analogous-1) mediates serum amyloid A protein-induced activation of ERK1/2 and p38 mitogen-activated protein kinases. *J. Biol. Chem.* 280, 8031–8040.

- Baranova, I.N., Bocharov, A.V., Vishnyakova, T.G., Kurlander, R., Chen, Z., Fu, D., Arias, I.M., Csako, G., Patterson, A.P., and Eggerman, T.L. (2010). CD36 is a novel serum amyloid A (SAA) receptor mediating SAA binding and SAA-induced signaling in human and rodent cells. *J. Biol. Chem.* **285**, 8492–8506.
- Barksby, H.E., Lea, S.R., Preshaw, P.M., and Taylor, J.J. (2007). The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin. Exp. Immunol.* **149**, 217–225.
- Baroni, A., Orlando, M., Donnarumma, G., Farro, P., Iovene, M.R., Tufano, M.A., and Buommino, E. (2006). Toll-like receptor 2 (TLR2) mediates intracellular signalling in human keratinocytes in response to *Malassezia furfur*. *Arch. Dermatol. Res.* **297**, 280–288.
- Bens, G., Maccari, F., and Estève, E. (2012). [Psoriasis: a systemic disease]. *Presse Médicale Paris Fr.* **1983** **41**, 338–348.
- Bergis, M., Dega, H., Planquois, V., Benichou, O., and Dubertret, L. (2003). [Amyloidosis complicating psoriatic arthritis]. *Ann Dermatol Venereol* **130**, 1039–1042.
- Beygi, S., Lajevardi, V., and Abedini, R. (2013). C-reactive protein in psoriasis: a review of the literature. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV.*
- Boniface, K., Bernard, F.-X., Garcia, M., Gurney, A.L., Lecron, J.-C., and Morel, F. (2005). IL-22 inhibits epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes. *J. Immunol. Baltim. Md* **1950** **174**, 3695–3702.
- Boniface, K., Diveu, C., Morel, F., Pedretti, N., Froger, J., Ravon, E., Garcia, M., Venereau, E., Preisser, L., Guignouard, E., et al. (2007). Oncostatin M secreted by skin infiltrating T lymphocytes is a potent keratinocyte activator involved in skin inflammation. *J. Immunol. Baltim. Md* **1950** **178**, 4615–4622.
- Bozinovski, S., Uddin, M., Vlahos, R., Thompson, M., McQualter, J.L., Merritt, A.S., Wark, P.A., Hutchinson, A., Irving, L.B., Levy, B.D., et al. (2012). Serum amyloid A opposes lipoxin A(4) to mediate glucocorticoid refractory lung. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 935–940.
- Cai, H., Song, C., Endoh, I., Goyette, J., Jessup, W., Freedman, S.B., McNeil, H.P., and Geczy, C.L. (2007). Serum amyloid A induces monocyte tissue factor. *J. Immunol. Baltim. Md* **1950** **178**, 1852–1860.
- Cai, L., de Beer, M.C., de Beer, F.C., and van der Westhuyzen, D.R. (2005). Serum amyloid A is a ligand for scavenger receptor class B type I and inhibits high density lipoprotein binding and selective lipid uptake. *J. Biol. Chem.* **280**, 2954–2961.
- Calvo, D., Gómez-Coronado, D., Lasunción, M.A., and Vega, M.A. (1997). CLA-1 is an 85-kD plasma membrane glycoprotein that acts as a high-affinity receptor for both native (HDL, LDL, and VLDL) and modified (OxLDL and AcLDL) lipoproteins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **17**, 2341–2349.
- Cengiz, M.I., Wang, H.-L., and Yildiz, L. (2010). Oral involvement in a case of AA amyloidosis: a case report. *J. Med. Case Reports* **4**, 200.
- Chambers, R.E., MacFarlane, D.G., Whicher, J.T., and Dieppe, P.A. (1983). Serum amyloid-A protein concentration in rheumatoid arthritis and its role in monitoring disease activity. *Ann. Rheum. Dis.* **42**, 665–667.

Cheng, N., He, R., Tian, J., Ye, P.P., and Ye, R.D. (2008). Cutting edge: TLR2 is a functional receptor for acute-phase serum amyloid A. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **181**, 22–26.

Connolly, D.J., and O'Neill, L.A.J. (2012). New developments in Toll-like receptor targeted therapeutics. *Curr. Opin. Pharmacol.* **12**, 510–518.

Démarchez, M. (2011). L'épiderme et la différenciation des kératinocytes. *Biologiedelapeau.fr*.

Dogan, S., and Atakan, N. (2010). Is serum amyloid A protein a better indicator of inflammation in severe psoriasis? *Br. J. Dermatol.* **163**, 895–896.

Doutre, M.-S. (2009). [Cutaneous immune system]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* **136 Suppl 6**, S257–262.

Dunn, S., Vohra, R.S., Murphy, J.E., Homer-Vanniasinkam, S., Walker, J.H., and Ponnambalam, S. (2008). The lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor: a pro-inflammatory factor in vascular disease. *Biochem. J.* **409**, 349–355.

