

Le rôle régulateur des microARN des éosinophiles dans les maladies de la marche atopique

Mémoire

Émile Bélanger

**Maîtrise en sciences cliniques et biomédicales de l'Université Laval offerte en
extension à l'Université du Québec à Chicoutimi**
Maîtrise ès. Sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© Émile Bélanger, 2021

Le rôle régulateur des microARN des éosinophiles dans les maladies de la marche atopique

Mémoire

Émile Bélanger

Sous la direction de :

Catherine Laprise, directrice de recherche

Résumé

La dermite atopique, une maladie inflammatoire de la peau, est connue pour son implication dans la sensibilisation aux allergènes via la barrière cutanée endommagée. Cette sensibilisation est associée au développement de certaines maladies allergiques, dont la rhinite allergique et l'asthme allergique. La cascade inflammatoire caractéristique de ces maladies inclut le recrutement de cellules pro-inflammatoires dont les éosinophiles qui sont alors augmentés et activés dans le sang. Jusqu'ici, très peu d'études ont analysé le transcriptome de ce type cellulaire et encore moins d'études se sont concentrées sur le profil différentiel des microARN (miARN) qui pourrait réguler la transcription et donc avoir un impact sur le niveau de certaines protéines et subséquemment sur la pathogénèse et la symptomatologie des maladies allergiques. Le but de cette étude était de mesurer les niveaux différentiels de miARN primaires (pri-miARN) dans les éosinophiles isolés de prélèvements sanguins d'individus atteints de maladies allergiques (dermite atopique, d'atopie, de rhinite allergique et d'asthme) et d'individus témoins (sans maladies allergiques). Les comptes différentiels ont également été évalués pour une série d'autres phénotypes liés aux maladies allergiques incluant des données de la fonction respiratoire et des données immunologiques. Dix-huit pri-miARN ont été identifiés comme différemment exprimés dans les éosinophiles d'individus atteints comparativement aux témoins. Ces 18 pri-miARN ont ensuite été groupés à l'aide de l'algorithme de Ward afin de les associer à un phénotype. Les groupes constitués ont été expliqués par le diagnostic d'asthme, l'historique familial de maladies respiratoires, l'historique familial de rhinite allergique et le compte cellulaire des neutrophiles sanguins. Cette étude a donc permis d'identifier 18 pri-miARN primaires associés aux maladies allergiques ce qui contribue à documenter une part des mécanismes épigénétiques qui sous-tendent ces maladies.

Abstract

The atopic dermatitis, an inflammatory disease affecting skin, is known to play an important role in allergen sensitization via the damaged skin barrier. This sensitization can lead to allergic diseases such as allergic rhinitis and allergic asthma. The inflammatory reactions leading to these diseases recruit a number of pro-inflammatory cells, including eosinophils, a cell type known for contributing to the damaging of epithelial cells. Few studies have focused on the impacts of the transcriptome on this cell type, and even fewer on the differential microRNA (miRNA) profiles that could regulate clinical manifestations and pathogenesis of diseases of the atopic march. Actually, the effect of miRNAs on these diseases is not entirely understood, but they could influence inflammatory patterns in these diseases and the proliferation of epithelial cells, thereby regulating these diseases in a post-transcriptional matter. The aim of this study was to find differential counts for primary miRNAs (pri-miRNAs) in eosinophil cells sampled isolated from blood of individuals affected with allergic diseases in order to better understand epigenetic mechanisms of these diseases. In order to do so, RNAs from individuals affected with atopic dermatitis, allergic rhinitis and asthma, as well as from non-affected individuals, were sequenced to evaluate differential pri-miRNA counts. These counts were also evaluated for respiratory function measures and immunology. 18 miRNAs from eosinophils were identified as differentially expresses between afflicted individuals and controls. These 18 miRNAs were then clustered using Ward's algorithm in order to find a phenotypic explanation to these miRNAs. Clusters were found to be explained by asthma diagnostic, familial history of respiratory diseases, familial history of allergic rhinitis and neutrophil cell count. These 18 miRNAs therefore allow to better understand epigenetic mechanisms underlying allergic diseases.

Table des matières

Résumé	ii
Abstract	iii
Table des matières	iv
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des abréviations.....	viii
Remerciements	xi
Avant-propos	xii
Introduction.....	1
Chapitre 1 La marche atopique	3
1.1 Le concept de marche atopique.....	3
1.2 Les maladies de la marche atopique	5
1.2.1 La dermatite atopique	5
1.2.2 La rhinite allergique	6
1.2.3 L'asthme allergique	7
1.3 Facteurs environnementaux influençant le développement des maladies de la marche atopique	14
1.4 Génétique des maladies de la marche atopique.....	17
Chapitre 2 Mécanismes et études épigénétiques	23
2.1 Le champ d'études épigénétiques	23
2.2 La méthylation d'ADN	24
2.3 Régulation des chromatines par modification aux histones.....	24
2.4 Inactivation du chromosome X.....	26
2.5 Les ARN non-messagers	26
Chapitre 3 Épigénétique des maladies allergiques	32
3.1 Épigénétique de la dermatite atopique	32
3.2 Épigénétique de la rhinite allergique.....	34
3.3 Épigénétique de l'asthme.....	36
Chapitre 4 Les cellules impliquées dans les processus inflammatoires des maladies allergiques	42
4.1 Cellules circulantes	43
4.1.1 Lymphocytes T _H 2.....	43
4.1.2 Cellules lymphoïdes innées du groupe 2.....	43
4.1.3 Lymphocytes T _H 9.....	44

4.1.4 Lymphocytes cytotoxiques naturels.....	44
4.1.5 Éosinophiles	44
4.4 Cellules résidentes.....	47
4.2.1 Mastocytes	47
4.2.2 Cellules dendritiques	47
4.2.3 Cellules épithéliales	47
Chapitre 5 Le rôle régulateur des microARN des éosinophiles dans les maladies incluses dans la marche atopique.....	49
5.1 Avant-propos.....	49
5.2 Résumé.....	50
5.3 Abstract.....	50
5.4 Introduction	51
5.5 Results	53
5.5.1 Differential counts of pri-miRNA associated with allergic diseases included in the atopic march....	54
5.5.2 Clustering of significant miRNAs	56
5.5.3 Identification of possible gene targets	58
5.6 Discussion.....	60
5.7 Materials and methods.....	63
5.7.1 SLSJ asthma cohort	63
5.7.2 Isolation of RNA from eosinophils and sequencing	64
5.7.2 Statistical methods	64
Discussion	66
Conclusion.....	68
Bibliographie.....	70
Annexe A Matériel supplémentaire	97

Liste des figures

Figure 1 : Facteurs de risques et endotypes associés aux multimorbidités atopiques	3
Figure 2 : Bronches saines et inflammées dans l'asthme	8
Figure 3 : Mécanismes de sensibilisation des poumons dans l'asthme	16
Figure 4 : Principaux mécanismes épigénétiques	23
Figure 5 : Voies de méthylation d'ADN	24
Figure 6 : Effet des ARNnm sur les mécanismes épigénétiques	27
Figure 7 : Biogénèse des miARN et régulation des ARNm	29
Figure 8 : Biogénèse des pARNi et régulation des ARNm	30
Figure 9 : Différence entre les complexes RISC des miARN, pARNi et ARNpi	31
Figure 10 : Cellules impliquées dans l'asthme et les maladies allergiques	43
Figure 11 : Étapes du recrutement des éosinophiles lors de la confrontation à un allergène	45
Figure 12 : Implications pro-inflammatoires des éosinophiles dans l'asthme	46
Figure 13 : Number of individuals presenting overlapping conditions of the atopic march	54
Figure 14 : Significant pri-miRNA expression counts by phenotypes	56
Figure 15 : Clustering of individuals according to significant pri-miRNAs counts	57
Figure 16 : Phenotypic differences underlying clustering of individuals	58
Figure 17 : PANTHER pathway families for gene targets identified in negative and positive correlations with associated miRNAs	59

Liste des tableaux

Tableau 1 : Médicaments utilisés pour le traitement de l'asthme.....	10
Tableau 2 : Effet d'agents d'exposition de fermes sur des modèles murins d'allergie.....	15
Tableau 3 : Régions et gènes associés dans l'asthme et les maladies allergiques.....	19
Tableau 4 : Différentes classes de modifications identifiées sur les histones.....	25
Tableau 5 : ARNm impliqués dans la fonction cellulaire et l'expression des gènes	27
Tableau 6 : miARN potentiellement impliqués dans la dermatite atopique.....	33
Tableau 7 : miARN potentiellement impliqués dans la rhinite allergique	35
Tableau 8 : Études de méthylation dans l'asthme chez l'enfant et les phénotypes associés	36
Tableau 9 : miARN différemment régulés dans plusieurs maladies allergiques	39
Tableau 10 : miARN et leur effet dans l'asthme	40
Table 11 : Phenotypic characteristics of the individuals included in the eosinophil analysis of the miRNAs.....	53
Table 12 : Significant associations (FDR < 0.05) between pri-miRNAs expression counts and diseases included in the atopic march process or related phenotypes.....	55
Table 13 : miRNAs' gene targets previously associated in GWAS as listed by the GWAS Catalogue or in the SLSJ cohort and classified by PANTHER pathways	60
Table 14 : List of phenotypes tested to look at phenotypic differences between clusters and results of analyses	97
Table 15 : Top 25 miRNA-gene target pairs for negative and positive correlations.....	98
Table 16 : PANTHER pathways included in each general category and number of gene targets.....	100
Table 17 : Number of possible gene targets identified for each associated miRNA	106
Table 18 : Calculated proportion of eosinophils, granulocytes and neutrophils in eosinophil samples	107

Liste des abréviations

AGO : argonaute

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ARNnm : ARN non-messenger

BMI : *body mass index*

CL12 : cellules lymphoïdes innées du groupe 2

CVF : capacité vitale forcée

cysLT : cystéinyl-leucotriènes

Dnmt : ADN méthyltransferase

DRO : Dérivés réactifs de l'oxygène

FEV1 : *forced expiratory volume in 1 second*

FVC : *forced vital capacity*

GWAS : *genome wide association study* (étude d'association pangénomique)

HLA : antigènes des leucocytes humains

IgE : immunoglobuline E

IL : interleukine

ILC2 : cellules lymphoïdes innées de type 2

mRNA : *messenger RNA*

miARN : micro-ARN

miRNA : *microRNA*

NK : *natural killer cells* (lymphocytes cytotoxiques naturels)

OVA : ovalbumine

PC₂₀ : *provocative concentration of methacholine that results in a 20% drop of FEV₁*

Pol II : ARN polymerase II

pri-miARN : miARN primaire

pri-miRNA : *primary miRNA*

RISC : *RNA-induced silencing complex*

RNase : ribonucléase

SAM : S-Adénosylméthionine

SNP : *single nucleotide polymorphism* (polymorphisme nucléotidique)

TSLP : lymphopoïétine stromale thymique

UTR : *untranslated region*

VEMS : volume expiratoire maximum en une seconde

*« Déclarer le passé, diagnostiquer le présent,
prédire l'avenir. »*
-Hippocrate

Remerciements

Ces deux années de maîtrise ont été pour moi une occasion de diverger complètement de mes champs de connaissance pour me consacrer à la recherche en sciences biomédicales. Je n'aurais pu réaliser un tel changement sans l'aide de certaines personnes qui, par leur temps, ont fait de ce projet une réalité. D'abord, un remerciement spécial à Catherine Laprise, ma superviseuse de recherche qui, en plus de me fournir un sujet de recherche qui piquerait ma curiosité en génétique et en étude des maladies respiratoires pour le reste de mes jours, m'a enseigné tout ce que je devais savoir pour entamer ce projet, des rudiments de la biologie cellulaire jusqu'au fonctionnement des maladies à composantes génétiques. Sa rigueur scientifique et son énergie contagieuse m'ont poussé à me dépasser tout au long de ce projet.

Je tiens aussi à remercier Anne-Marie Madore, la précieuse professionnelle de recherche du laboratoire. Ses connaissances en bio-informatique, en statistique et plus particulièrement en rédaction de textes scientifiques, m'ont permis de réaliser les analyses et la rédaction de mon article scientifique, mais aussi à l'occasion de me rassurer quand les analyses ne se dirigeaient pas où je l'espérais. Également, merci à notre technicienne de laboratoire, Anne-Marie Boucher-Lafleur, qui m'a appris à réaliser certaines tâches en laboratoire. Je remercie aussi toute l'équipe du laboratoire, Pierre-Alexandre Gagnon, pour son aide en biologie et Mbarka Bchetnia, pour les cours enseignés. Enfin, merci à Simon Girard pour l'espace de bureau malgré que je ne sois pas étudiant de son laboratoire et Joanie Bouchard, ma voisine de bureau, qui est toujours demeurée à l'écoute et a su me fournir des réponses à mes occasionnelles questions en biologie.

Finalement, ces remerciements ne sauraient être complets sans remercier ma famille et mes amis, qui m'ont épaulé tout au long de ce projet et ont su être à l'écoute, même lors de mes envolées techniques.

Avant-propos

Ce mémoire de maîtrise décrit les recherches auxquelles j'ai contribué au cours des deux dernières années, traitant de l'épigénétique, et plus précisément des profils de microARN (miARN), dans les maladies de la marche atopique, incluant la dermatite atopique, la rhinite allergique ainsi que l'asthme allergique. Il est divisé en cinq chapitres, dont les quatre premiers présentent une revue de littérature sur ces maladies et leur épigénétique. En fait, le chapitre 1 décrit le concept de marche atopique ainsi que les maladies qui y sont incluses, de même que les facteurs de risque de celles-ci. Le second chapitre traite des mécanismes épigénétiques et de la biologie de ceux-ci. Le troisième chapitre, quant à lui, présente un résumé des études épigénétiques réalisées dans les maladies de la marche atopique, avec une attention particulière pour les études de miARN dans ces maladies. Enfin, le quatrième chapitre traite des cellules impliquées dans les processus inflammatoires des maladies allergiques. Le quatrième chapitre, quant à lui, est un article scientifique présentant les résultats de recherche d'une étude des microARN dans les éosinophiles isolés du sang d'individus atteints de maladies de la marche atopique et de témoins sans maladies allergiques de la cohorte familiale du Saguenay–Lac-Saint-Jean (SLSJ). Cet article, intitulé : Le rôle régulateur des microARN des éosinophiles dans les maladies incluses dans la marche atopique (*Eosinophil microRNAs play a regulatory role in allergic diseases included in the atopic march*), rapporte les miARN différemment régulés dans les éosinophiles d'individus atteints et non-atteints de ces maladies. Il a été publié dans le *International Journal of Molecular Science* en novembre 2020. Une conclusion de ces recherches y est ensuite présentée. Enfin, l'annexe 1 présente le matériel supplémentaire de l'article présenté au chapitre 4, soit un ensemble de tableaux liés à celui-ci.

Introduction

Les dernières décennies ont marqué un tournant au niveau de l'industrialisation. Les villes ont progressivement gagné en taille, le transport individuel s'est accentué et la majorité de la population mondiale demeure désormais en ville plutôt qu'en milieu rural. Cette urbanisation, de pair avec le vieillissement généralisé de la population, a accentué la prévalence de certaines maladies. Plus précisément, la pollution de l'air, la pollution lumineuse et sonore, l'exposition altérée aux microbes, l'exposition réduite à la lumière du jour et les flots migratoires des populations auraient un impact sur des maladies telles que l'asthme, les allergies, les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies psychiatriques et les maladies infectieuses (Flies *et al.* 2019). Par ailleurs, certaines de ces maladies étaient déjà connues pour leur forte composant génétique dans l'étiologie de la maladie, c'est le cas par exemple de la dermatite atopique, dont l'héritabilité est estimée à plus de 80% (Thomsen *et al.* 2007), de l'asthme, dont l'héritabilité est estimée entre 55 et 90% (Hernandez-Pacheco *et al.* 2019) et de la rhinite allergique dont l'héritabilité est estimée entre 50 et 84% (Bazaraal *et al.* 1974; Clarke *et al.* 2000; Andiappan *et al.* 2011). Toutefois, l'augmentation généralisée de la prévalence de ces maladies, en particulier dans les pays en voie de développement, tend à démontrer l'importance de la composante environnementale dans le développement et la manifestation de ces maladies (Williams *et al.* 2008; Backman *et al.* 2017; Cingi *et al.* 2019). Plus précisément, les déterminants génétiques ne peuvent expliquer à eux seuls l'augmentation observée de la prévalence des maladies allergiques. C'est ainsi que les chercheurs évaluent maintenant les interactions entre les gènes et l'environnement afin de trouver une explication à ces augmentations (North et Ellis 2011).

Le champ de l'épigénétique se consacre donc à l'étude de l'implication des facteurs environnementaux sur le génome humain ou, plus précisément, de quelle manière les modifications de l'environnement sur l'ADN, sans en modifier la séquence, peuvent être acquises et transmises d'une génération à l'autre (Henikoff et Greally 2016). Les mécanismes épigénétiques permettant d'arriver à de telles fins sont variés. Ils incluent la méthylation de l'ADN, la modification des histones et les ARN non codants. Dans tous les cas, ces mécanismes n'affectent pas la séquence de l'ADN, mais ils ont une influence sur l'expression des gènes (Potaczek *et al.* 2017).

La dermatite atopique, une maladie inflammatoire de la peau, peut provoquer une sensibilisation précoce aux allergènes via la barrière cutanée endommagée pouvant mener au développement de la rhinite allergique ainsi qu'à l'asthme allergique. Cette progression des maladies allergiques se nomme marche atopique (Paller *et al.* 2019). Récemment, certaines études ont évalué l'influence des facteurs épigénétiques sur les maladies de la marche atopique, identifiant des patrons de méthylation, des modifications aux histones et des micro-ARN (miARN) pouvant permettre d'estimer le risque de développer ces maladies, servir de biomarqueurs ou même de cibles thérapeutiques potentielles (DeVries et Vercelli 2016; Potaczek *et al.* 2017; Yang *et al.* 2017a; Gomez 2019). Les miARN, de petits ARN non codants, permettent la répression d'un gène d'une manière post-

transcriptionnelle en ciblant la région 3' UTR d'un ARN messager (ARNm), bloquant ainsi la traduction de l'ARNm et favorisant la déadénylation tout en réprimant l'expression du gène cible (Alipoor *et al.* 2016). Ces études ayant été réalisées sur des échantillons de sang complet présentent la limite de l'hétérogénéité cellulaire. En effet, les différences dans les comptes de microARN observées pourraient être causées par la variation des proportions des différentes cellules dans l'échantillon et non par une association au trait étudié. Afin de pallier ces limitations, certaines études ont ajusté leurs analyses au pourcentage des différents types cellulaires (Rutledge *et al.* 2015; Kivihall *et al.* 2019; Wardzyńska *et al.* 2020; Weidner *et al.* 2020a). L'utilisation de cellules isolées, spécifiques aux maladies étudiées, ici les maladies allergiques, demeure la meilleure façon de répondre à cette faiblesse des études jusqu'ici réalisées.

Les objectifs de la présente étude étaient donc :

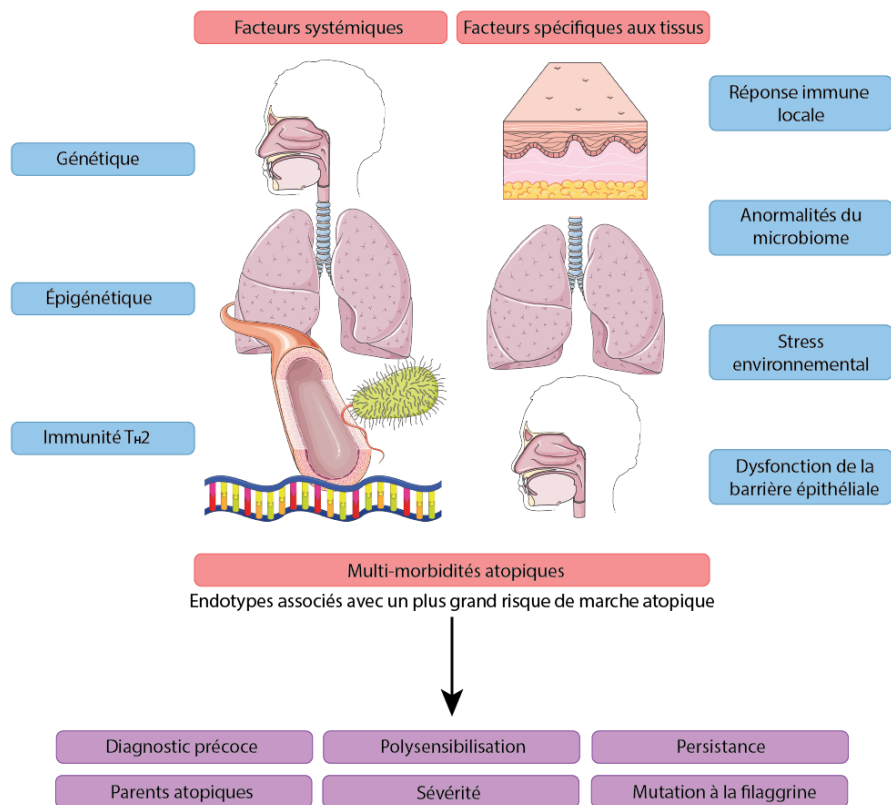
- i) Identifier les miARN primaires différemment exprimés entre des patients atteints de maladies de la marche atopique et des témoins sans maladies allergiques à partir d'éosinophiles isolés d'échantillons sanguins ;
- ii) Identifier les liens potentiels entre les miARN primaires différemment exprimés et les maladies de la marche atopique.

Chapitre 1 La marche atopique

1.1 Le concept de marche atopique

La marche atopique se définit par le risque accru de présenter de la rhinite allergique ou de l'asthme, suite au développement de la dermatite atopique. En fait, la dermatite atopique, une maladie inflammatoire de la peau, favoriserait l'entrée précoce des allergènes par la barrière cutanée endommagée, favorisant ainsi le développement de rhinite allergique et d'asthme allergique. Plus précisément, la prévalence d'asthme allergique chez les enfants atteints de dermatite atopique se chiffre à 50% alors que la prévalence de rhinite allergique se chiffre à 75% (Carlsten *et al.* 2013).

Les facteurs influençant le développement de ces comorbidités suite à l'apparition de dermatite atopique sont variés. En outre, certains endotypes de dermatite atopique sont plus associés au développement d'asthme allergique et de rhinite allergique, notamment le diagnostic précoce de dermatite atopique, la sensibilisation aux allergènes, de même que la présence d'atopie chez les parents (Figure 1) (Paller *et al.* 2019).



Illustrations gracieuseté de Servier Medical Art

Figure 1 : Facteurs de risques et endotypes associés aux multimorbidités atopiques (traduite de Paller *et al.* 2019)

Plus précisément, l'utilisation de l'expression « marche atopique » décrit la progression du développement des maladies allergiques. Généralement, la dermite atopique forme la première manifestation de cette marche, suivi d'allergie alimentaire, de rhinite allergique, puis d'asthme allergique. En fait, la prévalence la plus élevée de dermite atopique se situerait dans les deux premières années de la vie, et plus spécifiquement dans les six premiers mois pour la majorité des cas (Kay *et al.* 1994; Eller *et al.* 2010). D'une manière similaire, l'allergie alimentaire se développerait en jeune âge chez les enfants : l'allergie aux œufs et au lait se déclarerait dans la première année de vie alors que l'allergie à l'avoine, au soya et aux arachides se déclarerait un peu plus tard dans l'enfance (Kulig *et al.* 1999). La rhinite allergique, quant à elle, serait développée dans l'enfance et l'adolescence (Keil *et al.* 2010). Enfin, l'asthme, bien que possédant une grande hétérogénéité dans ses manifestations et dans l'âge de sa déclaration, apparaît généralement avant cinq ans (Yunginger *et al.* 1992; Phelan *et al.* 2002; Morgan *et al.* 2005).

Il est toutefois à noter que la seule présence de dermite atopique n'est pas seule à influencer le développement d'allergie alimentaire, de rhinite allergique et d'asthme allergique; sa sévérité et sa chronicité influencent aussi le développement de ces maladies. Par exemple, seulement 20% des enfants avec de la dermite atopique modérée développeraient de l'asthme alors que 60% des enfants avec de la dermite atopique sévère en développeraient (International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee 1998; Gustafsson *et al.* 2000).

Les maladies allergiques, bien que non transmissibles, ont montré la plus forte augmentation en prévalence dans les dernières années. En fait, on parle désormais d'épidémie d'allergies (Platts-Mills 2015). Cette prévalence accrue des maladies allergiques entraîne une augmentation de leur fardeau financier mondial, dépassant même le VIH et la tuberculose réunis (Vercelli 2016). Les coûts directs et indirects de ces maladies au Canada totaliseraient plus de 9,3 milliards de dollars par année (Allen *et al.* 2015). Le fardeau hospitalier de telles maladies est lui aussi important; la prévalence des allergies et des hospitalisations pour des réactions allergiques graves aurait triplé au Canada (Mullins *et al.* 2015). Dans les dernières années, la compréhension des causes des maladies allergiques s'est largement améliorée. La dermite atopique a longtemps été considérée comme un épiphénomène d'allergies, mais aujourd'hui, elle est considérée comme l'un des déterminants de leur développement.

1.2 Les maladies de la marche atopique

1.2.1 La dermatite atopique

La dermatite atopique, aussi connue sous le nom d'eczéma, est une maladie inflammatoire chronique de la peau caractérisée par des rougeurs, de la sécheresse, des fissures et des démangeaisons. Dans certains cas, une croûte peut même se former, et les plaies peuvent suinter un liquide clair. Le diagnostic de dermatite atopique est généralement fait vers l'âge de deux ans, et seulement 10% des diagnostics se feraient passé l'âge de cinq ans (Berke *et al.* 2012). Les critères de diagnostic fixés par la *United Kingdom Working Party* incluent obligatoirement la présence d'une dermatose prurigineuse (maladie dermatologique causant des démangeaisons) avec minimalement trois des critères suivant : antécédents d'asthme ou de rhinite allergique, antécédents de xérose (peau sèche généralisée) dans la première année de la vie, antécédents d'eczéma dans les plis de flexion ou sur les joues, présence d'eczéma dans les grands plis ou sur les joues, ou encore l'apparition des signes avant l'âge de deux ans (Williams *et al.* 1994b). Ce critère de diagnostic atteint plus de 95% de spécificité (Williams *et al.* 1994a; Gu *et al.* 2001) et demeurerait, encore aujourd'hui, le plus validé et le plus utilisé (Brenninkmeijer *et al.* 2008). Les complications de cette maladie incluent le développement d'infections bactériennes secondaires dans les lésions, particulièrement des infections au staphylocoque ou au streptocoque.

Le traitement de la maladie inclut l'application de crèmes hydratantes, l'application de corticostéroïdes topiques, l'application d'inhibiteurs de calcineurine topique, l'utilisation d'antibiotiques (lors des infections secondaires) ainsi que le recours à la photothérapie UV et aux thérapies immunomodulatrices (dans les formes réfractaires aux médicaments). Dans plusieurs cas, des patients atteints de dermatite atopique ont signalé que le traitement de leur xérose reflétait aussi le contrôle de leur dermatite atopique (Hanifin *et al.* 2004; National Collaborating Centre for Women's and Children's Health 2007). Un essai clinique randomisé chez des enfants atteints de la forme modérée à sévère de dermatite atopique a démontré que l'utilisation régulière crèmes hydratantes, même lorsque les symptômes ne sont pas apparents, permet de réduire l'utilisation de corticostéroïdes topiques et d'améliorer les symptômes (Grimalt *et al.* 2007). En fait, la barrière cutanée endommagée serait associée à une activation de la réponse immune aux allergènes environnementaux, menant à une sensibilisation précoce à ces allergènes (Schleimer et Berdnikovs 2017). Cette réponse immune mène elle-même à une plus grande dysfonction de la barrière cutanée, entraînant un cycle d'inflammation et de lésions (Strid *et al.* 2004). De plus en plus d'études démontrent que la barrière cutanée endommagée peut causer non seulement des symptômes analogues à la dermatite atopique, mais aussi à l'asthme et à la rhinite allergique. C'est le cas notamment d'une étude sur des modèles murins qui a démontré que la sensibilisation aux œufs causait non seulement des lésions cutanées, mais aussi des symptômes d'hyperréactivité bronchique (Spergel *et al.* 1998). De même, l'utilisation de crèmes contenant de l'huile d'arachide pour traiter les lésions de couches augmenterait le risque de développer une allergie aux arachides (Lack *et al.* 2003). Ainsi, l'application de crèmes hydratantes sur la peau,

dès la naissance, pourrait prévenir la sensibilisation précoce aux allergènes. Trois études ont démontré que l'application régulière de crème hydratante dès les premières semaines de vie peut réduire de moitié le développement de dermatite atopique (Horimukai *et al.* 2014; Simpson *et al.* 2014a; Lowe *et al.* 2018). Plus d'études sont toutefois nécessaires afin d'établir clairement si l'application de crèmes hydratantes peut prévenir efficacement le développement des autres maladies de la marche atopique.

1.2.2 La rhinite allergique

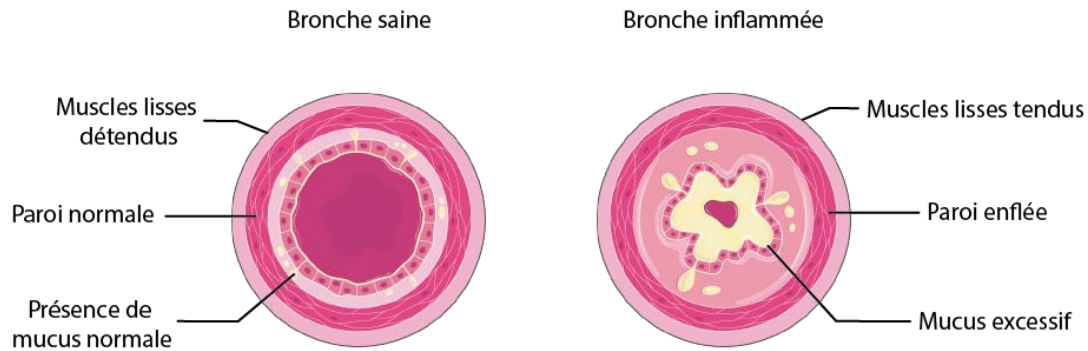
La rhinite allergique est une maladie inflammatoire des muqueuses du nez caractérisée par des démangeaisons, des éternuements, de la rhinorrhée (écoulement nasal), ainsi que de la congestion nasale (Maurer et Zuberbier 2007; Bousquet *et al.* 2008). Ces symptômes sont causés par une réponse exagérée à des allergènes environnementaux, d'une manière similaire à l'asthme allergique (Durham 1998). Même si ces manifestations sont généralement saisonnières, elles peuvent aussi entraîner une inflammation persistante. Plus précisément, la rhinite allergique est une réaction modulée par l'immunoglobuline E (IgE) à une protéine ou une glycoprotéine d'un allergène inhalé tel que le pollen, les moisissures, les squames d'animaux, les excréments d'acariens et les résidus de cafards (Broide 2010; Lei et Grammer 2019). La sensibilisation aux allergènes se produit lorsqu'un allergène se dépose dans les muqueuses nasales. Les cellules présentatrices d'antigènes traitent et présentent l'antigène aux lymphocytes T CD4⁺ dans les nœuds lymphatiques locaux. Ces lymphocytes stimulés par les allergènes prolifèrent via une voie de signalisation T_H2 et relâchent des cytokines tels que l'IL-3, IL-4, IL-5 et IL-13. Ces cytokines mènent à la production d'anticorps IgE par les cellules du plasma. Ceux-ci se lient aux mastocytes et aux basophiles. Ainsi, lorsqu'un allergène se représente à l'individu, les anticorps IgE le reconnaîtront. S'en suivra ensuite le processus de dégranulation des mastocytes et des basophiles, lors duquel des médiateurs seront relâchés, incluant des histamines et des enzymes telles que l'enzyme tryptase et chymase. Ces médiateurs seront alors responsables de la vasodilatation, de la sécrétion de mucus, de la stimulation nerveuse, de la démangeaison, de la rhinorrhée et de la congestion nasale (Uzzaman et Story 2012).

Les directives fixées par la *Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma* (ARIA) catégorisent la rhinite allergique en deux groupes : intermittent ou persistant. Pour être jugée persistante, l'un des symptômes de rhinite allergique ou plus doivent être présents plus de quatre fois par semaine pour plus de quatre semaines consécutives. De plus, la sévérité des symptômes de même que l'impact sur la qualité de vie des individus atteints peuvent permettre de la catégoriser en rhinite allergique modérée à sévère (Bousquet *et al.* 2008). La première méthode pour traiter la rhinite allergique est de retirer l'allergène de l'environnement; par exemple en recourant à des planchers de bois plutôt qu'aux tapis, en évitant les animaux domestiques et en s'assurant que le domicile est libre de toutes moisissures. Toutefois, il peut être nécessaire de recourir à de la pharmacothérapie dans certains cas, en fonction de la sévérité des symptômes et de la nature de l'allergène auquel la personne est sensibilisée (il est difficile d'éliminer le contact avec les pollens par exemple). Ces médicaments peuvent

être administrés par voie nasale ou oralement. Les médicaments peuvent inclure des antagonistes de récepteur H₁, des corticostéroïdes, des agents anticholinergiques, de même que des anti-leucotriènes. À court terme, des décongestionnants oraux ou inhalés peuvent contribuer à réduire la congestion, mais leur utilisation ne devrait pas dépasser sept jours puisqu'un effet rebond peut se faire ressentir, entraînant une rhinite d'origine médicamenteuse lorsque le traitement est arrêté (Uzzaman et Story 2012).

1.2.3 L'asthme allergique

Parmi les différents phénotypes d'asthme, l'asthme allergique est le plus fréquent (Romanet-Manent *et al.* 2002). L'âge de diagnostic de l'asthme allergique est généralement plus jeune dans le cas de l'asthme allergique comparativement aux autres phénotypes (Romanet-Manent *et al.* 2002), de même que la sensibilisation aux allergènes est généralement moins présente dans ces autres phénotypes (HSU *et al.* 2004). La *Global Initiative for Asthma* définit l'asthme comme une inflammation chronique des voies respiratoires dans laquelle un certain nombre de cellules jouent un rôle : les mastocytes, les éosinophiles, les lymphocytes T et les cellules épithéliales. Ses symptômes incluent une respiration sifflante, de l'oppression thoracique et de la toux. Ces symptômes sont causés par une obstruction partiellement réversible des voies respiratoires (Figure 2). L'inflammation peut aussi induire une hyperréactivité bronchique en réponse à divers stimuli, notamment à la pollution de l'air et aux allergènes (Bateman *et al.* 2008). Ces caractéristiques sont communes à l'asthme allergique et non-allergique. Toutefois, Romanet-Manent *et al.* ont noté, en plus de l'âge de diagnostic plus jeune chez les individus asthmatiques allergiques en comparaison avec les asthmatiques non-allergiques, que la sévérité de l'asthme non-allergique était généralement plus grande et le volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS) plus bas chez les individus asthmatiques non-allergiques (Romanet-Manent *et al.* 2002). De même, Inouye *et al.* ont noté de plus grandes limitations à l'effort, une plus grande utilisation de corticostéroïdes inhalés et des symptômes d'asthme plus fréquents chez les individus asthmatiques non-allergiques en comparaison avec les individus asthmatiques allergiques (Inouye *et al.* 1985). Enfin, un âge plus avancé de même que le sexe féminin seraient tous deux associés à un plus grand risque d'asthme non-allergique en comparaison à l'asthme allergique selon la description qu'en fait Rackeman (Rackemann 1947). Somme toute, il apparaît donc que les manifestations cliniques sont largement similaires entre les deux phénotypes d'asthme, qu'il soit allergique ou non, même si quelques variations quant à la sévérité des manifestations subsistent. Malgré tout, le critère qui permet le plus de différencier l'asthme non-allergique de l'asthme allergique demeure l'âge d'apparition des symptômes plus tardive dans le cas des individus asthmatiques non-allergiques (Inouye *et al.* 1985; Ulrik *et al.* 1992)



Illustrations gracieuseté de Servier Medical Art

Figure 2 : Bronches saines et inflammées dans l'asthme
(adaptée de Asthma and Allergy Foundation of America 2019)

Différentes mesures spirométriques peuvent témoigner de la sévérité de l'asthme et de l'asthme allergique. D'abord, le VEMS se définit par le volume maximal d'air qu'un individu peut expirer en une seconde. Un test de réversibilité lors de la prise de bronchodilatateur peut être effectué afin de diagnostiquer l'asthme. En fait, la GINA définit un test positif comme un test où le VEMS augmente de 12% ou plus après la prise de bronchodilatateurs (Bateman 2016). Le ratio de Tiffeneau, quant à lui, est le rapport entre le VEMS et la capacité vitale forcée (CVF) ($VEMS/CVF$). Selon la GINA, un ratio $VEMS/CVF < 0,90$ est positif chez l'enfant alors qu'un ratio $< 0,75-0,80$ chez l'adulte est considéré positif (Bateman 2016). Enfin, le test de bronchoprovocation à la méthacholine, ou CP20, correspond à la dose de méthacholine qui induit une baisse de 20% du VEMS (Bateman 2016).