Dupuy, A. (2008). [Severity scores in dermatology]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* **135**, 259–260.

Eckhardt, E.R., Witta, J., Zhong, J., Arsenescu, R., Arsenescu, V., Wang, Y., Ghoshal, S., de Beer, M.C., de Beer, F.C., and de Villiers, W.J. (2010). Intestinal epithelial serum amyloid A modulates bacterial growth in vitro and. *BMC Gastroenterol* **10**, 133.

Edwards, C.K., 3rd, Martin, S.W., Seely, J., Kinstler, O., Buckel, S., Bendele, A.M., Ellen Cosenza, M., Feige, U., and Kohno, T. (2003). Design of PEGylated soluble tumor necrosis factor receptor type I (PEG sTNF-RI) for chronic inflammatory diseases. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **55**, 1315–1336.

Esche, C., Stellato, C., and Beck, L.A. (2005). Chemokines: key players in innate and adaptive immunity. *J. Invest. Dermatol.* **125**, 615–628.

Fich S, F., Chahuán Y, M., Farías N, M.M., Cárdenas D, C., Abarzúa A, A., Araya C, G., and González B, S. (2012). [AA amyloidosis with cutaneous manifestations. Report of one case]. *Rev. Médica Chile* **140**, 499–502.

Finelt, N., Gazel, A., Gorelick, S., and Blumenberg, M. (2005). Transcriptional responses of human epidermal keratinocytes to Oncostatin-M. *Cytokine* **31**, 305–313.

Van der Fits, L., Mourits, S., Voerman, J.S.A., Kant, M., Boon, L., Laman, J.D., Cornelissen, F., Mus, A.-M., Florencia, E., Prens, E.P., et al. (2009). Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **182**, 5836–5845.

Fujimoto, E., Kobayashi, T., Fujimoto, N., Akiyama, M., Tajima, S., and Nagai, R. (2010). AGE-modified collagens I and III induce keratinocyte terminal differentiation through AGE receptor CD36: epidermal-dermal interaction in acquired perforating dermatosis. *J. Invest. Dermatol.* **130**, 405–414.

Furlaneto, C.J., and Campa, A. (2000). A novel function of serum amyloid A: a potent stimulus for the release of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interleukin-8 by human blood neutrophil. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **268**, 405–408.

G. Girolomoni (2006). Les cellules immunocompétentes. In *Dermatologie*, (Elsevier Masson),.

- Gaffen, S.L. (2009). Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat. Rev. Immunol.* 9, 556–567.
- Gelfand, J.M., Neimann, A.L., Shin, D.B., Wang, X., Margolis, D.J., and Troxel, A.B. (2006). Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* 296, 1735–1741.
- Ghoreschi, K., Laurence, A., Yang, X.-P., Tato, C.M., McGeachy, M.J., Konkel, J.E., Ramos, H.L., Wei, L., Davidson, T.S., Bouladoux, N., et al. (2010). Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature* 467, 967–971.
- Glurich, I., Grossi, S., Albini, B., Ho, A., Shah, R., Zeid, M., Baumann, H., Genco, R.J., and De Nardin, E. (2002). Systemic inflammation in cardiovascular and periodontal disease: comparative study. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9, 425–432.
- Grateau, G. (2006). Amylose AA. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale de Néphrologie*, (Elsevier Masson),.
- Grundmann, J.U., Bonnekoh, B., and Gollnick, H. (2000). Extensive haemorrhagic-bullous skin manifestation of systemic AA-amyloidosis. *Eur J Dermatol* 10, 139–142.
- Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Franklin, B.A., Gordon, D.J., Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C., Jr, et al. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112, 2735–2752.
- Guilloteau, K., Paris, I., Pedretti, N., Boniface, K., Juchaux, F., Huguier, V., Guillet, G., Bernard, F.-X., Lecron, J.-C., and Morel, F. (2010). Skin Inflammation Induced by the Synergistic Action of IL-17A, IL-22, Oncostatin M, IL-1 α , and TNF- α Recapitulates Some Features of Psoriasis. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950.
- Hagihara, K., Nishikawa, T., Isobe, T., Song, J., Sugamata, Y., and Yoshizaki, K. (2004). IL-6 plays a critical role in the synergistic induction of human serum amyloid A. *Biochem Biophys Res Commun* 314, 363–369.
- Hagihara, K., Nishikawa, T., Sugamata, Y., Song, J., Isobe, T., Taga, T., and Yoshizaki, K. (2005). Essential role of STAT3 in cytokine-driven NF-kappaB-mediated serum amyloid A gene expression. *Genes Cells Devoted Mol. Cell. Mech.* 10, 1051–1063.
- Hänel, K.H., Cornelissen, C., Lüscher, B., and Baron, J.M. (2013). Cytokines and the skin barrier. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 6720–6745.
- Hari-Dass, R., Shah, C., Meyer, D.J., and Raynes, J.G. (2005). Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram-negative bacteria. *J Biol Chem* 280, 18562–18567.
- Hatanaka, E., Furlaneto, C.J., Ribeiro, F.P., Souza, G.M., and Campa, A. (2004). Serum amyloid A-induced mRNA expression and release of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human neutrophils. *Immunol. Lett.* 91, 33–37.
- Hatanaka, E., Monteagudo, P.T., Marrocos, M.S.M., and Campa, A. (2007). Interaction between serum amyloid A and leukocytes - a possible role in the progression of vascular complications in diabetes. *Immunol. Lett.* 108, 160–166.