Les traitements actuels pour l'asthme sont centrés sur des bronchodilatateurs et des corticostéroïdes anti-inflammatoires inhalés. Dans les cas persistants, il est possible de procéder à un traitement avec des anti-leucotriènes ou de la théophylline par voie orale (Gibeon et Menzies-Gow 2013). Un traitement combinant des corticostéroïdes inhalés et des agonistes β_2 à longue action est souvent utilisé pour permettre le contrôle de l'asthme. En fait, l'utilisation de ces agonistes, de pair avec des corticostéroïdes inhalés, permettrait une plus grande activité anti-inflammatoire et un meilleur contrôle de l'asthme (Bateman *et al.* 2004; Sears 2013). Plus récemment, des inhalateurs tout-en-un (*Single inhaler Maintenance And Reliever Therapy* (SMART)) permettent à des patients dans un stade avancé de la maladie de bénéficier d'une combinaison de budénoside et de formotérol en un seul inhalateur, permettant de réduire les risques d'exacerbation et réduisant l'exposition à des corticostéroïdes inhalés (Thomas et Pavord 2012). De plus, des antagonistes de récepteurs muscariniques, souvent utilisés chez les individus atteints de maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC), ont démontré

peu d'améliorations dans le VEMS des patients, tout en augmentant le risque d'exacerbation (Kerstjens *et al.* 2012). Ainsi, plus d'études sont nécessaires afin de déterminer si les inhalateurs SMART et l'utilisation d'antagonistes de récepteurs muscariniques peuvent former des voies thérapeutiques viables chez certains individus. Enfin, l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-IgE, commercialisé sous le nom de Omalizumab, peut former une thérapie supplémentaire afin d'améliorer la qualité de vie des patients atteints d'asthme allergique sévère. Ce médicament se lie aux IgE libres dans le sérum, formant un complexe IgE-anti-IgE. Le médicament n'interagit qu'avec les IgE libres et non avec les IgE liés à des cellules, prévenant ainsi le développement d'anaphylaxie (Schulman 2001). Toutefois, l'action de ce médicament se fait à long terme; il faut en effet plusieurs semaines avant que le niveau d'IgE libre ne soit effectivement sous-régulé. Le Tableau 1 présente les différents médicaments utilisés pour le traitement et le contrôle de l'asthme au Canada.

Enfin, des études plus récentes se sont consacrées aux voies thérapeutiques de l'asthme et des maladies allergiques au moyen des miARN. Une étude *in vitro* a notamment retrouvé une régulation négative du miR-106b sur les propriétés allergiques des cellules dendritiques, alors que miR-143 supprimerait l'expression du récepteur IL-13 α 1 dans les cellules épithéliales nasales (Yu *et al.* 2013; Tang *et al.* 2015; Teng *et al.* 2015). D'autres études ont démontré que des traitements à l'anti-miR-221, l'anti-miR-145 et anti-miR-126 réduisaient le compte d'éosinophiles ainsi que l'infiltration d'éosinophiles dans les bronches, réduisant par le fait même la production de cytokines T_H2 et l'hyperréactivité bronchique (Collison *et al.* 2011; Qin *et al.* 2012; McClure *et al.* 2014). Toutefois, ces voies de traitement par miARN demeurent difficilement applicables, considérant qu'un miARN peut agir sur plus d'un gène. Un tel traitement pourrait donc avoir plusieurs impacts sur d'autres voies biologiques, en plus de celles espérées (Specjalski et Jassem 2019).

Tableau 1 : Médicaments utilisés pour le traitement de l'asthme
(adapté de Association des pharmaciens du 2015; Global Initiative for Asthma 2020)

Classe de médicament	Médicament (Nom commercial)	Mécanisme d'action	Durée d'action	Posologie
Bêta2-agonistes à courte durée d'action (BACA)	<i>Salbutamol</i> (Airomir, Ventolin Diskus, Ventolin HFA, Ventolin Nebules P.F., génériques)	Stimule les récepteurs β 2-adrénergiques des muscles lisses, entraînant la bronchodilatation et une amélioration de la fonction pulmonaire.	3-6h	AD à 100 mcg par inhalation : 1-2 inhalations TID-QID PRN; dose maximale : 8 inhalations/jour Diskus : 200 mcg TID-QID PRN; dose maximale : 800 mcg/jour Nébules : 2,5-5 mg QID PRN
	<i>Terbutaline</i> (Bricanyl Turbuhaler)		4-7h	IPS à 0,5 mg/inhalation : 1 inhalation Q4-6H; dose maximale : 6 inhalations/jour
Bêta2-agoniste à longue durée d'action (BALA)	<i>Fumarate de formotérol</i> (Foradil)	Stimule les récepteurs β 2-adrénergiques des muscles lisses, entraînant la bronchodilatation et une amélioration de la fonction pulmonaire.	12h	IPS à 12 mcg/gélule : 1 gélule BID; dose maximale : 48 mcg
	<i>Fumarate de formotérol dihydraté</i> (Oxeze Turbuhaler)		12h	IPS : 6-12 mcg Q12H; dose maximale : 48 mcg/jour
	<i>Salmétérol</i> (Serevent)		≥ 12 h	Diskhaler à 50 mcg/coque : 1 coque BID Diskus à 50 mcg/inhalation : 1 inhalation BID
Antagonistes des récepteurs de leucotriènes	<i>Montelukast</i> (Singulair, génériques)	Cible le récepteur CysLT1 et inhibe l'activité des cystéinyl-leucotriènes (LTC4, LTD4 et LTE4), réduisant ainsi l'inflammation bronchique.	Journée	10 mg QHS PO
Antagonistes muscariniques à courte durée d'action	<i>Ipratropium</i> (Atrovent HFA, génériques)	Anticholinergique avec un effet bronchodilatateur en inhibant les réflexes à médiation vagale.	2h	AD à 20 mcg/inhalation : 2 inhalations Q6-8H PRN; dose maximale : 240 mcg/jour Nébules : 200-500 mcg Q4-6H PRN

Classe de médicament	Médicament (Nom commercial)	Mécanisme d'action	Durée d'action	Posologie
Antagonistes muscariniques à longue durée d'action	<i>Tiotropium</i> (Spiriva Respimat)	Inhibe les récepteurs M3 au niveau des muscles lisses relaxant les voies aériennes.	24h	Inhalateur « Soft Mist » : 2,5 mcg/inhalation, 2 inhalations à la fois QD
Antagonistes muscariniques/bêta2-agonistes à courte durée d'action, en association	<i>Ipratropium/salbutamol</i> (Combivent UDV (discontinué, 2020), génériques)	Anticholinergique avec un effet bronchodilatateur en inhibant les réflexes à médiation vagale.	≥8h	Nébules : 2,5 mL (0,5 mg/2,5 mg) Q6H PRN
Anticorps neutralisant IgE (anti-IgE)	<i>Omalizumab</i> (Xolair)	Anticorps monoclonal humanisé recombinant qui se lie de manière sélective à l'IgE pour la bloquer.	16 sem	150-375 mg SC toutes les 2-4 semaines
Corticostéroïdes par inhalation (CSI)	<i>Béclométhasone</i> (QVAR)	Inhibition de la transcription des gènes des cytokines en lien avec l'inflammation des voies respiratoires.	2,5h	100-800 mcg/jour fractionné BID; dose faible : 200-500 mcg; dose moyenne : >500-1000 mcg; dose élevée : >1000 mcg IPS : 400-2400 mcg/jour fractionné BID; dose faible : 200-400 mcg; dose moyenne : >200-400 mcg; dose élevée : >400 mcg Nébules : 0,125-2 mg/dose; dose personnalisée
	<i>Budésonide</i> (Pulmicort Turbuhaler, Pulmicort Nebuamp)		14h	
	<i>Ciclésonide</i> (Alvesco)		2h	AD : 100-800 mcg/jour; dose faible : 80-160 mcg; dose moyenne : >160-320 mcg; dose élevée : >320 mcg; à 800 mcg, fractionner la dose BID
	<i>Propionate de fluticasone</i> (Flovent HFA, Flovent Diskus)		5 jours	AD/IPS : 200-1000 mcg/jour fractionné BID; possibilité d'augmenter à > 1000 mcg pour l'asthme très sévère; dose faible : 100-250 mcg; dose moyenne : >250-500 mcg; dose élevée : >500 mcg

Classe de médicament	Médicament (Nom commercial)	Mécanisme d'action	Durée d'action	Posologie
Corticostéroïdes par inhalation (CSI) (suite)	<i>Fuorate de fluticasone</i> (Arnuity Ellipta)	Inhibition de la transcription des gènes des cytokines en lien avec l'inflammation des voies respiratoires.	35-40h	IPS : 100-200 mcg/jour; dose habituelle : 100 mcg; dose maximale : 200 mcg
	<i>Fuorate de mométasone</i> (Asmanex)		29h	IPS : 200-400 mcg/jour; dose habituelle : 200 mcg; dose maximale : 400 mcg BID
Corticostéroïdes par inhalation/bêta2-agonistes à longue durée d'action (CSI/BALA), en association	<i>Budésonide/fumarate de formotérol dihydraté</i> (Symbicort)	Le budénoside a un effet anti-inflammatoire alors que le fumarate de formotérol dihydraté est un bronchodilatateur.	4h	Traitement d'entretien : AD à 100/6 mcg ou 200/6 mcg : 1-2 inhalations/JOUR, BID; dose maximale : 4 inhalations/jour Possibilité d'augmenter temporairement à 4 inhalations BID en cas d'aggravation de l'asthme Traitement d'entretien et de secours : 1-2 inhalations BID ou 2 inhalations QD, plus 1 autre inhalation PRN si symptômes; si les symptômes persistent après quelques minutes, prendre une dose supplémentaire. Dose maximale : 6 inhalations/crise; 8 inhalations/jour
	<i>Fluticasone/salmétérol</i> (Advair, Advair Diskus)	Le salmétérol est un bronchodilatateur à longue durée d'action alors que le propionate de fluticasone est un anti-inflammatoire.	12h	AD à 125/25 mcg : 2 inhalations BID Diskus à 100/50 mcg pu 500/50 mcg : 1 inhalation BID

Classe de médicament	Médicament (Nom commercial)	Mécanisme d'action	Durée d'action	Posologie
Corticostéroïdes par inhalation/bêta2-agonistes à longue durée d'action (CSI/BALA), en association (suite)	<i>Fuorate de fluticasone/vilantérol (Breo Ellipta)</i>	Le fuorate de fluticasone est un anti-inflammatoire alors que le vilantérol est un BALA qui relâche les voies respiratoires et les bronches inhibe l'hypersensibilité des cellules dont les mastocytes.	24h	IPS à 100/25 mcg ou 200/25 mcg : 1 inhalation QD
	<i>Mométasone/fumarate de formotérol dihydraté (Zenhale)</i>	Le fuorate de mométasone est un glucocorticostéroïdes aux propriétés anti-inflammatoires alors que le fumarate de formotérol est un sélectif des récepteurs bêta2-adrénrgiques aux effets bronchodilatateurs.	45,5h	AD à 100/5 mcg ou 200/5 mcg : 2 inhalations BID
Inhibiteurs de l'IL-5	<i>Mépolizumab (Nucala)</i>	Anticorps monoclonal IgG1 kappa qui cible l'IL-5. Il se lie à l'IL-5 et diminue la durée de vie des éosinophiles	4 sem	100 mg SC toutes les 4 semaines
Méthylxanthines	<i>Théophylline</i> (Uniphyll, Apo-Theo LA, génériques)	Stimule le muscle cardiaque à relâcher les muscles lisses, particulièrement la musculature bronchique.	35h	Dose initiale : 400-600 mcg/jour PO en 1-3 doses fractionnées

AD : aérosol-doseur; IPS : inhalateur de poudre sèche; QD: une fois par jour; BID : deux fois par jour; TID : trois fois par jour; QID : quatre fois par jour; Q4H : toutes les quatre heures; Q6H : toutes les six heures; Q8H : toutes les huit heures; Q12H : toutes les douze heures; PRN : au besoin; QHS : au coucher; PO : par voie orale; SC : injection sous-cutanée

1.3 Facteurs environnementaux influençant le développement des maladies de la marche atopique

Au cours des dernières décennies, une augmentation marquée de la prévalence des maladies allergiques a été observée, en particulier dans les pays industrialisés (Grant 1987; Burr *et al.* 1989; Aberg *et al.* 1995; Eichenfield *et al.* 2003). C'est ainsi qu'est née la « théorie de l'hygiène » selon laquelle les enfants issus de maisons possédant de plus hauts standards de propreté personnelle subissaient un nombre réduit d'infections, menant par le fait même à une augmentation des maladies allergiques chez ces enfants (Strachan 1989). D'autres études ont associé l'augmentation des maladies allergiques dans les grandes familles des populations aisées (Strachan 1997; Ball *et al.* 2000; Schmitz *et al.* 2012). Aussi, dans les sociétés moins industrialisées, les communautés plus aisées semblent être plus atteintes de maladies allergiques, de même que les communautés citadines (Addo Yobo *et al.* 1997; Addo-Yobo *et al.* 2001; Addo-Yobo *et al.* 2007; Stevens *et al.* 2011; Endara *et al.* 2015). Enfin, ces maladies seraient moins présentes chez les enfants ayant grandi en milieu rural, particulièrement sur des fermes, en raison de l'exposition microbienne accrue, protégeant ainsi du développement d'asthme (Perzanowski *et al.* 2002; Bisgaard *et al.* 2007; Ege *et al.* 2011; Schuijs *et al.* 2015; Stein *et al.* 2016). Plusieurs études sur des modèles murins ont validé cette hypothèse; le Tableau 2 présente l'effet de certains agents d'exposition issus des fermes sur des modèles murins d'allergie. Toutes ses recherches tendent donc à démontrer que l'exposition microbienne est favorable à la protection contre les maladies allergiques.

Tableau 2 : Effet d'agents d'exposition de fermes sur des modèles murins d'allergie
(adapté de von Mutius et Vercelli 2010)

Agents d'exposition	Moment de l'administration	Effet sur le sérum	Effet sur les lavages bronchoalvéolaires	Effets sur les poumons	Référence
Poussière	Jour 0	↓ IgE ↓ IgG1 ↔ IgG2a	↓ éosinophiles ↓ lymphocytes ↓ macrophages ↓ IgE	↓ Réponse des voies respiratoires	(Peters <i>et al.</i> 2006)
<i>Acinetobacter lwoffii</i> F78 <i>Lactococcus lactis</i> G121	Jour -10	↔ IgE ↓ IgG1 ↔ IgG2a	↓ éosinophiles ↑ neutrophiles ↑ lymphocytes	↓ infiltration inflammatoire ↓ métaplasie des cellules de gobelet ↓ Réponse des voies respiratoires	(Debarry <i>et al.</i> 2007)
<i>Acinetobacter lwoffii</i> F78	Jour -11	↔ IgE ↔ IgG1	↓ éosinophiles ↓ lymphocytes	↓ infiltration inflammatoire ↓ métaplasie des cellules de gobelet ↓ Réponse des voies respiratoires	(Conrad <i>et al.</i> 2009)
Spores de <i>Bacillus licheniformis</i>	Jour -12	-	↓ éosinophiles ↓ lymphocytes ↑ macrophages ↑ neutrophiles ↑ IFN γ ↑ IL-10	↓ infiltration inflammatoire ↓ métaplasie des cellules de gobelet	(Vogel <i>et al.</i> 2008)
Arabinogalactanes de plantes	Jour 0	-	↓ éosinophiles ↓ IgE ↓ IgG2a ↓ IL-5	↓ métaplasie des cellules de gobelet ↓ Réponse des voies respiratoires	(Peters <i>et al.</i> 2010)

↓ : réduction

↑ : augmentation

↔ : aucun effet

De plus, la sensibilisation précoce aux allergènes serait largement impliquée dans le développement des maladies de la marche atopique. En fait, il est difficile de quantifier la fréquence à laquelle la sensibilisation se produit via la barrière cutanée endommagée. Une étude par Lack *et al.* a démontré une prévalence accrue d'allergie aux arachides chez les enfants qui avaient une barrière cutanée endommagée, même en l'absence de dermatite atopique, confirmant ainsi que la barrière cutanée endommagée peut effectivement former une voie

d'entrée propice aux allergènes et favorisant le développement de comorbidités allergiques (Lack *et al.* 2003). Dans le cas de l'asthme, les études de la sensibilisation par la peau sont d'autant plus complexes que la sensibilisation aux allergènes peut se produire tant par la barrière cutanée que par les poumons. En fait, les particules d'échappement de diesel, les allergènes ainsi que la fumée de cigarette induiraient des dommages tissulaires et du stress oxydatif dans les poumons. En résulte ainsi une inflammation des poumons et une augmentation des neutrophiles, des lymphocytes T et de cytokines pro-inflammatoires. Cet environnement devient alors propice à la sensibilisation aux allergènes (Figure 3). Toutefois, une étude par Bello *et al.* a démontré que le risque d'asthme augmentait considérablement suite à une exposition aux isocyanates, exposition se produisant généralement par la peau (Bello *et al.* 2007). En fait, certaines études ont démontré qu'une exposition de la peau aux isocyanates pouvait favoriser une sensibilisation de type T_H2 suivie d'inflammation des voies respiratoires après bronchoprovocation (Herrick *et al.* 2003; Vanoirbeek *et al.* 2004; Ban *et al.* 2006; Tarkowski *et al.* 2007; Pauluhn 2008). Finalement, en plus de l'exposition aux allergènes, la sensibilisation est aussi tributaire d'autres facteurs comme les adjuvants exogènes, la colonisation de bactéries sur la peau lésionnelle ainsi que les dommages directs à la peau (Dunkin *et al.* 2011). Ces facteurs favorisent pour la plupart la production de cytokines telles que la lymphopoïétine stromale thymique (TSLP), l'interleukine-33 (IL-33) et l'interleukine-25 (IL-25) à partir de l'épithélium (Han *et al.* 2017).

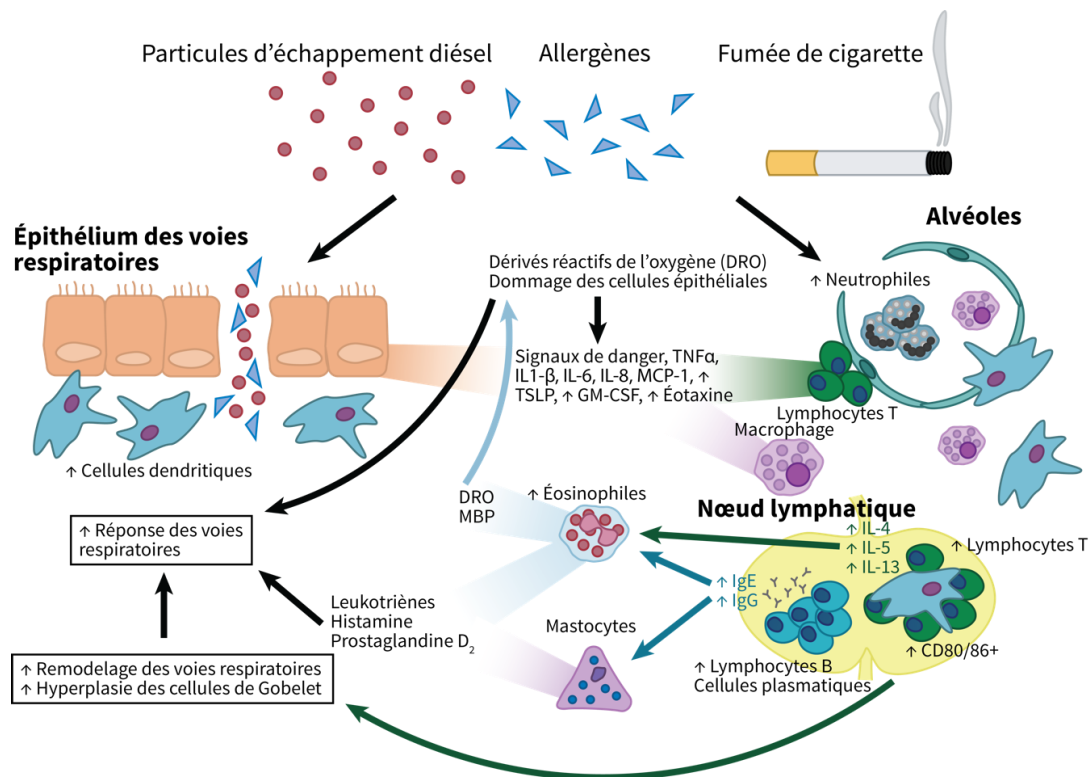


Figure 3 : Mécanismes de sensibilisation des poumons dans l'asthme (traduite de Maes *et al.* 2010)

Chacune de ces maladies possède une forte composante inflammatoire. En fait, en réponse à une infection parasitaire, le corps produit l'IgE, en particulier lorsqu'il s'agit d'une infection via la barrière cutanée ou les muqueuses (Sutton et Gould 1993). Dans le cas des maladies allergiques, cette réaction se produit lors de la confrontation à un allergène. Tant dans l'asthme que dans la rhinite allergique, le niveau circulatoire des IgE est plus élevé chez les individus atteints (Sherrill *et al.* 1999). Il a aussi été observé qu'une augmentation du niveau d'IgE chez des individus non-allergiques était un facteur de risque de l'asthme (Beeh *et al.* 2000). De là, diverses cellules immunitaires sont recrutées dans les différents organes : les mastocytes, les basophiles, les éosinophiles, etc. Spécifiquement, ces cellules semblent posséder des récepteurs d'IgE à haute affinité. L'IgE se lierait à ces cellules, entraînant une cascade inflammatoire relâchant des médiateurs tels que l'histamine et les leucotriènes (Bousquet *et al.* 2003). Le Chapitre 4 présente plus en détail les différentes cellules impliquées dans les processus inflammatoires de l'asthme et des maladies allergiques.

1.4 Génétique des maladies de la marche atopique

Le développement des maladies de la marche atopique, en plus d'être favorisé par des facteurs environnementaux, dépend aussi de facteurs génétiques. Des études évaluant le taux de concordance chez des jumeaux monozygotes et dizygotes pour l'asthme et la dermatite atopique ont conclu que l'hérédité des maladies allergiques se situait entre 60 et 75% (Duffy *et al.* 1990; Elmoose et Thomsen 2015; Ullemar *et al.* 2015). Actuellement, l'hérédité de l'asthme est estimée entre 55 et 90% (Hernandez-Pacheco *et al.* 2019) alors que celle de la dermatite atopique est estimée à 75% (Løset *et al.* 2019).

Les premières études génétiques dans l'asthme et les maladies allergiques sont apparues bien avant l'avènement du projet du génome humain (Rosenwasser 1996). Des approches par gènes candidats ont permis d'associer les certains marqueurs antigènes des leucocytes humains (HLA) à la réponse des IgE face aux allergènes chez une population asthmatique (Young *et al.* 1994). Cette approche était précurseur du génotypage par PCR, une technique qui permettait d'amplifier des allèles et de les lire dans des analyses de liaison génétique, permettant ainsi d'identifier si la maladie était causée par une mutation au sein d'un seul gène ou de plusieurs (Pulst 1999). S'en est suivi l'amélioration de la méthode de lecture des séquences amplifiées par PCR au moyen de la fluorescence semi-automatisée (Levitt 1994).

Les déterminants génétiques retrouvés dans la dermatite atopique, l'allergie alimentaire, la rhinite allergique ainsi que dans l'asthme allergique au fil des ans sont généralement communs entre ces maladies, appuyant ainsi la thèse d'un continuum tel que la marche atopique. Comme les études génétiques sur les traits complexes nécessitent de grandes cohortes impliquant des milliers d'échantillons, plusieurs études ont été conçues sur la base d'un historique personnel ou familial d'asthme. Toutefois, ces études ont noté des associations non seulement avec l'asthme, mais aussi avec les autres maladies allergiques. Aujourd'hui, les études d'association

pangénomiques permettent l'identification de milliers de loci associés à l'asthme et aux maladies allergiques. Le GWAS Catalogue, une base de données des études d'association pangénomiques, dénombre 935 associations significatives dans les maladies allergiques (asthme, rhume des foins, dermite atopique et/ou rhinite allergique) provenant de 40 études, ainsi que 2695 associations significatives pour l'asthme, tous phénotypes confondus, pour un total de 136 études pangénomiques (MacArthur *et al.* 2016). Cette pléthore de données génomiques sur les maladies de la marche atopique rend l'analyse des données se chevauchant difficile; toutefois, une revue de Schoettler *et al.* a dégagé 28 loci associés dans minimalement cinq études pangénomiques d'asthme ou deux études pangénomiques des maladies allergiques, entre les années 2018 et 2019 (Schoettler *et al.* 2019). Le Tableau 3 présente ces régions et gènes associés dans l'asthme et l'allergie.

Tableau 3 : Régions et gènes associés dans l'asthme et les maladies allergiques
(tiré de Schoettler *et al.* 2019)

Région du chromosome	# associations avec l'asthme*	# associations avec l'allergie*	Gènes	Références
6p21.3	28 (10)	6 (5)	<i>HLA-DQB1, HLA-DRB1, HLA-DRB6, HLA-DQA1, HLA-DPA1, HLA-B, HLA-C, MICA, MICB, COL11A1, TCP11, SCUBE3, HLA-DOB, HCP5, MCCD1</i>	(Asai <i>et al.</i> 2018; Demenais <i>et al.</i> 2018; Khor <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Dahlin <i>et al.</i> 2019; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Noguchi <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
10p14	15 (7)	3 (2)	<i>GATA3, CELF2, SFTA1P, loc101928272, RP11</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
2q12.1	13 (7)	2 (2)	<i>IL1R1, IL1RL1, IL1RL2, IL18R1, IL18RAP, MIR4772, SLC9A2, SLC9A4</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
5q22.1	12 (7)	3 (2)	<i>CAMK4, WDR36, SLC25A46, TMEM232, TSLP</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Dahlin <i>et al.</i> 2019; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
5q31.1	11(9)	1 (1)	<i>C5orf56, SLC22A5, IRF1, KIF3A, IL4, CCN2, IL13, RAD50, SEPT8</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
9p24.1	11(8)	3 (2)	<i>RANBP6, IL33, KIAA2026, MIR4665, TPD52L3, GLDC, UHRF2</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
17q12-21	11 (7)	1 (1)	<i>ORMDL3, GSDMB, ZBP2, ERBB2, MED1, CSF3, ERBB2, GRB7, GSDMA, GSDMB, IKZF3, LRRC3C, MED24, MIEN1, MIR4728, MIR6884, PGAP3, PNMT, PSMD3, SNORD124, STARD3, TCAP</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Daya <i>et al.</i> 2019; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
11q13.5	10 (7)	3 (3)	<i>LRRC32, C11orf30, EMSY, THAP12, WNT11, PRKRIR</i>	(Asai <i>et al.</i> 2018; Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Dahlin <i>et al.</i> 2019; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Noguchi <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)

Région du chromosome	# associations avec l'asthme*	# associations avec l'allergie*	Gènes	Références
15q22.33	10 (6)	1 (1)	<i>SMAD3, SMAD6, AAGAB</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Daya <i>et al.</i> 2019; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
16p13.13	7 (7)	2 (2)	<i>CLEC16A, DEXI, CIITA, RMI2, SOCS1</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Daya <i>et al.</i> 2019; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
2q37.3	7 (6)	1 (1)	<i>D2HGDH, ING5, GAL3ST2</i>	(Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
8q21.13	7 (6)	1 (1)	<i>MIR5708, TPD52, ZBTB10</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
12q13.2	7 (5)	1 (1)	<i>TESPA1, MUCL1, NEUROD4, RAB5B, CDK2, SUOX, RPS26, ERBB3, IKZF4, PA2G4, RAB5B, RPL41, ZC3H10</i>	(Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
1q21.3	7 (3)	2 (1)	<i>C1orf68, CRCT1, CRNN, FLG, FLG2, HRNR LCE2A, LCE2B, LCE2C, LCE2D, LCE3A, LCE3B, LCE3C, LCE3D, LCE3E, LCE4A, LCE5A, NBP18P, RPTN, S100A11, TCHH, TCHHL1, CLEC16A, TDRKH, RORC</i>	(Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
6p22.1	7 (3)	0	<i>DDX6, CXCR5, TRIM26, TRIM15, TRIM39, GPX5, TRIM27</i>	(Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
6q15	6 (6)	1 (1)	<i>BACH2, MAP3K7, GJA10</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
17q21.2	6 (5)	1 (1)	<i>KRT24, KRT222, SMARCE1, STAT5B, GHDC, STAT5A</i>	(Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
4q27	5 (4)	2 (2)	<i>IL2, IL21, ADAD1, KIAA1109</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
17q21.32	5 (4)	0	<i>ZNF652, TBX21, TBKBP1, OSBPL7, PHB</i>	(Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
18q21.33	5 (3)	0	<i>TNFRSF11A, KIAA1468, ZCCHC2, SERPINB7, SERPINB11, SERPINB2</i>	(Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)

Région du chromosome	# associations avec l'asthme*	# associations avec l'allergie*	Gènes	Références
15q22.2	4 (4)	1 (1)	<i>RORA, ANXA2, VPS13C, NARG2</i>	(Demenais <i>et al.</i> 2018; Waage <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
19q13.11	4 (3)	2 (2)	<i>CEBPA, SLC7A10, LRP3</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019)
10p15.1	4 (3)	1 (1)	<i>PRKCQ, PFKFB3, SFMBT2, IL2RA, RBM17</i>	(Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
4p14	3 (3)	4 (2)	<i>FAM114A1, MIR574, TLR1, TLR6, TLR10, KLF4</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
12q24.31	3 (3)	2 (1)	<i>SPPL3, HNF1A, PITPNM2, CDK2AP1, C12orf65, SPPL3, ACADS</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Pividori <i>et al.</i> 2019)
2p25.1	3 (3)	2 (2)	<i>LINC00299, ID2, RNF144A</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Pividori <i>et al.</i> 2019)
1q24.2	3 (2)	1 (1)	<i>CD247</i>	(Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019; Shrine <i>et al.</i> 2019)
15q15.1	1 (1)	2 (2)	<i>ITPAK, CHP1, EXD1, INO80, NDUFAF1, NUSAP1, OIP5, RTF1</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019)
20q13.2	1 (1)	2 (2)	<i>LOC101927770, ZNF217, NFATC2, KCNG1, TSHZ2</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019)
5p13.2	1 (1)	2 (2)	<i>CAPSL, IL7R, LOC100506406, SPEF2, UGT3A1</i>	(Waage <i>et al.</i> 2018; Zhu <i>et al.</i> 2018; Ferreira <i>et al.</i> 2019)

*Nombre d'associations dans la maladie (nombre de GWAS rapportant au moins une association significative dans cette région)

L'une des limitations majeures des GWAS provient du fait qu'ils permettent d'identifier des polymorphismes nucléotidiques sans toutefois identifier précisément sur quel gène ce polymorphisme a une influence. De fait, dans les GWAS, le gène le plus proche du polymorphisme est généralement considéré comme un candidat potentiel de la maladie. Toutefois, ce n'est pas tous les polymorphismes qui influencent directement le gène le plus proche, même si celui-ci est situé à l'intérieur même du gène en question. C'est pourquoi des validations fonctionnelles doivent être réalisées dans ce type d'étude afin d'identifier les polymorphismes qui ont un effet sur le niveau d'expression des ARNm (eQTL) (Kim et Ober 2019). Le consortium Genome-Tissue Expression (GTEx) a rendu disponibles les données eQTL de 44 tissus humains afin d'identifier les gènes et les voies biologiques affectées par des variations génétiques en lien avec une maladie (Battle *et al.* 2017).

Il demeure toutefois utile de noter que plusieurs gènes sont largement associés aux maladies allergiques. Par exemple, dans le cas de la dermatite atopique, des études ont démontré que des mutations aux gènes associés au développement de la barrière épithéliale pouvaient favoriser le développement de la maladie. Ces gènes sont la filaggrine, la *serine peptidase inhibitor Kazal-type 5 (SPINK5)*, la TSLP, de même que la cornéodesmosine (Han *et al.* 2017). En fait, des mutations dans le gène *FLG* servant à encoder la filaggrine, une protéine qui organise les filaments de kératine dans l'épithélium de la peau, pourraient augmenter l'accumulation de peaux mortes sur la peau, une maladie appelée *ichthyosis vulgaris*. Cette maladie mènerait elle-même à une plus grande susceptibilité de développer de la dermatite atopique (Palmer *et al.* 2006; Smith *et al.* 2006). D'autres études ont associé ces mêmes mutations à une plus grande susceptibilité de développer de l'allergie alimentaire (Brown *et al.* 2011; Venkataraman *et al.* 2014) ou de l'asthme (Palmer *et al.* 2007; Basu *et al.* 2008; Henderson *et al.* 2008).

De plus, des polymorphismes nucléotidiques (SNP) aux loci de la TSLP ou de ses récepteurs seraient impliqués dans le risque de dermatite atopique, d'asthme et d'œsophagite à éosinophile (Rothenberg *et al.* 2010; Sherrill *et al.* 2010; Harada *et al.* 2011; Miyake *et al.* 2015), de même que des polymorphismes dans les loci de l'IL-33 ou de ses récepteurs seraient associés aux risques de dermatite atopique ou d'asthme (Shimizu *et al.* 2005; Moffatt *et al.* 2010; Savenije *et al.* 2014).

En somme, les maladies allergiques sont des traits complexes pour lesquels il est difficile de cibler la cause exacte de leur développement. Les études pangénomiques réalisées au cours des dernières années ont permis d'identifier un grand nombre de gènes associés à ces maladies, mais l'héritabilité ne semble pas expliquer à elle seule ces maladies. Plus récemment, des études épigénomiques ont permis d'associer certains patrons de méthylation et ARN non-messagers (ARNnm) à l'asthme et aux maladies allergiques. Les deux chapitres qui suivent présentent donc les différents mécanismes épigénétiques pouvant réguler l'expression d'un gène sans modifier la séquence de l'ADN, de même qu'un portrait des études épigénétiques réalisées dans les maladies allergiques.

Chapitre 2 Mécanismes et études épigénétiques

2.1 Le champ d'études épigénétiques

Le champ d'études épigénétiques est né en 1942, de l'embryologiste Conrad Waddington. Celui-ci décrivait l'épigénétique comme « la branche de la biologie qui étudie les interactions causales entre les gènes et leurs produits qui font naître le phénotype » (Waddington 2008). Cette définition très générale et impliquant que tous les mécanismes modulant l'expression des gènes afin d'en faire un phénotype s'est graduellement transformée afin de n'inclure que les « changements dans la fonction des gènes qui sont héréditaires de manière mitotique ou méiotique et qui n'entraînent pas de changement dans les séquences d'ADN » (Wu et Morris 2001). Ainsi, divers mécanismes épigénétiques existent permettant de réguler l'expression des gènes. Ces mécanismes incluent la méthylation d'ADN, la modification des chromatines, l'inactivation des chromosomes ainsi que les ARN non-codants, ou ARNm. (Zhou *et al.* 2010). La Figure 4 présente les trois principaux mécanismes épigénétiques : (a) la modification aux histones, (b) la méthylation de l'ADN et (c) les ARN non-messagers. Ces mécanismes sont expliqués subséquemment.

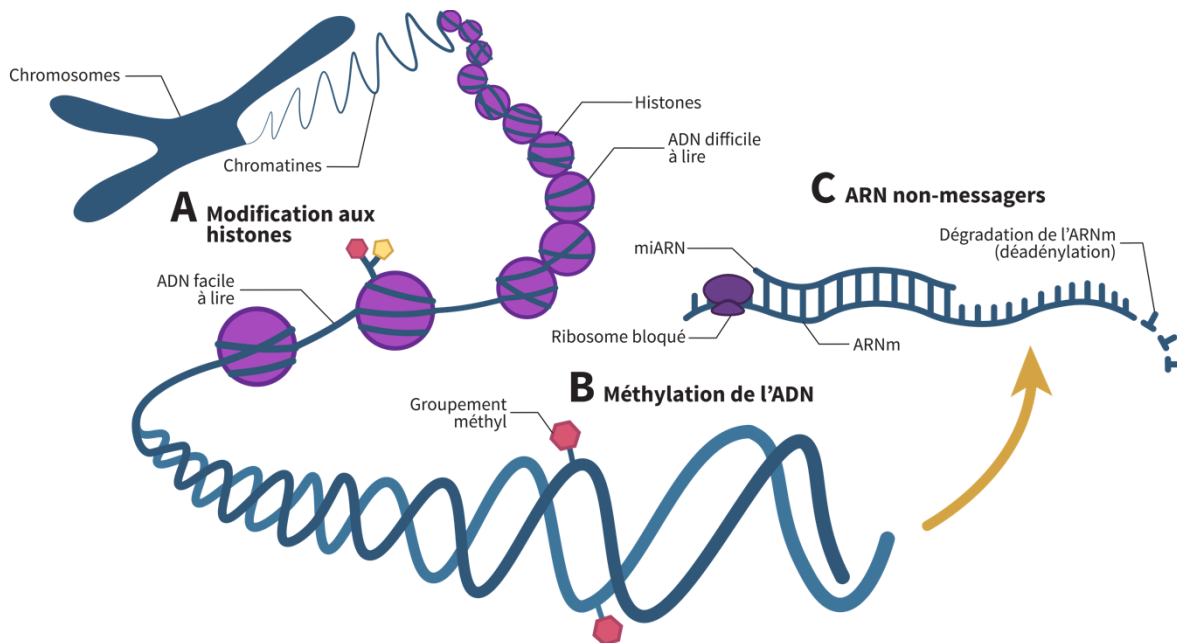


Figure 4 : Principaux mécanismes épigénétiques
(adaptée de Zhang 2018; Chang et Lu 2020)

En somme, ce chapitre décrit les différents mécanismes épigénétiques et leur fonctionnement alors que le Chapitre 3 présente un sommaire des études épigénétiques publiées dans l'asthme et les maladies allergiques.