- Hatanaka, E., Dermargos, A., Armelin, H.A., Curi, R., and Campa, A. (2011). Serum amyloid A induces reactive oxygen species (ROS) production and proliferation of fibroblast. *Clin. Exp. Immunol.* *163*, 362–367.
- He, R., Sang, H., and Ye, R.D. (2003). Serum amyloid A induces IL-8 secretion through a G protein-coupled receptor, FPRL1/LXA4R. *Blood* *101*, 1572–1581.
- He, R., Shepard, L.W., Chen, J., Pan, Z.K., and Ye, R.D. (2006). Serum amyloid A is an endogenous ligand that differentially induces IL-12 and IL-23. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *177*, 4072–4079.
- He, R.L., Zhou, J., Hanson, C.Z., Chen, J., Cheng, N., and Ye, R.D. (2009). Serum amyloid A induces G-CSF expression and neutrophilia via Toll-like receptor 2. *Blood* *113*, 429–437.
- Heinrich, P.C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H.M., Müller-Newen, G., and Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem. J.* *374*, 1–20.
- Van der Hilst, J.C. (2011). Recent insights into the pathogenesis of type AA amyloidosis. *ScientificWorldJournal* *11*, 641–650.
- Ho, A.W., and Gaffen, S.L. (2010). IL-17RC: a partner in IL-17 signaling and beyond. *Semin. Immunopathol.* *32*, 33–42.
- Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S., Tsukamoto, H., and Shimoda, T. (2010). Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatol. Oxf. Engl.* *49*, 1215–1228.
- IUIS/WHO Subcommittee on Chemokine Nomenclature (2003). Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *Cytokine* *21*, 48–49.
- JJ Guilhou (2000). Psoriasis : diagnostic et étiopathogénie. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale de Dermatologie*, pp. 98–190–A–10.
- Johnson, B.D., Kip, K.E., Marroquin, O.C., Ridker, P.M., Kelsey, S.F., Shaw, L.J., Pepine, C.J., Sharaf, B., Bairey Merz, C.N., Sopko, G., et al. (2004). Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation* *109*, 726–732.
- Jullien, D. (2012). [Pathogenesis of psoriasis]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* *139 Suppl 2*, S68–72.
- Kappelle, P.J.W.H., Bijzet, J., Hazenberg, B.P., and Dullaart, R.P.F. (2011). Lower serum paraoxonase-1 activity is related to higher serum amyloid a levels in metabolic syndrome. *Arch. Med. Res.* *42*, 219–225.
- Katsikas, G.A., Maragou, M., Rontogianni, D., Gouma, P., Koutsouvelis, I., and Kappou-Rigatou, I. (2008). Secondary cutaneous nodular AA amyloidosis in a patient with primary Sjogren. *J Clin Rheumatol* *14*, 27–29.
- Kimura, M., Tomita, Y., Imai, T., Saito, T., Katagiri, A., Ohara-Mikami, Y., Matsudo, T., and Takahashi, K. (2001). Significance of serum amyloid A on the prognosis in patients with renal cell carcinoma. *Cancer* *92*, 2072–2075.
- Kolokotronis, A., Chatzigiannis, I., and Paloukidou, N. (2003). Oral involvement in a case of AA amyloidosis. *Oral Dis.* *9*, 269–272.

- Kono, T., Kondo, S., Pastore, S., Shivji, G.M., Tomai, M.A., McKenzie, R.C., and Sauder, D.N. (1994). Effects of a novel topical immunomodulator, imiquimod, on keratinocyte cytokine gene expression. *Lymphokine Cytokine Res.* *13*, 71–76.
- Kotani, K., Koibuchi, H., Yamada, T., and Taniguchi, N. (2009). The effects of lifestyle modification on a new oxidized low-density lipoprotein marker, serum amyloid A-LDL, in subjects with primary lipid disorder. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* *409*, 67–69.
- Kumar, H., Kawai, T., and Akira, S. (2009). Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *388*, 621–625.
- Lai, Y., Di Nardo, A., Nakatsuji, T., Leichtle, A., Yang, Y., Cogen, A.L., Wu, Z.-R., Hooper, L.V., Schmidt, R.R., von Aulock, S., et al. (2009). Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nat. Med.* *15*, 1377–1382.
- Le, Y., Murphy, P.M., and Wang, J.M. (2002). Formyl-peptide receptors revisited. *Trends Immunol.* *23*, 541–548.
- Lécart, S., Morel, F., Noraz, N., Pène, J., Garcia, M., Boniface, K., Lecron, J.-C., and Yssel, H. (2002). IL-22, in contrast to IL-10, does not induce Ig production, due to absence of a functional IL-22 receptor on activated human B cells. *Int. Immunol.* *14*, 1351–1356.
- Lee, H.Y., Kim, M.-K., Park, K.S., Bae, Y.H., Yun, J., Park, J.-I., Kwak, J.-Y., and Bae, Y.-S. (2005). Serum amyloid A stimulates matrix-metalloproteinase-9 upregulation via formyl peptide receptor like-1-mediated signaling in human monocytic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *330*, 989–998.
- Lee, H.Y., Kim, S.D., Baek, S.-H., Choi, J.H., and Bae, Y.-S. (2013a). Role of formyl peptide receptor 2 on the serum amyloid A-induced macrophage foam cell formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *433*, 255–259.
- Lee, H.Y., Kim, S.D., Baek, S.-H., Choi, J.H., Cho, K.-H., Zabel, B.A., and Bae, Y.-S. (2013b). Serum amyloid A stimulates macrophage foam cell formation via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 upregulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *433*, 18–23.
- Li, H., and Lin, X. (2008). Positive and negative signaling components involved in TNF α -induced NF- κ B activation. *Cytokine* *41*, 1–8.
- Li, J., Wang, X., Zhang, F., and Yin, H. (2013). Toll-like receptors as therapeutic targets for autoimmune connective tissue diseases. *Pharmacol. Ther.* *138*, 441–451.
- Liu, Z., Fan, H., and Jiang, S. (2013). CD4(+) T-cell subsets in transplantation. *Immunol. Rev.* *252*, 183–191.
- Loryman, C., and Mansbridge, J. (2008). Inhibition of keratinocyte migration by lipopolysaccharide. *Wound Repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.* *16*, 45–51.
- Lowes, M.A., Russell, C.B., Martin, D.A., Towne, J.E., and Krueger, J.G. (2013). The IL-23/T17 pathogenic axis in psoriasis is amplified by keratinocyte responses. *Trends Immunol.*
- Mackman, N. (2004). Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *24*, 1015–1022.

- Magy, N. (2004). [AA Amyloidosis: recent knowledges on pathophysiology]. *Rev Med Interne* 25, 129–134.
- Mattozzi, C., Richetta, A.G., Cantisani, C., Macaluso, L., and Calvieri, S. (2012). Psoriasis: new insight about pathogenesis, role of barrier organ integrity, NLR/CATERPILLER family genes and microbial flora. *J. Dermatol.* 39, 752–760.
- McInturff, J.E., Modlin, R.L., and Kim, J. (2005). The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J. Invest. Dermatol.* 125, 1–8.
- Meek, R.L., and Benditt, E.P. (1986). Amyloid A gene family expression in different mouse tissues. *J. Exp. Med.* 164, 2006–2017.
- Meek, R.L., Urieli-Shoval, S., and Benditt, E.P. (1994). Expression of apolipoprotein serum amyloid A mRNA in human atherosclerotic. *Proc Natl Acad Sci U A* 91, 3186–3190.
- Di Meglio, P., Perera, G.K., and Nestle, F.O. (2011). The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity* 35, 857–869.
- Mempel, M., Voelcker, V., Köllisch, G., Plank, C., Rad, R., Gerhard, M., Schnopp, C., Fraunberger, P., Walli, A.K., Ring, J., et al. (2003). Toll-like receptor expression in human keratinocytes: nuclear factor kappaB controlled gene activation by *Staphylococcus aureus* is toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4 or platelet activating factor receptor dependent. *J. Invest. Dermatol.* 121, 1389–1396.
- Metz, M., Siebenhaar, F., and Maurer, M. (2008). Mast cell functions in the innate skin immune system. *Immunobiology* 213, 251–260.
- Michalak-Stoma, A., Pietrzak, A., Szepietowski, J.C., Zalewska-Janowska, A., Paszkowski, T., and Chodorowska, G. (2011). Cytokine network in psoriasis revisited. *Eur. Cytokine Netw.* 22, 160–168.
- Migeotte, I., Communi, D., and Parmentier, M. (2006). Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 17, 501–519.
- Migita, K., Koga, T., Torigoshi, T., Motokawa, S., Maeda, Y., Jiuchi, Y., Izumi, Y., Miyashita, T., Nakamura, M., Komori, A., et al. (2010). Induction of interleukin-23 p19 by serum amyloid A (SAA) in rheumatoid synoviocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 162, 244–250.
- Modiano, P. (2003). Amylose cutanée. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale de Dermatologie*.
- Momohara, S., Okamoto, H., and Yamanaka, H. (2008). Chondrocyte of rheumatoid arthritis serve as a source of intra-articular acute-phase serum amyloid A protein. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* 398, 155–156.
- Moshkovskii, S.A. (2012). Why do cancer cells produce serum amyloid A acute-phase protein? *Biochem. Biokhimiia* 77, 339–341.
- Mosley, B., De Imus, C., Friend, D., Boiani, N., Thoma, B., Park, L.S., and Cosman, D. (1996). Dual oncostatin M (OSM) receptors. Cloning and characterization of an alternative signaling subunit conferring OSM-specific receptor activation. *J. Biol. Chem.* 271, 32635–32643.