2.2 La méthylation d'ADN

La méthylation de l'ADN est l'un des mécanismes épigénétiques les plus documentés dans la régulation de l'expression des gènes. Elle se produit lorsqu'un groupe méthyl est ajouté à partir d'un S-Adénosylméthionine (SAM) vers le cinquième carbone d'un résidu de cytosine, formant un 5mc. La méthylation est catalysée au moyen d'une famille d'ADN méthyltransférase (Dnmt). Plus précisément, les Dnmt3a et Dnmt3b permettent d'établir de nouveaux patrons de méthylation sur des brins d'ADN non modifiés; ils seront appelés Dnmt *de novo* (Figure 5a), alors que Dnmt1 est appelé lors de la réplication de l'ADN afin de recopier le patron de méthylation du brin d'ADN matrice vers le brin complémentaire (Figure 5b) (Moore *et al.* 2013).

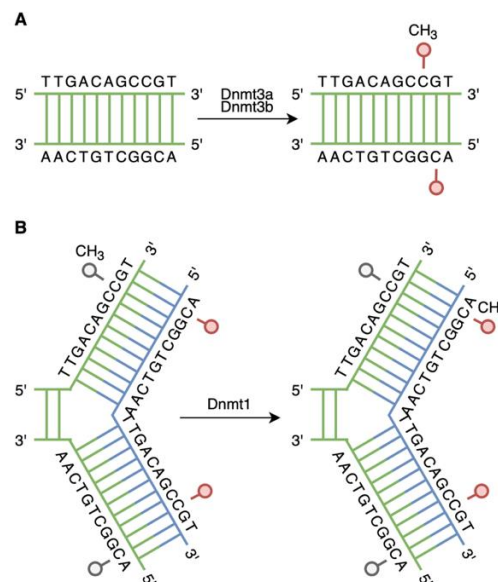


Figure 5 : Voies de méthylation d'ADN
(adaptée de Moore *et al.* 2013)

La majorité de la méthylation de l'ADN se produit sur des cytosines précédant une guanine; ce site sera appelé site CpG. Ce mécanisme réduit l'expression des gènes en réprimant la fixation d'un activateur transcriptionnel (Moore *et al.* 2013).

2.3 Régulation des chromatines par modification aux histones

L'ADN est compacté dans le noyau des cellules eucaryotes dans une structure nommée chromatine. L'unité fondamentale composant les chromatines sont les nucléosomes, composés d'un octamère incluant les quatre histones centrales (H3, H4, H2A et H2B) autour desquelles sont entourées 147 paires de bases d'ADN (Kouzarides 2007). Les histones sont depuis longtemps reconnues comme pouvant être modifiées d'une manière post-traductionnelle (Alfrey *et al.* 1964). Ces modifications régulent la structure des chromatines, mais favorisent aussi le recrutement d'enzymes qui repositionnent les nucléosomes en utilisant l'énergie dérivée de

l'hydrolyse de l'ATP (Bannister et Kouzarides 2011). Différentes classes de modifications ont été identifiées sur les histones, chacune servant à réguler certaines fonctions dans l'expression des gènes (Tableau 4).

Tableau 4 : Différentes classes de modifications identifiées sur les histones
(tiré de Kouzarides 2007)

Modification à un chromatine	Résidu modifié	Fonctions régulées
Acétylation	K-ac	Transcription, réparation, réplication, condensation
Méthylation (lysines)	K-me1, K-me2, K-me3	Transcription, réparation
Méthylation (arginines)	R-me1, R-me2a, R-me2s	Transcription
Phosphorylation	S-ph, T-ph	Transcription, réparation, condensation
Ubiquitylation	K-ub	Transcription, réparation
Sumoylation	K-su	Transcription
ADP-ribosylation	E-ar	Transcription
Déimination	R > Cit	Transcription
Isomérisation proline	P-cis > P-trans	Transcription

Les modifications susmentionnées agissent toutes sur la transcription. Il est possible de distinguer les modifications en deux catégories : celles qui sont corrélées à l'activation et celles qui sont corrélées à la répression, menant à l'expression ou à l'inactivation d'un gène, respectivement. Ainsi, l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation et l'ubiquitylation ont précédemment été liés à l'activation. De même, la méthylation et l'ubiquitylation ont aussi été liés à la répression, de pair avec la sumoylation, la déimination et l'isomérisation proline. Il est toutefois à noter que toutes les modifications peuvent agir, soit en activation, ou en répression de la transcription, dépendamment de la situation (Kouzarides 2007).

La phosphorylation, la méthylation et l'acétylation agissent aussi sur la réparation des dommages aux fragments d'ADN. Par exemple, dans le cas de la phosphorylation, les modifications assistent à la reconnaissance des sites où des réparations doivent être faites (Kouzarides 2007). L'implication de l'acétylation dans la réplication de l'ADN est toujours à l'étude, mais une réduction de l'acétyltransférase Hbo1 et de la protéine ING5 a récemment été associée à une réduction de la synthèse de l'ADN (Iizuka *et al.* 2006). Enfin, tant la phosphorylation que l'acétylation ont été associées à la condensation des chromosomes, un processus important dans le cycle réplcatif des cellules. Par exemple, la phosphorylation de l'histone H3S10 pendant la mitose serait liée à la compaction des chromatines (Fischle *et al.* 2005). De même, l'acétylation favoriserait la condensation des chromatines, notamment la déacétylase SirT2 aurait l'habilité de condenser les chromatines *in vivo* (Vaquero *et al.* 2006).

2.4 Inactivation du chromosome X

L'inactivation du chromosome X est un mécanisme épigénétique important dans le balancement de l'expression des gènes entre les hommes et les femmes. En fait, l'inactivation de l'un des deux chromosomes X chez la femme est essentielle à l'expression des gènes. Ce processus se fait en plusieurs étapes, mais d'un point de vue général, se fait au moyen d'un long ARN non-messager (lARNnm) nommé XIST d'une longueur de 17 à 29 kb qui se fixe sur l'un des deux chromosomes X afin d'en effectuer l'inactivation (Lu *et al.* 2017). L'inactivation du chromosome X se fait d'une manière aléatoire : chaque cellule a 50% de chance d'inactiver le chromosome X du père plutôt que de la mère, formant ainsi une mosaïque d'expression des gènes du chromosome X provenant du père et de la mère chez la femme. En général, la femme aura donc un ratio d'expression des gènes paternels et maternels de 50:50. Toutefois, l'inactivation du chromosome X pourrait être biaisée afin de plus ou moins favoriser l'expression du chromosome X paternel ou maternel. Un ratio dépassant généralement 80:20 sera généralement considéré biaisé (Dobyns *et al.* 2004). Ce biais peut être issu uniquement de la chance, mais pourrait aussi être occasionné par un polymorphisme qui favorise le choix d'un chromosome en particulier. Ce biais sera appelé inactivation primaire du chromosome X (Plenge *et al.* 1997). Un chromosome pourrait aussi être favorisé puisqu'un trait de l'un de chromosomes pourrait conférer un avantage ou un désavantage de croissance. Ce second biais sera appelé inactivation secondaire du chromosome X (Sun et Tsao 2008). Ainsi, l'inactivation biaisée du chromosome X forme un mécanisme épigénétique central à l'expression des gènes chez la femme, régulant ainsi cette expression sans modifier la séquence de l'ADN.

2.5 Les ARN non-messagers

Les ARNnm sont des ARN qui n'ont pas la fonction d'encoder des protéines. Deux sous-catégories d'ARNnm existent : les ARNnm régulant la fonction cellulaire et les ARNnm régulateurs, dont la fonction est de réguler l'expression des gènes d'une manière transcriptionnelle et post-transcriptionnelle (Zhang *et al.* 2019). Le Tableau 5 décrit l'ensemble des ARNnm impliqués dans la régulation de la fonction cellulaire et l'expression des gènes.

Tableau 5 : ARNnm impliqués dans la fonction cellulaire et l'expression des gènes
(adapté de Zhang *et al.* 2019)

Type	Abréviation	Abréviation anglaise	Nom complet	Longueur
ARNnm régulant la fonction cellulaire	ARNr	rRNA	ARN ribosomique	120–4500 nt
	ARNt	tRNA	ARN de transfert	76–90 nt
	ARNsn	snRNA	Petit ARN nucléaire	100–130 nt
	ARNsno	snoRNA	Petit ARN nucléolaire	60–400 nt
	TERC	TERC	ARN télomérase	N/A
	tRF	tRF	Fragment dérivé des ARNt	16–28 nt
	ARNti	tiRNA	Demi ARNt	29–50 nt
ARNnm régulateurs	miARN	miRNA	Micro-ARN	21–23 nt
	pARNi	siRNA	Petit ARN interférant	20–25 nt
	ARNpi	piRNA	ARN interagissant avec Piwi	26–32 nt
	ARNe	eRNA	ARN amplificateur	50–200 nt
	IARNnm	lncRNA	Long ARN non-messenger	>200 nt
	ARNcirc	circRNA	ARN circulaire	100–10 000 nt
	ARN Y	Y RNA	ARN Y	N/A

Les ARN régulant la fonction cellulaire ne forment pas un mécanisme épigénétique régulant l'expression génétique, mais sont tout de même essentiels à la survie des cellules (Chen *et al.* 2019). Ils sont exprimés dans toutes les cellules et agissent sur la synthèse des protéines, l'épissage des ARN et la modification des ARN (Zhang *et al.* 2019). Plus récemment, des ARNnm ont été identifiés comme inhibant la traduction par le biais du recrutement d'agrégats d'ARN et de protéines dans des situations de stress (Schaefer *et al.* 2010; Venkatesh *et al.* 2016). Les ARNnm régulateurs, quant à eux, agissent sur divers paliers des mécanismes épigénétiques. La Figure 6 décrit la façon dont les ARNnm influencent l'expression des gènes par le biais de mécanismes épigénétiques.

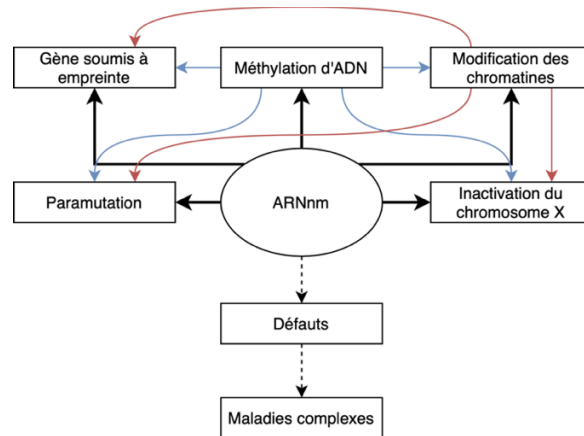


Figure 6 : Effet des ARNnm sur les mécanismes épigénétiques
(traduite de Zhou *et al.* 2010)

Les miARN sont les ARNm régulateurs les plus abondants. Ceux-ci régulent l'expression des gènes autant dans le cytoplasme que dans le noyau en se liant à un ARNm cible, réprimant ainsi la transcription de l'ADN (Lagos-Quintana *et al.* 2001). En fait, les miARN sont transcrits à partir d'un gène de miARN par l'ARN polymérase II (Pol II), formant une longue structure en forme d'épingle à cheveux (généralement plus de 1 kb) dans laquelle est incluse la séquence du miARN. Cette structure initiale est appelée miARN primaire (pri-miARN). Le pri-miARN est ensuite recoupé pour former un miARN précurseur (pre-miARN), lui aussi en forme d'épingle à cheveux, par un complexe composé de la ribonucléase (RNase) III Drosha et de son cofacteur DGCR8 appelé microprocesseur. Le pre-miARN résultant est généralement d'une longueur de 65 nucléotides. Suivant l'action du complexe microprocesseur, le pre-miARN est exporté dans le cytoplasme à l'aide de la protéine exportine 5 (EXP5). Cette protéine forme un complexe avec une protéine Ran-GTP et le pre-miARN. Après la translocation via le complexe de pores nucléaires, la GTP est hydrolysée, désassemblant ainsi le complexe et relâchant le pre-miARN dans le cytosol. Une enzyme Dicer clive ensuite le pre-miARN près de la terminaison, libérant un petit duplex d'ARN. Ce duplex est chargé sur une protéine argonaute (AGO) pour former un complexe RISC (*RNA-induced silencing complex*) précurseur (pre-RISC). Le brin passager du duplex est ensuite enlevé pour former un complexe RISC mature. Une fois dans ce complexe, les miARN sont très stables puisque les deux côtés du miARN sont protégés par la protéine AGO (Ha et Kim 2014). Ce complexe RISC sert de régulateur post-transcriptionnel en se liant à la région 3' UTR d'un ARNm, réprimant la traduction en bloquant le ribosome ou en favorisant la dégradation de l'ARNm cible par déadénylation (Figure 7) (Stavast et Erkeland 2019).

Les pARNi sont des ARNm double brin souvent responsables de l'interférence des ARN, un processus lors duquel l'expression d'un gène est réprimée en neutralisant une molécule d'ARNm cible, d'une manière similaire aux miARN en formant un complexe RISC dégradant l'ARNm (Agrawal *et al.* 2003). Plus précisément, les pARNi sont générées à partir de petits ARN en épingle à cheveux ou d'ARN double brin au moyen de l'enzyme Dicer. Elles sont par la suite chargées sur la protéine AGO, formant un complexe RISC clivant l'ARNm cible (Figure 8) (Hu *et al.* 2020).

Les ARNpi permettent aussi l'inactivation des gènes en formant un complexe avec la protéine PIWI, une sous-famille de protéine argonaute. Toutefois, les ARNpi sont générés à partir d'ARN simple brins précurseurs, ne nécessitant donc pas l'enzyme Dicer, et ne peuvent se lier qu'aux protéines PIWI. Ceux-ci forment alors un complexe RISC avec la protéine PIWI (Zhang *et al.* 2019). La différence entre les complexes RISC des miARN, des pARNi et des ARNpi est présentée à la Figure 9.

Les lARNm sont une classe d'ARN non codants d'une longueur d'environ 200 nucléotides. Ils régulent eux aussi l'expression des gènes de diverses manières : modification aux histones, recrutement de facteurs de transcriptions, liaison avec l'ARN polymérase II, épissage alternatif, influence de la stabilité des ARNm, accès

aux miARN, recrutement de polysome et modulation de l'expression des gènes dans des cellules voisines via la vésicule extracellulaire (Fernandes *et al.* 2019). Toutefois, ils peuvent aussi être précurseur de petits ARN non codants comme les miARN et les ARNpi (Röther et Meister 2011). Les eARN et les ARNcirc sont deux classes d'ARNnm impliquées dans les mécanismes de régulation de l'expression des gènes (Lam *et al.* 2014; Fernandes *et al.* 2019; Zhang *et al.* 2019).

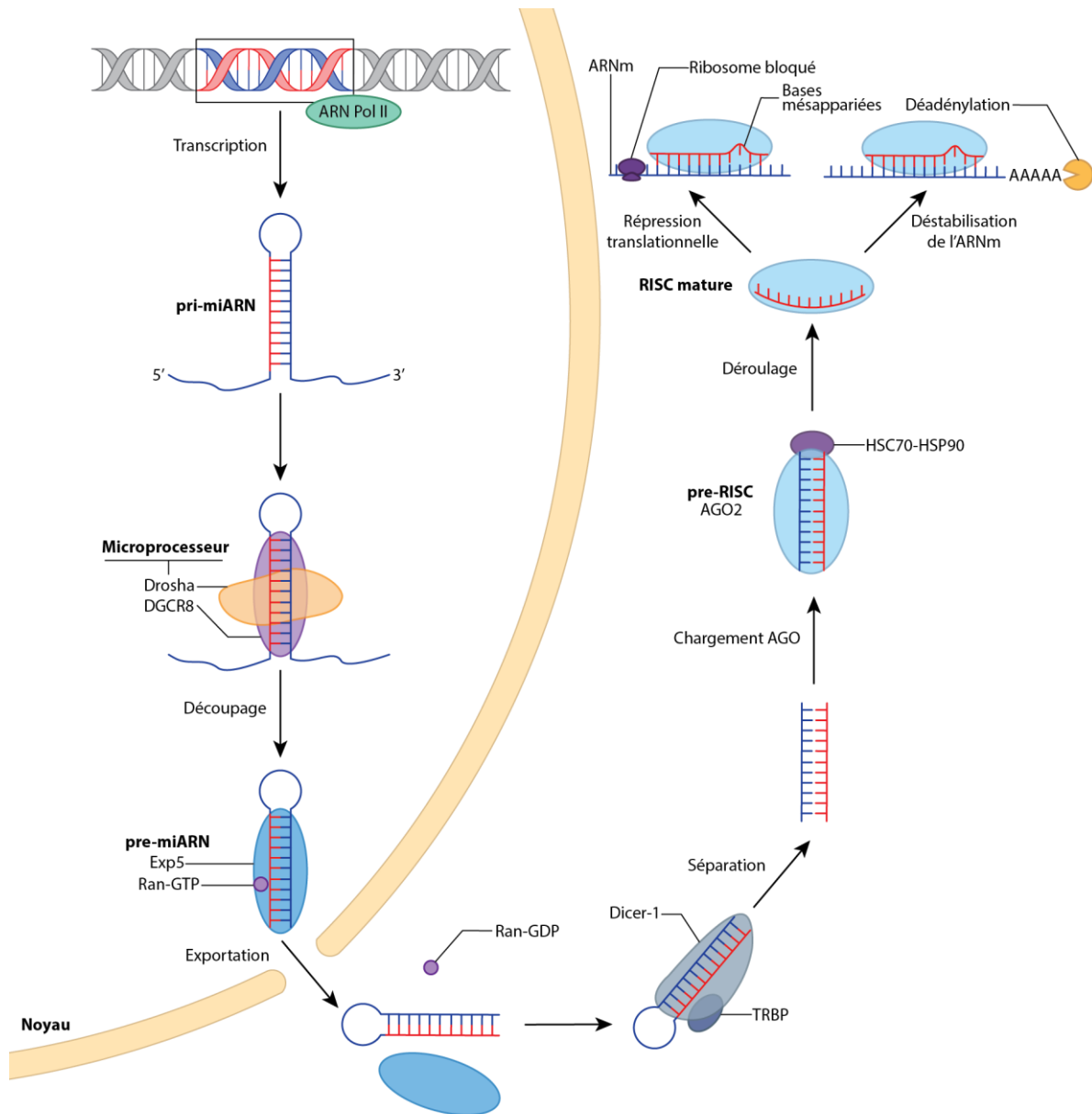


Figure 7 : Biogénèse des miARN et régulation des ARNm
(assemblée de Ha et Kim 2014; van Rooij et Kauppinen 2014; Afonso-Grunz et Müller 2015)