Mukhopadhyay, S., Hoidal, J.R., and Mukherjee, T.K. (2006). Role of TNF α in pulmonary pathophysiology. *Respir. Res.* 7, 125.

Mullan, R.H., Bresnihan, B., Golden-Mason, L., Markham, T., O'Hara, R., FitzGerald, O., Veale, D.J., and Fearon, U. (2006). Acute-phase serum amyloid A stimulation of angiogenesis, leukocyte recruitment, and matrix degradation in rheumatoid arthritis through an NF-kappaB-dependent signal transduction pathway. *Arthritis Rheum.* 54, 105–114.

Mullan, R.H., McCormick, J., Connolly, M., Bresnihan, B., Veale, D.J., and Fearon, U. (2010). A role for the high-density lipoprotein receptor SR-B1 in synovial inflammation via serum amyloid-A. *Am. J. Pathol.* 176, 1999–2008.

Nataf, S. (2009). Les épithéliums de revêtement. Cours PCEM1 Univ. Lyon.

Nestle, F.O., Conrad, C., Tun-Kyi, A., Homey, B., Gombert, M., Boyman, O., Burg, G., Liu, Y.-J., and Gilliet, M. (2005). Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon- α production. *J. Exp. Med.* 202, 135–143.

Nestle, F.O., Di Meglio, P., Qin, J.-Z., and Nickoloff, B.J. (2009a). Skin immune sentinels in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 9, 679–691.

Nestle, F.O., Kaplan, D.H., and Barker, J. (2009b). Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 361, 496–509.

Nicholson, A.C., Febbraio, M., Han, J., Silverstein, R.L., and Hajjar, D.P. (2000). CD36 in atherosclerosis. The role of a class B macrophage scavenger receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 902, 128–131; discussion 131–133.

Niebuhr, M., Baumert, K., and Werfel, T. (2010). TLR-2-mediated cytokine and chemokine secretion in human keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 19, 873–877.

O'Hara, R., Murphy, E.P., Whitehead, A.S., FitzGerald, O., and Bresnihan, B. (2000). Acute-phase serum amyloid A production by rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Res.* 2, 142–144.

O'Hara, R., Murphy, E.P., Whitehead, A.S., FitzGerald, O., and Bresnihan, B. (2004). Local expression of the serum amyloid A and formyl peptide receptor-like 1 genes in synovial tissue is associated with matrix metalloproteinase production in patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 50, 1788–1799.

Ohsawa, M., Okayama, A., Nakamura, M., Onoda, T., Kato, K., Itai, K., Yoshida, Y., Ogawa, A., Kawamura, K., and Hiramori, K. (2005). CRP levels are elevated in smokers but unrelated to the number of cigarettes and are decreased by long-term smoking cessation in male smokers. *Prev. Med.* 41, 651–656.

Okamoto, H., Katagiri, Y., Kiire, A., Momohara, S., and Kamatani, N. (2008). Serum amyloid A activates nuclear factor-kappaB in rheumatoid synovial fibroblasts through binding to receptor of advanced glycation end-products. *J. Rheumatol.* 35, 752–756.

Ortiz, A., and Grando, S.A. (2012). Smoking and the skin. *Int. J. Dermatol.* 51, 250–262.

Pan, H.-F., Li, X.-P., Zheng, S.G., and Ye, D.-Q. (2013). Emerging role of interleukin-22 in autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* 24, 51–57.