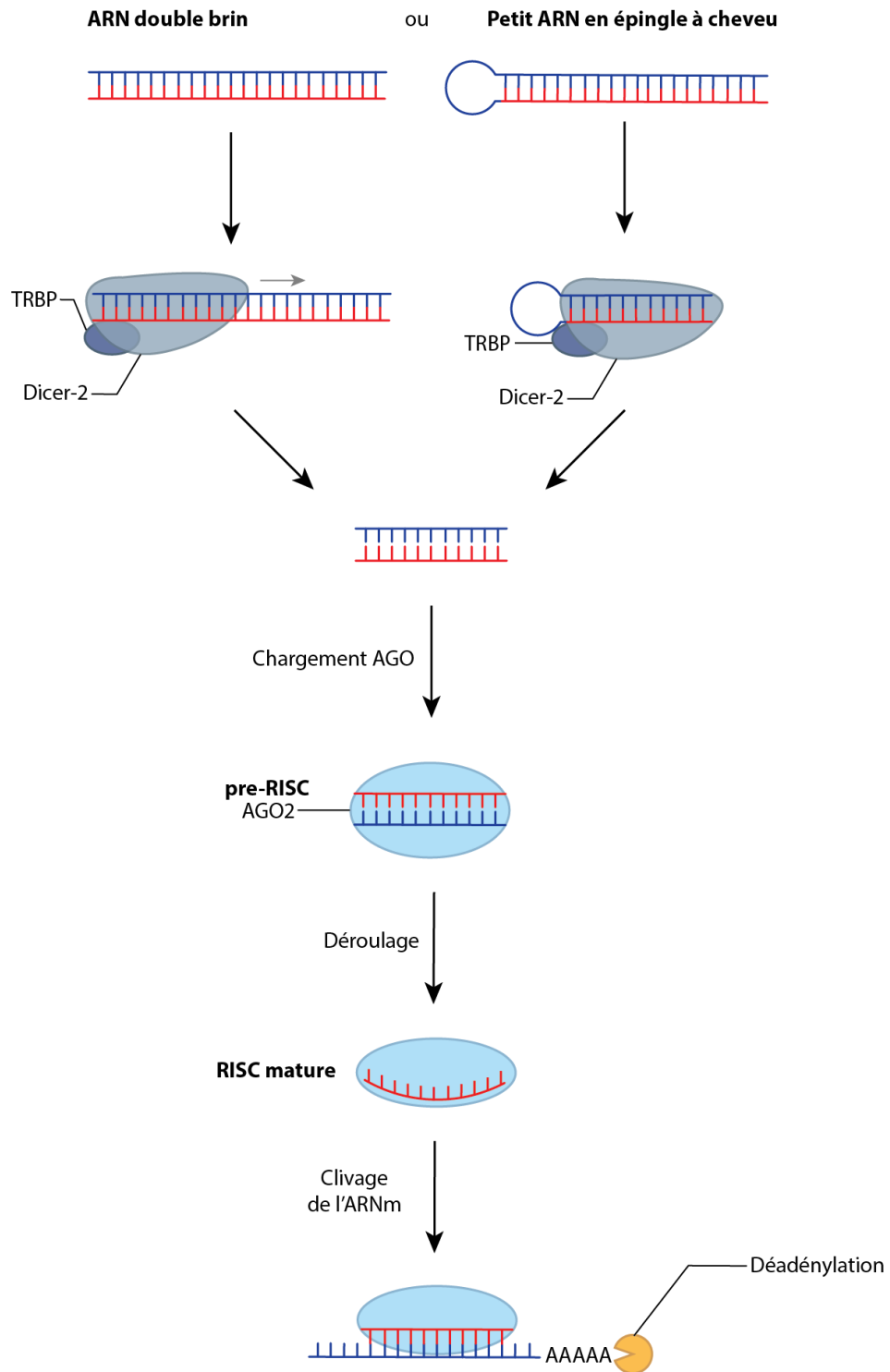


Figure 8 : Biogénèse des pARNi et régulation des ARNm
(assemblée de Ghildiyal et Zamore 2009; Hu *et al.* 2020)

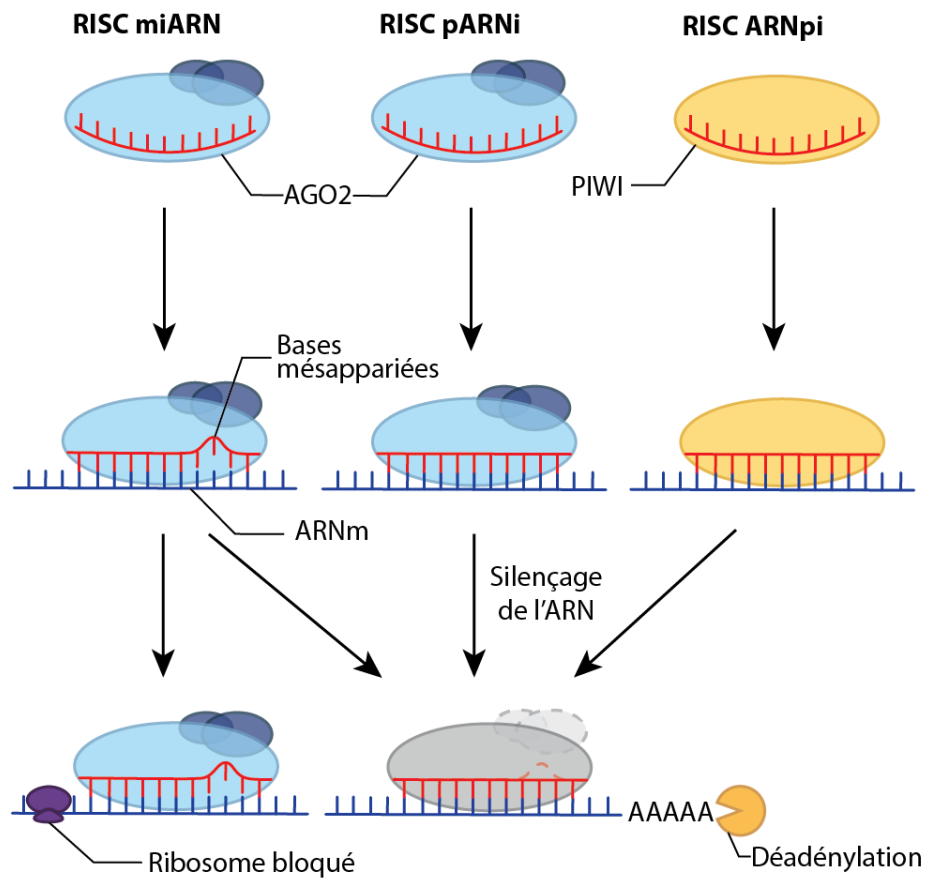


Figure 9 : Différence entre les complexes RISC des miARN, pARNi et ARNpi
(traduite de Jeang 2012)

Chapitre 3 Épigénétique des maladies allergiques

3.1 Épigénétique de la dermatite atopique

Jusqu'à présent, peu d'études épigénétiques se sont concentrées spécifiquement sur la dermatite atopique. C'est le cas notamment de l'étude par Ferreira et al. qui a identifié 36 gènes avec des sites de méthylation associés à une expression différentielle de l'expression de ces gènes entre des individus atteints de différentes maladies allergiques, incluant l'eczéma, l'asthme allergique et l'allergie. De plus, ils ont trouvé une association entre le statut fumeur des individus et le niveau de méthylation de *PITPNM2* (Ferreira et al. 2017), un gène probablement impliqué dans la fonction des neutrophiles (Yan et Novak 1999; Kamen et al. 2011). Une autre étude a permis de retrouver 490 CpG différemment méthylés entre des individus atteints d'eczéma et des témoins (sans eczéma ni autres maladies allergiques). Parmi ceux-ci, ils ont retrouvé des sites différemment méthylés dans IL-4 et IL-13 (Boorgula et al. 2019) deux interleukines déjà associées à la production d'IgE et à la réponse respiratoire (Kasaian et al. 2013). Enfin, deux études se sont concentrées sur les patrons de méthylation des gènes *NLRP2* (Thürmann et al. 2018) et *SIRL-1* (Kumar et al. 2017), de même que l'effet sur l'expression de ces gènes. Ces études ont permis de démontrer l'influence de certains polymorphismes nucléotidiques sur l'expression des gènes et de l'associer à la dermatite atopique.

Au niveau des miARN, deux approches principales différentes ont été utilisées, soient celles mesurant des niveaux différentiels de miARN dans des tissus lésionnels de la dermatite atopique et celles mesurant les niveaux dans le sérum des individus atteints de dermatite atopique et en les comparant à des témoins sans dermatite atopique.

En utilisant la première méthodologie, Yang et al. ont retrouvé une diminution du miR-124 dans les tissus lésionnels d'individus atteints de dermatite atopique (Yang et al. 2017c). Li et al., quant à eux, ont observé qu'une diminution du miARN let-7a-5p pourrait sur-réguler le récepteur de chimiokine CCR7 (Li et al. 2019a) impliqué dans l'activation des lymphocytes T (Calabresi et al. 2003). Ils ont aussi retrouvé une expression différentielle du miR-143 dont la cible est *DENND1B*, un gène connu pour son implication dans la prolifération des lymphocytes T (Yang et al. 2016). Enfin, les auteurs ont posé l'hypothèse selon laquelle la diminution du miR-26 régulerait l'expression du gène *HAS3*, lui-même surexprimé chez les individus atteints de dermatite atopique (Malaisse et al. 2014). Une dernière étude par Ding et al. a quant à elle permis de retrouver 182 miARN différemment régulés entre les individus atteints de dermatite atopique et les témoins, dont plusieurs étaient différemment régulés lorsqu'exposés à l'IL-4 (Ding et al. 2016); une interleukine (IL) connue pour son implication dans le développement de la dermatite atopique (Bao et al. 2018). En somme, la recherche de miARN différemment régulés dans les tissus lésionnels d'individus atteints de dermatite atopique permet une meilleure compréhension des mécanismes d'action de ces miARN sur la maladie (Martin et al. 2020).

Des études des niveaux d'expression des miARN dans le sérum ont quant à elles permis de retrouver des patrons différentiels de miARN entre les individus atteints de dermite atopique et les témoins, contribuant à la compréhension du développement de ces maladies et permettant souvent de retrouver des miARN pouvant servir de biomarqueurs de ces maladies d'une manière peu invasive pour les personnes atteintes (Martin *et al.* 2020). Ainsi, le miR-144 a été retrouvé comme étant augmenté dans le sérum du cordon ombilical des enfants qui ont développé de la dermite atopique à l'âge d'un an (Dissanayake *et al.* 2019). De même, les niveaux de miR-151a et miR-409 étaient augmentés chez des individus atteints natifs de Chine, en comparaison avec des témoins alors que le miR-146a ne possédait pas de différence entre les individus atteints et les témoins (Carreras-Badosa *et al.* 2018; Chen *et al.* 2018), malgré qu'il ait été précédemment associé aux voies biologiques liées à l'inflammation et à la réponse immunitaire (Sonkoly *et al.* 2008; Quinn et O'Neill 2011). En fait, certains miARN sont différemment régulés entre des individus atteints de dermite atopique et des témoins, le Tableau 6 présente donc un résumé de ces miARN et de leur fonction dans la maladie.

Tableau 6 : miARN potentiellement impliqués dans la dermite atopique
(traduit de Weidner *et al.* 2020b)

miARN	Fonction	Cible	Références
miR-21	Augmenté dans la dermite atopique	ND	(Sonkoly <i>et al.</i> 2007)
miR-146a	Augmenté dans la peau et les kératinocytes des individus atteints de dermite atopique; soulage l'inflammation chronique dans un modèle murin	IRAK1 CARD10 CCL5	(Meisgen <i>et al.</i> 2014; Rebane <i>et al.</i> 2014; Urgard <i>et al.</i> 2016; Hermann <i>et al.</i> 2017; Li <i>et al.</i> 2017b; Srivastava <i>et al.</i> 2017; Carreras-Badosa <i>et al.</i> 2018)
miR-155	Influencerait le développement de dermite atopique en sous-régulant CTLA-4 dans les lymphocytes T et en modulant le développement des lymphocytes T _H 17	CTLA-4 SOCS1	(Sonkoly <i>et al.</i> 2010; Bondanese <i>et al.</i> 2014; Ma <i>et al.</i> 2015)
miR-151a	Altéré dans le plasma sanguin des individus atteints, contribuerait au biais T _H 2 et à la pathogénèse de la dermite atopique	IL12RB2	(Chen <i>et al.</i> 2018)
miR-143	Réduirait l'influence de l'IL-13 dans les kératinocytes épidermiques	IL-13R α 1	(Zeng <i>et al.</i> 2016)
miR-124	Réduirait l'inflammation dans les tissus lésionnels de la dermite atopique	P65	(Yang <i>et al.</i> 2017c)
miR-223	Augmenté dans le sang complet des individus atteints de dermite atopique	ND	(Jia <i>et al.</i> 2018a)
miR-10a	Augmenté dans la peau des individus atteints, inhibe la prolifération des kératinocytes	MAP3K7 HAS3	(Vaher <i>et al.</i> 2019)

3.2 Épigénétique de la rhinite allergique

D'une manière similaire, tant la méthylation de l'ADN que les microARN ont une influence sur le développement et les manifestations de la rhinite allergique. Des études ont notamment démontré l'implication de la méthylation de certains sites CpG dans des cellules sanguines périphériques mononuclées et dans les cellules épithéliales des voies respiratoires d'enfants atteints de dermatite atopique (Stefanowicz *et al.* 2012), de même que dans les cellules sanguines lors d'une confrontation aux allergènes (Nestor *et al.* 2014). De plus, une hypométhylation a été observée dans deux études distinctes au site CpG38 chez des individus sensibilisés aux acariens (Li *et al.* 2016a; Li *et al.* 2016b). En outre, une étude a permis d'établir un lien entre l'hyperméthylation de Foxp3 au passage de la rhinite allergique de la mère à ses enfants (Tan *et al.* 2018). Dans cette étude, des souris femelles sensibilisées à l'allergène Der p1 étaient accouplées à des mâles non sensibilisés. Ils ont observé un niveau de méthylation de la région promotrice Foxp3 plus élevée dans les lymphocytes de la rate, de même qu'une augmentation du niveau d'IL-4 et une réduction du niveau d'IL-10. Ils ont aussi observé que le niveau de méthylation de la région Foxp3 revenait à la normale en huit semaines après l'absence de sensibilisation à l'allergène. Cette étude démontre donc le caractère transmissible de la rhinite allergique, mais aussi sa réversibilité si l'enfant n'est pas soumis à une sensibilisation précoce aux allergènes (Tan *et al.* 2018). Enfin, d'autres études ont démontré un lien entre le niveau de méthylation différentiel de certains sites et le risque accru de développer de la rhinite allergique. C'est le cas notamment de la région IFN- γ (Li *et al.* 2016a; Li *et al.* 2016b; Li *et al.* 2018b; Li *et al.* 2019b) connue pour son implication dans la rhinite allergique (Teixeira *et al.* 2005; Bayrak Degirmenci *et al.* 2018), de même que dans les régions de STAT5A et CRIP1 chez des enfants atteints de rhinite allergique (Stefanowicz *et al.* 2012).

Par ailleurs, divers miARN ont aussi été retrouvés comme différemment régulés dans la rhinite allergique. Ces miARN agiraient sur diverses voies biologiques et réguleraient la réponse immunitaire dans la rhinite allergique, lorsque confrontée à un allergène. Le Tableau 7 résume donc les microARN différemment exprimés entre des individus atteints de rhinite allergique et des témoins.

Tableau 7 : miARN potentiellement impliqués dans la rhinite allergique

miARN	Fonction	Cible	Références
let-7	Modulation de la sécrétion d'IL-13 et de l'inflammation de type 2	JAK1/STAT3 IL-13 SOCS4	(Kumar <i>et al.</i> 2011; Suojalehto <i>et al.</i> 2014; Li <i>et al.</i> 2018a)
miR-206	Régulateur de la voie biologique VEGF	S100A7A	(Panganiban <i>et al.</i> 2016)
miR-338-3p	Inhibiteur de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine et inducteur de transition épithéliale-mésenchymale	Wnt/ β -caténine	(Panganiban <i>et al.</i> 2016)
miR-329	Inconnue	TGF- β 1	(Panganiban <i>et al.</i> 2016)
miR-26a	Modulation des voies de signalisation dépendantes de TGF- β et répression de la réponse inflammatoire en promulguant la réponses des lymphocytes T via l'inhibition de NF- κ B	SMAD2 SMAD3	(Panganiban <i>et al.</i> 2016)
miR-7	Inconnue	CMKLR1	(Shaoqing <i>et al.</i> 2011)
miR-498	Suppression de la différenciation des lymphocytes T _H 17 via STAT3	STAT3	(Suojalehto <i>et al.</i> 2014; Panganiban <i>et al.</i> 2016)
miR-187	Régulation de la réponse des lymphocytes T via CD276	CD276	(Shaoqing <i>et al.</i> 2011; Suojalehto <i>et al.</i> 2014)
miR-143	Régulation de la différenciation des lymphocytes T de mémoire	TGF- β 1	(Shaoqing <i>et al.</i> 2011; Suojalehto <i>et al.</i> 2014)
miR-886	Régulation de la voie de signalisation TGF via SMAD3	SMAD3 FoxO1	(Shaoqing <i>et al.</i> 2011; Suojalehto <i>et al.</i> 2014)
miR-224	Régulation de la voie de signalisation TGF via SMAD4	SMAD4	(Shaoqing <i>et al.</i> 2011; Suojalehto <i>et al.</i> 2014)
miR-155	Défense de l'hôte, modulation de la voie de signalisation IL-13 dans les macrophages déterminant le phénotype M2	IL13Ra1	(Rodriguez <i>et al.</i> 2007; Kohlhaas <i>et al.</i> 2009; Martinez-Nunez <i>et al.</i> 2011; Suojalehto <i>et al.</i> 2013)
miR-205	Activation de la voie de signalisation ERK17	MICAL2	(Suojalehto <i>et al.</i> 2014)
miR-572	Régulation de l'expression des cytokines de type 1	SOCS1	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-1228	Régulation de la réponse de type 2	PPAR	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-483	Inhibition de TGF- β 1	TGF- β 1	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-1908	Inhibition de TGF- β 1	SMAD2 SMAD3 MMP2	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-126	Contre-régulation de l'effet de l'IL-4	VEGF IRS1	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-92a	Régulation de l'effet de l'IL-4	WNT5a	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-125a	Réduit la voie de signalisation TLR via IL-10 et supprime A20	TLR A20	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-19a	Active la signalisation TGF- β	TGF- β 1	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-106a	Régulation de l'activité autophagique	NOD1/2	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-181c	Sous-régule l'ostéo-pontine, moule TGF	SPP1	(Jia <i>et al.</i> 2018b)
miR-18a	Régulation de la voie TGF	CTGF	(Panganiban <i>et al.</i> 2016)

3.3 Épigénétique de l'asthme

La majorité des études épigénétiques dans l'asthme des dernières années s'est faite sur les patrons de méthylation de l'ADN, en utilisant deux types d'approches : l'approche pangénomique et l'approche par gène candidat. Ainsi, les études par gène candidat ont permis de démontrer l'implication de la méthylation du récepteur adrénergique β_2 (*ADRB2*) dans le sang dans le développement d'asthme sévère. L'étude avait en outre permis de démontrer l'effet du dioxyde d'azote (NO_2), un polluant connu, sur ces patrons de méthylation (Fu *et al.* 2012). Toutefois, plus d'études doivent être réalisées en ce sens, puisqu'une autre, dont la méthodologie était similaire, a révélé que la méthylation de *ADRB2* réduisait la dyspnée chez les enfants (Gaffin *et al.* 2014).