- Patel, U., Mark, N.M., Machler, B.C., and Levine, V.J. (2011). Imiquimod 5% cream induced psoriasis: a case report, summary of the literature and mechanism. *Br. J. Dermatol.* **164**, 670–672.
- Petrescu, F., Voican, S.C., and Silosi, I. (2010). Tumor necrosis factor-alpha serum levels in healthy smokers and nonsmokers. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* **5**, 217–222.
- Pivarcsi, A., Bodai, L., Réthi, B., Kenderessy-Szabó, A., Koreck, A., Széll, M., Beer, Z., Bata-Csörgö, Z., Magócsi, M., Rajnavölgyi, E., et al. (2003). Expression and function of Toll-like receptors 2 and 4 in human keratinocytes. *Int. Immunol.* **15**, 721–730.
- Poitou, C., Viguerie, N., Cancellio, R., De Matteis, R., Cinti, S., Stich, V., Coussieu, C., Gauthier, E., Courtine, M., Zucker, J.D., et al. (2005). Serum amyloid A: production by human white adipocyte and regulation by obesity and nutrition. *Diabetologia* **48**, 519–528.
- Rabeony, H., Petit-Paris, I., Garnier, J., Barrault, C., Pedretti, N., Guilloteau, K., Guillet, G., Huguier, V., Lecron, J.C., Bernard, F.X., et al. (2014). Inhibition of keratinocyte differentiation by the synergistic effect of IL-17A, IL-22, IL-1a, TNFa and Oncostatin M. *PLoS One*.
- Reich, K. (2012). The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* **26 Suppl 2**, 3–11.
- Rozires, A., Bensaid, B., and Berard, F. (2013). Système immunitaire cutané.
- Sandri, S., Rodriguez, D., Gomes, E., Monteiro, H.P., Russo, M., and Campa, A. (2008). Is serum amyloid A an endogenous TLR4 agonist? *J. Leukoc. Biol.* **83**, 1174–1180.
- Schlingemann, J., Hess, J., Wrobel, G., Breitenbach, U., Gebhardt, C., Steinlein, P., Kramer, H., Fürstenberger, G., Hahn, M., Angel, P., et al. (2003). Profile of gene expression induced by the tumour promotor TPA in murine epithelial cells. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer* **104**, 699–708.
- Schön, M.P., Schön, M., and Klotz, K.-N. (2006). The small antitumoral immune response modifier imiquimod interacts with adenosine receptor signaling in a TLR7- and TLR8-independent fashion. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 1338–1347.
- Schröder, J.-M. (2004). [Epithelial antimicrobial peptides: local innate defense effector molecules]. *Ann. Dermatol. Vénéréologie* **131**, 411–416.
- Schwarz, T. (2003). Skin immunity. *Br. J. Dermatol.* **149 Suppl 66**, 2–4.
- Seneschal, J., Clark, R.A., Gehad, A., Baecher-Allan, C.M., and Kupper, T.S. (2012). Human epidermal Langerhans cells maintain immune homeostasis in skin by activating skin resident regulatory T cells. *Immunity* **36**, 873–884.
- Shah, C., Hari-Dass, R., and Raynes, J.G. (2006). Serum amyloid A is an innate immune opsonin for Gram-negative bacteria. *Blood* **108**, 1751–1757.
- Shainkin-Kestenbaum, R., Zimlichman, S., Lis, M., Preciado-Patt, L., Fridkin, M., and Berenheim, J. (1996). Modulation of prostaglandin I₂ production from bovine aortic endothelial cells by serum amyloid A and its N-terminal tetradecapeptide. *Biomed. Pept. Proteins Nucleic Acids Struct. Synth. Biol. Act.* **2**, 101–106.

Sjöholm, K., Palming, J., Olofsson, L.E., Gummesson, A., Svensson, P.-A., Lystig, T.C., Jennische, E., Brandberg, J., Torgerson, J.S., Carlsson, B., et al. (2005). A microarray search for genes predominantly expressed in human omental adipocytes: adipose tissue as a major production site of serum amyloid A. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 2233–2239.

Sparvero, L.J., Asafu-Adjei, D., Kang, R., Tang, D., Amin, N., Im, J., Rutledge, R., Lin, B., Amoscato, A.A., Zeh, H.J., et al. (2009). RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. *J. Transl. Med.* 7, 17.

Stankovic, K., Colombat, M., and Grateau, G. (2012). Amylose. In *AKOS Traité de Médecine*,.

Steel, D.M., Rogers, J.T., DeBeer, M.C., DeBeer, F.C., and Whitehead, A.S. (1993). Biosynthesis of human acute-phase serum amyloid A protein (A-SAA) in vitro: the roles of mRNA accumulation, poly(A) tail shortening and translational efficiency. *Biochem. J.* 291 (Pt 3), 701–707.

Steel, D.M., Donoghue, F.C., O'Neill, R.M., Uhlar, C.M., and Whitehead, A.S. (1996). Expression and regulation of constitutive and acute phase serum amyloid A mRNAs in hepatic and non-hepatic cell lines. *Scand J Immunol* 44, 493–500.

Sticozzi, C., Belmonte, G., Pecorelli, A., Arezzini, B., Gardi, C., Maioli, E., Miracco, C., Toscano, M., Forman, H.J., and Valacchi, G. (2012). Cigarette smoke affects keratinocytes SRB1 expression and localization via H₂O₂ production and HNE protein adducts formation. *PLoS One* 7, e33592.

Su, S.B., Gong, W., Gao, J.L., Shen, W., Murphy, P.M., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (1999a). A seven-transmembrane, G protein-coupled receptor, FPRL1, mediates the chemotactic activity of serum amyloid A for human phagocytic cells. *J. Exp. Med.* 189, 395–402.

Su, S.B., Gong, W., Gao, J.L., Shen, W., Murphy, P.M., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (1999b). A seven-transmembrane, G protein-coupled receptor, FPRL1, mediates the chemotactic activity of serum amyloid A for human phagocytic cells. *J. Exp. Med.* 189, 395–402.

Suárez-Fariñas, M., Fuentes-Duculan, J., Lowes, M.A., and Krueger, J.G. (2011). Resolved psoriasis lesions retain expression of a subset of disease-related genes. *J. Invest. Dermatol.* 131, 391–400.

Sutton, C.E., Mielke, L.A., and Mills, K.H.G. (2012). IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and innate lymphoid cells. *Eur. J. Immunol.* 42, 2221–2231.

Trembath, R.C., Clough, R.L., Rosbotham, J.L., Jones, A.B., Camp, R.D., Frodsham, A., Browne, J., Barber, R., Terwilliger, J., Lathrop, G.M., et al. (1997). Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum. Mol. Genet.* 6, 813–820.

Uhlar, C.M., and Whitehead, A.S. (1999). Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 265, 501–523.

Urieli-Shoval, S., Cohen, P., Eisenberg, S., and Matzner, Y. (1998). Widespread expression of serum amyloid A in histologically normal human tissues. *J Histochem Cytochem* 46, 1377–1384.

Urieli-Shoval, S., Shubinsky, G., Linke, R.P., Fridkin, M., Tabi, I., and Matzner, Y. (2002). Adhesion of human platelets to serum amyloid A. *Blood* 99, 1224–1229.

- Valacchi, G., Sticozzi, C., Lim, Y., and Pecorelli, A. (2011). Scavenger receptor class B type I: a multifunctional receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1229, E1–7.
- Vreugdenhil, A.C., Dentener, M.A., Snoek, A.M., Greve, J.W., and Buurman, W.A. (1999). Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 163, 2792–2798.
- Waton, J., Fays-Michel, S., Chandeclerc, M.L., Corby, S., Cuny, J.F., Barbaud, A., and Schmutz, J.L. (2008). [AA amyloidosis: a little-known complication of chronic leg ulcer]. *Ann Dermatol Venereol* 135, 119–122.
- Wiesner, J., and Vilcinskas, A. (2010). Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system. *Virulence* 1, 440–464.
- Wilson, N.J., Boniface, K., Chan, J.R., McKenzie, B.S., Blumenschein, W.M., Mattson, J.D., Basham, B., Smith, K., Chen, T., Morel, F., et al. (2007). Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat. Immunol.* 8, 950–957.
- Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A., et al. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 112, 1821–1830.
- Xu, L., Badolato, R., Murphy, W.J., Longo, D.L., Anver, M., Hale, S., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (1995). A novel biologic function of serum amyloid A. Induction of T lymphocyte migration and adhesion. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 155, 1184–1190.
- Yamada, T., Wada, A., Itoh, K., and Igari, J. (2000). Serum amyloid A secretion from monocytic leukaemia cell line THP-1 and cultured. *Scand J Immunol* 52, 7–12.
- Yan, S.D., Zhu, H., Zhu, A., Golabek, A., Du, H., Roher, A., Yu, J., Soto, C., Schmidt, A.M., Stern, D., et al. (2000). Receptor-dependent cell stress and amyloid accumulation in systemic amyloidosis. *Nat. Med.* 6, 643–651.
- Yang, R.-Z., Lee, M.-J., Hu, H., Pollin, T.I., Ryan, A.S., Nicklas, B.J., Snitker, S., Horenstein, R.B., Hull, K., Goldberg, N.H., et al. (2006). Acute-phase serum amyloid A: an inflammatory adipokine and potential link between obesity and its metabolic complications. *PLoS Med.* 3, e287.
- Yu, L.-Z., Wang, H.-Y., Yang, S.-P., Yuan, Z.-P., Xu, F.-Y., Sun, C., and Shi, R.-H. (2013). Expression of interleukin-22/STAT3 signaling pathway in ulcerative colitis and related carcinogenesis. *World J. Gastroenterol. WJG* 19, 2638–2649.
- Zhang, J., Xu, X., Rao, N.V., Argyle, B., McCoard, L., Rusho, W.J., Kennedy, T.P., Prestwich, G.D., and Krueger, G. (2011). Novel sulfated polysaccharides disrupt cathelicidins, inhibit RAGE and reduce cutaneous inflammation in a mouse model of rosacea. *PloS One* 6, e16658.
- Zhu, P., Ren, M., Yang, C., Hu, Y.-X., Ran, J.-M., and Yan, L. (2012). Involvement of RAGE, MAPK and NF-κB pathways in AGEs-induced MMP-9 activation in HaCaT keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 21, 123–129.

RESUME

Introduction : La protéine Acute-Serum Amyloid A (A-SAA) est une protéine de l'inflammation dont le taux sérique peut être augmenté jusqu'à 1 g/L lors d'inflammation aigue. Principalement synthétisée par le foie, les protéines et les transcrits sont présents au sein de tissus épithéliaux extra-hépatiques dont l'épiderme. Son expression est régulée par les facteurs de transcription NF- κ B, C/EBP β , STAT3 activés par des cytokines proinflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF α . L'augmentation du taux sérique de A-SAA lors de maladies inflammatoires chroniques peut mener à l'apparition d'une amylose secondaire par le dépôt de substance amyloïde dont la protéine A-SAA est le principal constituant. Si l'expression cutanée de A-SAA chez les patients psoriasiques n'a pas été décrite, une étude a montré une augmentation significative de son taux sérique et quelques cas d'amylose AA secondaire à un psoriasis ont été rapportés dans la littérature.

Objectif : Etudier la synthèse kératinocytaire de A-SAA *in vitro*. Analyser l'expression de A-SAA dans les peaux et les sérums de patients atteints de psoriasis ainsi que dans les peaux d'un modèle murin de psoriasis.