De plus, des études pangénomiques de méthylation ont associé l'hypométhylation de l'arachidonate 12-lipoxidase (*ALOX12*) dans des échantillons de sang avec un risque accru de respiration sifflante (Morales *et al.* 2012), de l'*IL-13*, de *RUNX3* et de *TIGIT* dans le sang à l'asthme (Yang *et al.* 2015) et *IL5RA* à l'asthme chez les adolescents (Arathimos *et al.* 2017). Le Tableau 8 présente un résumé des études de méthylation dans l'asthme et les phénotypes associés.

Tableau 8 : Études de méthylation dans l'asthme chez l'enfant et les phénotypes associés
(traduit de Gomez 2019)

Phénotype	Tissu	Gènes	Référence
Asthme chez l'enfant	Sang	<i>ADRB2</i>	(Fu <i>et al.</i> 2012)
Asthme chez l'enfant	Sang et buccal	<i>ADRB2</i>	(Gaffin <i>et al.</i> 2014)
Asthme chez l'enfant	Sang	<i>ALOX12</i>	(Morales <i>et al.</i> 2012)
Asthme chez l'enfant	Sang	<i>IL13</i> , <i>RUNX3</i> , <i>TIGIT</i>	(Yang <i>et al.</i> 2015)
Asthme chez l'enfant	Sang	<i>IL5RA</i>	(Arathimos <i>et al.</i> 2017)
Asthme chez l'enfant	Sang	14 sites	(Xu <i>et al.</i> 2018)
Asthme chez l'enfant	Sang du cordon ombilical	<i>GATA3</i>	(Barton <i>et al.</i> 2017)
Niveau d'IgE	Sang du cordon ombilical	<i>C7orf50</i> , <i>ZAR1</i>	(Peng <i>et al.</i> 2018)
Respiration sifflante	Taches de sang	<i>AXL</i>	(Gao <i>et al.</i> 2017)
Asthme chez l'enfant	Buccal	<i>ARG2</i>	(Breton <i>et al.</i> 2011)
Asthme chez l'enfant	Buccal	<i>FOXP3</i>	(Miller <i>et al.</i> 2017)
Asthme chez l'enfant	Épithélium des voies respiratoires	<i>STAT5A</i>	(Stefanowicz <i>et al.</i> 2012)
Asthme chez l'enfant	Épithélium des voies respiratoires	<i>IL-6</i> , <i>NOS2</i>	(Baccarelli <i>et al.</i> 2012)
Asthme chez l'enfant	Épithélium des voies respiratoires	<i>ALOX15</i> , <i>POSTN</i>	(Yang <i>et al.</i> 2017b)
Asthme chez l'enfant	Épithélium des voies respiratoires	<i>CDHR3</i> , <i>CHD26</i>	(Xu <i>et al.</i> 2018)

De même, diverses études dans l'asthme chez l'adulte ont retrouvé des patrons de méthylation influençant le développement de la maladie. C'est le cas notamment de la méthylation de la protocadhérine-20 (*PCDH20*)

dans les cellules d'expectoration chez les adultes atteints d'asthme et fumeurs (Sood *et al.* 2012). D'autres patrons de méthylation ont été associés à l'utilisation de corticostéroïdes inhalés, au compte d'éosinophiles, à des mesures respiratoires, de même qu'à la réponse inflammatoire (Nicodemus-Johnson *et al.* 2016). Enfin, une étude a permis de déterminer des patrons de méthylation différentiels entre deux phénotypes d'asthme différents : l'asthme neutrophile et l'asthme éosinophile. Cette étude démontre donc que des patrons de méthylation peuvent différer dépendamment du phénotype d'asthme (Gunawardhana *et al.* 2014).

Les études de miARN dans l'asthme sont relativement récentes, mais aussi largement hétérogènes quant à leur méthodologie et aux types de tissus utilisés. Par exemple, des études dans l'asthme et la rhinite allergique ont démontré une augmentation de miR-498, miR-155 et miR-205 dans des biopsies nasales d'un groupe de rhinite allergique et une diminution de la famille de let-7 dans un groupe de rhinite allergique et d'asthme (Suojalehto *et al.* 2013). À l'opposé, une autre étude a démontré une diminution de miR-155 et de let-7 et un patron de miR-498 similaire chez des individus atteints d'asthme (Suojalehto *et al.* 2014). Ces résultats démontrent bien l'hétérogénéité de l'action des miARN dans l'asthme.

En somme, les miARN peuvent former à la fois des biomarqueurs de la maladie, des avenues thérapeutiques potentielles, de même que contribuer à la compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents à la maladie (Rezaie *et al.* 2018). Plus précisément, des essais sur des modèles murins d'asthme ont démontré que l'inhibition du miR-126 permettait de réduire les symptômes inflammatoires de l'asthme. En fait, son inhibition ciblerait le *Toll Like Receptor 4* (TLR4) en sur-régulant le facteur de transcription PU.1 et en sur-régulant la protéine cible Myb, bloquant par le fait même IL-1 β et TNF- α et réduisant l'inflammation (Mattes *et al.* 2009; Collison *et al.* 2011). Une autre étude sur des modèles murins a permis de démontrer qu'un traitement avec l'anti-miR-221 permettrait de réduire l'infiltration cellulaire et les éosinophiles dans les fluides de lavage bronchoalvéolaires (Qin *et al.* 2012).

La famille de miARN let-7, quant à elle, est largement étudiée dans l'asthme. Une étude a en effet démontré que let-7 se lie au brin 3' du mARN IL-13. De même, dans cette étude, des lymphocytes T polarisés en T et à laquelle une transfection de let-7 a été effectuée ont démontrés une réduction de la production de l'IL-13 (Kumar *et al.* 2011), confirmant ainsi l'implication de cette famille de miARN dans la production de cette IL déjà impliquée dans la production d'IgE et dans l'hypersensibilité bronchique (Kasaian *et al.* 2013; Ito *et al.* 2018). Un autre groupe de recherche a aussi retrouvé une grande expression de la famille let-7 dans les poumons indépendamment de l'exposition à des allergènes. Dans cette étude, l'expression du mARN IL-13 et l'expression de la famille let-7 a été analysée dans des lymphocytes T CD4+ d'un modèle murin d'asthme. Cette étude a démontré que l'expression de l'IL-13 était augmentée alors que celle de let-7 était réduite. L'administration d'anti-let-7 avant la confrontation à l'ovalbumine (OVA *challenge*) dans le modèle murin d'asthme résultait en une

réduction du niveau d'IL-13, de même qu'une réduction de la réponse exagérée des voies respiratoires, de l'infiltration cellulaire et de la production de mucus (Polikepahad *et al.* 2010).

Enfin, peu d'études se sont concentrées sur les profils de miARN différentiels dans des cellules isolées dans l'asthme, en particulier sur ces profils dans les éosinophiles, un type de cellules pro-inflammatoires dont la prolifération est caractéristique à certains phénotypes d'asthme (Drake *et al.* 2018). En fait, une étude par Rodrigo-Muñoz *et al.* a retrouvé 21 miARN différemment régulés dans l'asthme et propose un outil de diagnostic à partir de ceux-ci (Rodrigo-Muñoz *et al.* 2019). Une autre étude de Allantaz *et al.* a quant à elle retrouvé une diminution du miR-155 dans les éosinophiles; posant ainsi l'hypothèse selon laquelle ce miARN serait lié aux processus inflammatoires de diverses maladies (Allantaz *et al.* 2012). Dans d'autres types cellulaires, notamment les lymphocytes CD4⁺, les miARN miR-15a, miR-15b et miR-20b étaient diminués chez des patients atteints d'asthme allergique en comparaison avec des témoins non-allergiques (Nakano *et al.* 2013). En fait, divers miARN ont été retrouvés comme étant différemment exprimés dans l'asthme, tout dépendant du type cellulaire. Chacun d'eux semble lié à diverses fonctions dans la pathogénèse et les manifestations de la maladie (Tableau 10).

Ainsi, l'implication des miARN dans l'asthme semble prometteuse tant pour des voies thérapeutiques de la maladie que comme biomarqueurs contribuant au diagnostic de celle-ci. En fait, il est possible de noter que plusieurs miARN semblent différemment régulés dans plus d'une maladie allergique (Tableau 9). Toutefois, plus d'études demeurent nécessaires quant à l'implication des miARN dans les maladies allergiques, en particulier relativement aux cibles visées par ceux-ci.

Tableau 9 : miARN différemment régulés dans plusieurs maladies allergiques
(tiré de Lu et Rothenberg 2013)

miARN	Asthme	Œsophagite à éosinophile	Dermite atopique	mARN cible dans l'inflammation allergique
Différemment régulé dans les trois maladies				
let-7c	↓	↓	↓	IL-13
miR-21	↑	↑	↑	IL-12p35
miR-142-5p	↑	↑	↑	
miR-142-3p	↑	↑	↑	
miR-146a	↑	↑	↑	STAT1
miR-193b	↓	↓	↓	
miR-223	↑	↑	↑	IGF1R
Différemment régulé dans deux des trois maladies				
let-7a	↓	ND	↓	IL-13
let-7b	↓	ND	↓	IL-13
let-7d	↓	ND	↓	IL-13
miR-146b	↑	↑	ND	
miR-155	↑	ND	↑	CTLA4
miR-365	ND	↓	↓	
miR-375	ND	↓	↓	

Tableau 10 : miARN et leur effet dans l'asthme
(traduit de Sastre *et al.* 2017)

Modèle à l'étude	miARN	Gènes cibles	Signification	Référence
Cellules des muscles lisses des voies respiratoires	miR-221	P21 ^{WAF1} p27 ^{kip1}	Régulation de la prolifération des cellules	(Perry <i>et al.</i> 2014)
Cellules des muscles lisses des voies respiratoires	miR-10a	PIK3CA	Régulation de la croissance des cellules et prolifération	(Hu <i>et al.</i> 2014)
Cellules des muscles lisses des voies respiratoires	miR-146a miR-146b	Cyclooxygénase-2 IL-1 β HuR	Régulation de l'expression des cytokines et inflammation	(Comer <i>et al.</i> 2014)
Cellules épithéliales des voies respiratoires	miR-570-3p	HuR	Régulation de l'expression des cytokines	(Roff <i>et al.</i> 2014)
Cellules épithéliales des voies respiratoires, modèle murin	miR-3162-3p	β -caténine	Régulation de l'adhésion des cellules et de l'inflammation	(Fang <i>et al.</i> 2016)
Cellules épithéliales bronchiques	miR-18a miR-27a miR-128 miR-155	SMAD2	Régulation de l'expression des cytokines	(Martinez-Nunez <i>et al.</i> 2014)
Cellules épithéliales bronchiques	miR-203	AQP4	Régulation osmotique	(Jardim <i>et al.</i> 2012)
Cellules épithéliales bronchiques	miR-449	NOTCH1	Métaplasie des muqueuses des voies respiratoires	(Solberg <i>et al.</i> 2012)
Cellules épithéliales bronchiques	miR-629-3p	IL-6 IL-8	Régulation de l'expression des cytokines	(Maes <i>et al.</i> 2016)
Modèles murins	miR-155-5p	ACVR2A TAB2	Voie thérapeutique de l'asthme	(Plank <i>et al.</i> 2015)
Lymphocytes T _H 2, modèle murin	miR-19a	SOCS1 A20	Régulation de l'expression des cytokines et inflammation	(Simpson <i>et al.</i> 2014b)
Modèle murin	miR-126	PU.1	Régulation de l'inflammation	(Mattes <i>et al.</i> 2009; Collison <i>et al.</i> 2011)
Modèle murin	Anti-miR-221		Régulation de l'inflammation	(Qin <i>et al.</i> 2012)

Modèle à l'étude	miARN	Gènes cibles	Signification	Référence
Lymphocytes T CD4 ⁺ , modèle murin	Let-7	IL-13	Régulation de l'expression des cytokines et inflammation	(Polikepahad <i>et al.</i> 2010; Kumar <i>et al.</i> 2011)
Lymphocytes T CD4 ⁺	miR-15a	VEGFA	Régulation de l'angiogenèse, migration cellulaire	(Nakano <i>et al.</i> 2013)
Cellules Jurkat, cellules mononucléées sanguines périphériques	miR-1248	IL-5	Régulation de l'inflammation	(Panganiban <i>et al.</i> 2012)
ARN total sanguin	miR-625-5p miR-22-3p miR-513a-5p	CBL PPARGC1B ESR1	Régulation de l'expression des cytokines	(Dong <i>et al.</i> 2016)
ARN du sérum	miR-21	IL-12p35	Régulation de l'expression des cytokines	(Elbehidy <i>et al.</i> 2016)
ARN du sérum	miR-203	sTNFR1 sTNFR2	Régulation de l'expression des cytokines	(Lv <i>et al.</i> 2014)

Chapitre 4 Les cellules impliquées dans les processus inflammatoires des maladies allergiques

L'asthme allergique, de même que les autres maladies de la marche atopique caractérisée par des réactions de type T_H2 . Cette réponse immunitaire implique un grand nombre de cellules, notamment des lymphocytes T $CD4^+$, des lymphocytes B , des cellules lymphoïdes innées du groupe 2 (CL12), des lymphocytes cytotoxiques naturels (NK) producteurs d'IL-4, des lymphocytes T NK, des basophiles, des éosinophiles et des mastocytes, de même que leurs cytokines (Boonpiyathad *et al.* 2019). Ces différentes cellules jouent un rôle important dans l'inflammation de type T_H2 , en sécrétant diverses cytokines favorisant l'inflammation.

En fait, lors d'une réaction allergique, les allergènes stimulent la production des anticorps IgE. Plus spécifiquement, le récepteur $Fc\epsilon RI$ (CD23) régule la production d'IgE et la différenciation des lymphocytes B . Les IgE se lient aux CD23 lorsque présentés à un allergène, formant un complexe antigène-IgE réduisant le seuil d'activation des lymphocytes T et favorisant une polarisation T_H2 (Froidure *et al.* 2016). L'inflammation de type T_H2 est d'ailleurs l'une des caractéristiques centrales de l'asthme allergique, lorsqu'exposé aux allergènes inhalés (Platts-Mills et Woodfolk 2011). De plus, l'implication des IgE dans les maladies allergiques ne se limite pas à la polarisation de type T_H2 ; elles ont un effet sur la fonction, l'activation et le relâchement des éosinophiles et augmentent l'expression d'intégrine et le relâchement de $TNF-\alpha$ (Matucci *et al.* 2018), de même que sur l'activation de la production d'IL-4, IL-5, IL-13, $TNF-\alpha$, TSLP et des chimiokines CCL5, CCL11, CXCL8 et CXCL10 par les muscles lisses des voies respiratoires, causant le remodelage des voies respiratoires et favorisant l'accumulation de cellules des muscles lisses des voies respiratoires (Ferreira *et al.* 2018).

Tant les cellules circulantes que résidentes ont un rôle à jouer dans l'inflammation liée à l'asthme et aux maladies allergiques. En fait, les cellules dendritiques induisent la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes T matures. De là, les exosomes issus de divers types cellulaires peuvent induire une réponse inflammatoire en stimulant la prolifération des lymphocytes T , en stimulant et en activant la production de cytokines T_H2 , en favorisant le recrutement de granulocytes tels que les éosinophiles ou en produisant des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) (Sastre *et al.* 2017). La Figure 10 résume le rôle de certaines cellules dans les processus inflammatoires de l'asthme et des maladies allergiques. Les principales cellules impliquées dans ces réactions seront présentées subséquentement dans ce chapitre.

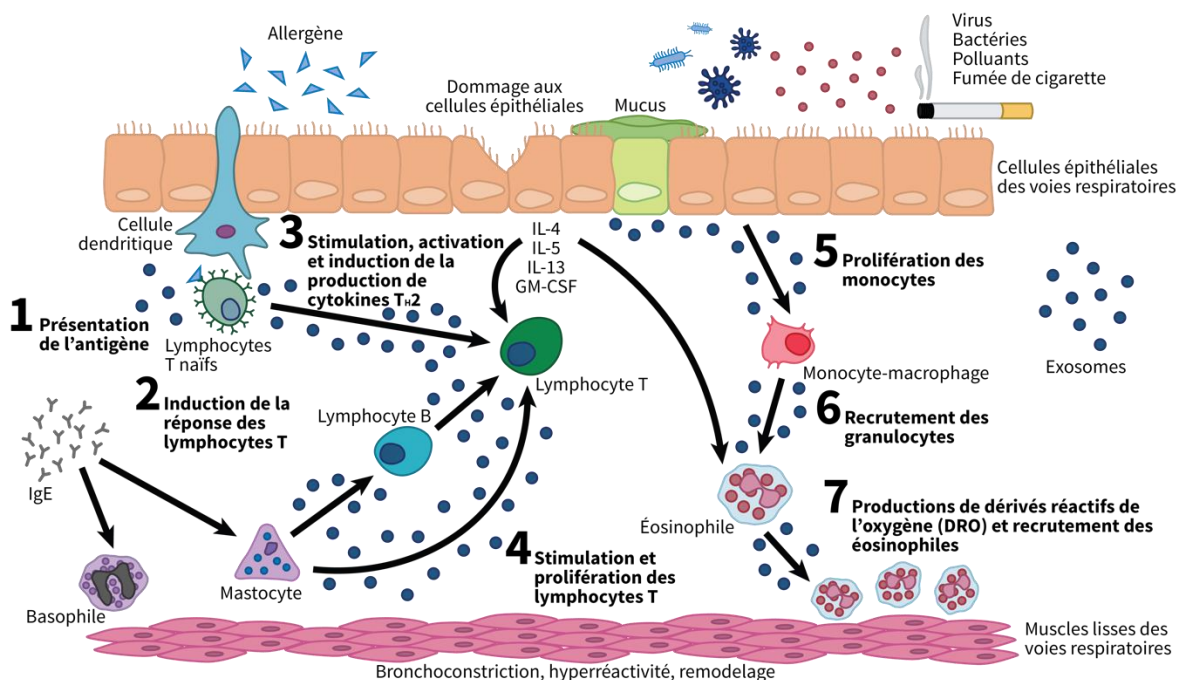


Figure 10 : Cellules impliquées dans l'asthme et les maladies allergiques (adaptée de Sastre *et al.* 2017)

4.1 Cellules circulantes

4.1.1 Lymphocytes T_H2

Les lymphocytes T_H2 jouent un rôle central dans l'inflammation allergique en produisant l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, trois cytokines connues pour leur implication dans l'asthme allergique. En fait, l'IL-4 induirait la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes T $CD4^+$ (Russkamp *et al.* 2019). L'IL-5, quant à elle, serait responsable de la maturation des éosinophiles et de leur envoi dans la moelle osseuse (Hassani et Koenderman 2018). Enfin, l'IL-13 favoriserait la prolifération de cellules endothéliales et de lymphocytes B producteurs d'IgE (Mitamura *et al.* 2018). Plus précisément, l'hyperréactivité face à un allergène est complexe et nécessiterait deux étapes : la sensibilisation lors d'une première exposition à un allergène, suivi d'une seconde exposition. Lors de ce processus de sensibilisation, plusieurs cellules sont impliquées, tant dans les poumons que dans les nœuds lymphatiques. C'est ainsi que l'IL-33 induirait l'expression de cytokines T_H2 , activant par le fait même les basophiles et des éosinophiles (Valero *et al.* 2017).