Matériel et méthodes : Les kératinocytes issus de peaux saines ont été cultivés et stimulés par différentes combinaisons de 5 cytokines (M5 : IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF- α ; 10 ng/ml) choisies pour leurs effets proinflammatoires intenses, reproduisant certaines caractéristiques du psoriasis. Les échantillons de peaux et de sérums issus respectivement de 33 et 17 patients psoriasiques étaient comparés respectivement à 28 et 11 sujets sains contrôles. Enfin, les peaux issues d'un modèle murin de psoriasis induit par l'application cutanée d'Imiquimod 5% en crème étaient comparées avec celles de souris contrôles non traitées. L'expression des transcrits codant pour la A-SAA dans les lysats cellulaires, les peaux de patients et de souris était étudiée par RT qPCR. La protéine A-SAA était dosée dans les surnageants de culture par ELISA et dans les sérums par immunonéphélométrie.

Résultats : L'expression de A-SAA était significativement augmentée par rapport aux contrôles dans les lysats cellulaires (transcrits 88 fois plus exprimés) et les surnageants (taux protéique 12 fois plus élevé) de kératinocytes stimulés par le mélange M5 (IL-17A, IL-1 α et TNF α étaient principalement impliqués), dans les peaux lésées (transcrits 9 fois plus exprimés) et les sérums (taux protéique 26 fois plus élevé) de patients psoriasiques, dans les peaux lésées de souris traitées par Imiquimod (transcrits 3265 fois plus exprimés).

Conclusion : L'augmentation de l'expression cutanée et sérique de A-SAA chez les patients psoriasiques impliquerait une synthèse kératinocytaire stimulée par des cytokines Th17 et pourrait participer à la physiopathologie de la maladie. L'hypothèse pourrait être confirmée par l'étude de l'inflammation cutanée psoriasique induite chez des souris A-SAA KO.

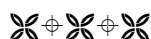
Mots clés : Serum amyloid A, psoriasis, kératinocytes, cytokines, amylose secondaire.

SERMENT



UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de
Pharmacie



En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie 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 !

RESUME

Introduction : La protéine Acute-Serum Amyloid A (A-SAA) est une protéine de l'inflammation dont le taux sérique peut être augmenté jusqu'à 1 g/L lors d'inflammation aigue. Principalement synthétisée par le foie, les protéines et les transcrits sont présents au sein de tissus épithéliaux extra-hépatiques dont l'épiderme. Son expression est régulée par les facteurs de transcription NF- κ B, C/EBP β , STAT3 activés par des cytokines proinflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF α . L'augmentation du taux sérique de A-SAA lors de maladies inflammatoires chroniques peut mener à l'apparition d'une amylose secondaire par le dépôt de substance amyloïde dont la protéine A-SAA est le principal constituant. Si l'expression cutanée de A-SAA chez les patients psoriasiques n'a pas été décrite, une étude a montré une augmentation significative de son taux sérique et quelques cas d'amylose AA secondaire à un psoriasis ont été rapportés dans la littérature.

Objectif : Etudier la synthèse kératinocytaire de A-SAA *in vitro*. Analyser l'expression de A-SAA dans les peaux et les sérums de patients atteints de psoriasis ainsi que dans les peaux d'un modèle murin de psoriasis.

Matériel et méthodes : Les kératinocytes issus de peaux saines ont été cultivés et stimulés par différentes combinaisons de 5 cytokines (M5 : IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM, TNF- α ; 10 ng/ml) choisies pour leurs effets proinflammatoires intenses, reproduisant certaines caractéristiques du psoriasis. Les échantillons de peaux et de sérums issus respectivement de 33 et 17 patients psoriasiques étaient comparés respectivement à 28 et 11 sujets sains contrôles. Enfin, les peaux issues d'un modèle murin de psoriasis induit par l'application cutanée d'Imiquimod 5% en crème étaient comparées avec celles de souris contrôles non traitées. L'expression des transcrits codant pour la A-SAA dans les lysats cellulaires, les peaux de patients et de souris était étudiée par RT qPCR. La protéine A-SAA était dosée dans les surnageants de culture par ELISA et dans les sérums par immunonéphélométrie.

Résultats : L'expression de A-SAA était significativement augmentée par rapport aux contrôles dans les lysats cellulaires (transcrits 88 fois plus exprimés) et les surnageants (taux protéique 12 fois plus élevé) de kératinocytes stimulés par le mélange M5 (IL-17A, IL-1 α et TNF α étaient principalement impliqués), dans les peaux lésées (transcrits 9 fois plus exprimés) et les sérums (taux protéique 26 fois plus élevé) de patients psoriasiques, dans les peaux lésées de souris traitées par Imiquimod (transcrits 3265 fois plus exprimés).

Conclusion : L'augmentation de l'expression cutanée et sérique de A-SAA chez les patients psoriasiques impliquerait une synthèse kératinocytaire stimulée par des cytokines Th17 et pourrait participer à la physiopathologie de la maladie. L'hypothèse pourrait être confirmée par l'étude de l'inflammation cutanée psoriasique induite chez des souris A-SAA KO.

Mots clés : Serum amyloid A, , psoriasis, kératinocytes, cytokines, amylose secondaire.