4.1.2 Cellules lymphoïdes innées du groupe 2

Les CL12 sont responsables de la production de cytokines de type 2 telles que l'IL-4, l'IL-5, l'IL-9 et l'IL-13. L'IL-5 et l'IL-13 sont deux cytokines pro-inflammatoires régulées par les CL12 qui favoriseraient la sensibilisation aux allergènes et la dysfonction de la barrière épidermique (Mitamura *et al.* 2018; Russkamp *et al.* 2019). Des études

d'un modèle murin ont aussi démontré qu'une carence en lymphocytes B et T activait les CL12 et induisait une éosinophilie et une hyperréactivité bronchique (Hassani et Koenderman 2018). Enfin, les cytokines IL-10 et TGF- β réduiraient la production d'autres cytokines favorisant la résistance aux stéroïdes dans les réactions allergiques par les CL12 (Lei *et al.* 2008). En somme, toutes ces cytokines régulées par les CL12 semblent jouer un rôle important dans les réactions inflammatoires liées à l'allergie, démontrant ainsi l'importance de ces cellules dans les maladies allergiques.

4.1.3 Lymphocytes T_H9

Les lymphocytes T_H9 sont responsables de la production d'IL-9, une cytokine qui induirait de l'inflammation éosinophile, de l'hyper-sécrétion de mucus ainsi qu'une hyperréactivité des voies respiratoires (Ohtomo *et al.* 2010). Précédemment, il a été démontré que des individus atteints d'asthme allergique avaient un plus grand compte cellulaire de lymphocytes T_H9 et une plus grande concentration d'IL-9 en circulation (Hoppenot *et al.* 2015; Jia *et al.* 2017). Il a été démontré que l'IL-9 réduirait la production d'IFN- γ et augmenterait la sécrétion d'IgE (Jia *et al.* 2017). Enfin, l'IL-9 serait impliquée dans l'asthme résistant aux stéroïdes, bien que l'anticorps monoclonal anti-IL-9 n'a pas démontré de bénéfices dans le traitement de ce phénotype d'asthme (Saeki *et al.* 2017).

4.1.4 Lymphocytes cytotoxiques naturels

Récemment, des études ont démontré que les lymphocytes cytotoxiques naturels (NK) étaient activés lors de la confrontation à un allergène *in vitro*. En fait, ils favoriseraient l'inflammation éosinophile, la réponse immunitaire de type 2, la sensibilisation aux allergènes ainsi que l'hyperréactivité des voies respiratoires, contribuant ainsi à l'exacerbation de l'asthme allergique (Gorska 2017). Des études ont démontré une activité cytotoxique accrue dans les cellules sanguines périphériques d'individus atteints d'asthme (Timonen et Stenius-Aarniala 1985; Jira *et al.* 1988), de même qu'un nombre accru de lymphocytes NK dans le sang d'individus asthmatiques (Lin *et al.* 2003). De plus, une étude de Barnig *et al.* a montré une corrélation positive entre le nombre de lymphocytes NK dans le sang et le compte d'éosinophiles sanguins, de même qu'une corrélation positive entre le compte d'éosinophiles et l'expression des protéines CD69 et NKG2D à la surface des lymphocytes NK. Leur étude a aussi permis de déterminer que les lymphocytes NK pouvaient entraîner l'apoptose des éosinophiles chez des individus atteints d'asthme sévère (Barnig *et al.* 2013). En fait, les lymphocytes NK auraient une influence sur l'immunité de type 1, 2 ou 3; dépendamment des facteurs influençant l'activation de ces lymphocytes (Gorska 2017).

4.1.5 Éosinophiles

Les éosinophiles sont des granulocytes impliqués dans un grand nombre de fonctions régulatrices. Chez les individus en santé, les éosinophiles ne forment qu'une petite partie du sang complet, mais lorsque recrutés, ils

peuvent entraîner des effets pro-inflammatoires, notamment en favorisant l'apoptose ou en perturbant la barrière épithéliale (Brusselle *et al.* 2018). Les éosinophiles se développent et se différencient dans la moelle osseuse; lorsqu'à l'extérieur de la moelle osseuse, ils sont généralement considérés matures, mais des études récentes ont observé des sous-types d'éosinophiles spécifiques aux tissus (Rose *et al.* 2010; Verjan Garcia *et al.* 2011; Wen *et al.* 2012). Différentes cytokines sont impliquées dans la différenciation et la survie des éosinophiles et, par le fait même, aux réactions inflammatoires provoquées par ceux-ci (Hogan 2009). C'est le cas notamment de l'IL-5 produite par les lymphocytes T_H2 (Upadhyaya *et al.* 2011) de même que les ILC2 (Nussbaum *et al.* 2013). La Figure 11 présente les mécanismes impliqués dans le recrutement des éosinophiles après l'exposition à un allergène.

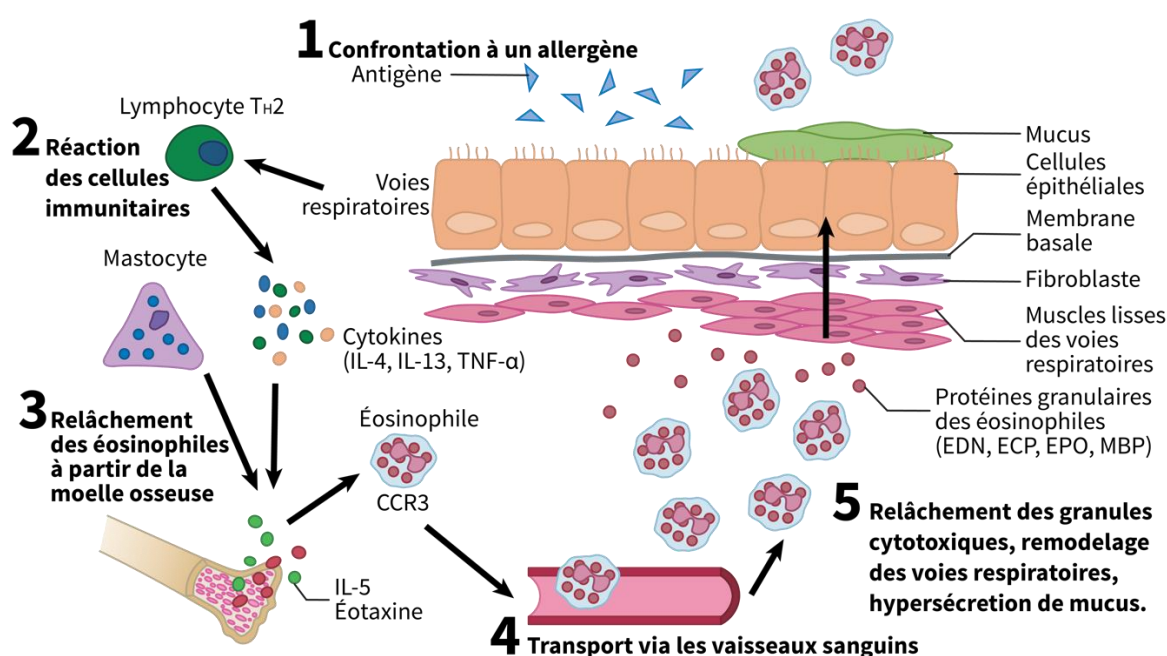


Figure 11 : Étapes du recrutement des éosinophiles lors de la confrontation à un allergène (adaptée de Possa *et al.* 2013)

Les éosinophiles contiennent des granules cytotoxiques qui sont relâchées lors de la dégranulation. Ces protéines toxiques relâchées lors du processus de dégranulation sont : des neurotoxines dérivées des éosinophiles (EDN), des protéines cationiques des éosinophiles (ECP), des éosinophiles peroxydase (EPO), des protéines basiques majeures (MBP), de même que des cystéinyl-leucotriènes (cysLT) (Nakagome et Nagata 2018). Suite à un stimulus, les éosinophiles sont recrutés à partir du sang par des chimiokines régulatrices d'éosinophiles telles que l'éotaxine vers un site inflammatoire, notamment vers les poumons des individus asthmatiques lors de la confrontation à un allergène (Conroy et Williams 2001). De fait, l'éotaxine et son récepteur CCR3 ont démontré un plus grand niveau d'expression chez des individus asthmatiques en comparaison avec les témoins (Ying *et al.* 1997).

Dans l'asthme, tant les éosinophiles sanguins que tissulaires jouent un rôle dans l'inflammation face à un allergène. Les éosinophiles tendent à s'accumuler aux sites inflammatoires et favorisent le développement de l'asthme allergique (Terl *et al.* 2017). De plus, les éosinophiles pourraient être impliqués dans le remodelage des voies respiratoires en produisant des TGF- β et des cysLT (Wong *et al.* 1991). Plus précisément, il semblerait que les cysLT seraient impliqués dans l'accumulation d'éosinophiles dans les voies respiratoires des individus atteints d'asthme (Laitinen *et al.* 1993). Une étude par Pham *et al.* a quant à elle démontré qu'un traitement de l'asthme par Benralizumab réduisait non seulement le compte d'éosinophile, mais qu'il entraînait aussi une réduction considérable de certaines granules cytotoxiques relâchées par ceux-ci, soient les EDN et les ECP, démontrant donc l'effet positif de la réduction des éosinophiles pour le contrôle de l'asthme (Pham *et al.* 2016). En somme, les éosinophiles agissent sur l'hyperréactivité des voies aériennes, la production de mucus, les dommages tissulaires incluant une desquamation des cellules épithéliales ainsi que sur le remodelage des voies respiratoires incluant une hyperplasie et hypertrophie du muscle lisse, épaissement apparent de la membrane basale causé par une productivité accrue des fibres de collagène; les mécanismes impliqués lors du recrutement des éosinophiles dans l'asthme sont présentés à la Figure 12.

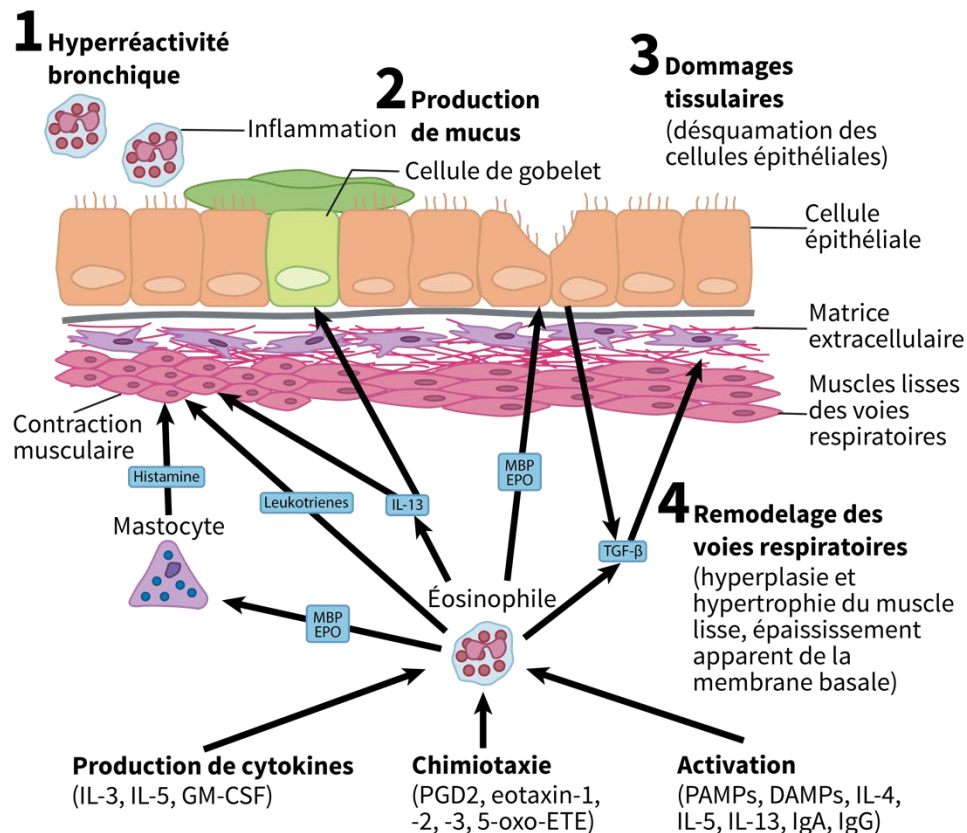


Figure 12 : Implications pro-inflammatoires des éosinophiles dans l'asthme (adaptée de McBrien et Menzies-Gow 2017)

4.4 Cellules résidentes

4.2.1 Mastocytes

Les mastocytes ont une influence importante dans le développement de l'asthme allergique. Ils ont un effet sur les muscles lisses des voies respiratoires, sur la sécrétion de mucus, de même que dans le remodelage des tissus des voies respiratoires (Boonpiyathad *et al.* 2019). En fait, les mastocytes favoriseraient le remodelage des voies respiratoires en relâchant des protéases telles que les tryptases, ainsi que des facteurs de croissance (Amin 2012). En fait, ces tryptases induiraient l'hyperplasie des muscles lisses des voies respiratoires et l'accumulation de collagène dans les voies respiratoires d'individus asthmatiques (Abraham 2002). De plus, les mastocytes stimulent la production de cytokines T_H2 grâce à son grand niveau d'expression de récepteurs IL-33 (Brightling *et al.* 2002). Même si l'accumulation de mastocytes peut être retrouvée dans tous les phénotypes d'asthme, elle est plus caractéristique de l'asthme allergique (Amin *et al.* 2000). D'une manière similaire, les mastocytes sont plus actifs chez des individus atteints d'asthme allergique en comparaison avec ceux atteints d'asthme non-allergique (Brightling *et al.* 2002).

4.2.2 Cellules dendritiques

Le rôle des cellules dendritiques dans les maladies allergiques est central : elles permettent de traduire un signal provenant de l'exposition à un allergène en une réponse immunitaire spécifique à l'allergène des lymphocytes T (Gill 2012). Pour ce faire, les cellules dendritiques peuvent être directement activées par l'allergène, mais plus généralement, sont influencées par d'autres cellules immunitaires (Vroman *et al.* 2017). En fait, les cellules dendritiques se distinguent en quatre types : les cellules dendritiques conventionnelles, les cellules dendritiques plasmacytoïdes, les cellules dendritiques inflammatoires ainsi que les cellules Langerhans (Balan *et al.* 2019). Plus précisément, les cellules dendritiques conventionnelles sont divisées en deux sous-types, soient les cellules dendritiques de type 1 (cDC1) et de type 2 (cDC2). Les cDC2 sont largement impliquées dans la différenciation des lymphocytes T_H2 et T_H17 dans certains phénotypes d'asthme (Boonpiyathad *et al.* 2019). Dans le cas de l'asthme allergique, l'inhalation d'un allergène pousse les cDC2 à migrer vers les tissus bronchiques, causant par le fait même une augmentation des récepteurs d'IL-25 sur les cellules dendritiques conventionnelles et plasmacytoïdes (Tworek *et al.* 2016). De plus, lors d'une réaction allergique, les antigènes liés aux IgE sont introduits dans les lymphocytes T CD4+ spécifiques par les cellules dendritiques et ces cellules dendritiques conventionnelles produisent l'IL-9 chez des individus asthmatiques, menant à une polarisation T_H9 (Froidure *et al.* 2014).

4.2.3 Cellules épithéliales

La première voie d'entrée des pathogènes aériens est via les voies respiratoires. En ce sens, la première ligne de défense contre ses pathogènes est composée de l'épithélium des voies respiratoires. Du dommage à cet

épithélium entraîne par le fait même une inflammation, souvent précurseur d'asthme (Boonpiyathad *et al.* 2019). En fait, lorsque la barrière épithéliale est endommagée, des cytokines telles que les TSLP, IL-25 et IL-33 sont relâchées (Licona-Limón *et al.* 2013), activant ainsi les cellules lymphoïdes innées du groupe 2 (ILC2) et favorisant la production de cytokines T_H2 (Roan *et al.* 2019). De plus, une variété de cytokines endommage la barrière épithéliale et favorisent les réactions allergiques. C'est le cas notamment de l'IL-4 et de l'IL-13 (Saatian *et al.* 2013). Les cellules dendritiques favoriseraient quant à elle la polarisation de type T_H2 et par le fait même la sensibilisation aux allergènes. Ainsi, la cellule dendritique $CD11c^+$ activerait les lymphocytes T_H2 $CRTH2^+$ qui favoriseraient ladite polarisation, le tout sous la stimulation des TSLP (Wang *et al.* 2006). Enfin, le rôle des TSLP ne s'arrête pas là. Les TSLP joueraient en effet un rôle dans la différenciation des cellules $CD4^+$ et $CD8^+$ en lymphocytes T_H2 (Kitajima *et al.* 2011). Elles favoriseraient aussi l'expression de GATA3 dans les ILC2 et encourageraient le développement d'IL-4 et d'autres cytokines T_H2 (Mjösberg *et al.* 2012) et augmenteraient de façon significative l'inflammation éosinophile en retardant leur apoptose (Wong *et al.* 2010; Cianferoni et Spergel 2014).

Chapitre 5 Le rôle régulateur des microARN des éosinophiles dans les maladies incluses dans la marche atopique

Émile Bélanger^{1,2}, Anne-Marie Madore^{1,2}, Anne-Marie Boucher-Lafleur^{1,2}, Marie-Michelle Simon³, Tony Kwan^{3,4}, Tomi Pastinen^{3,4,5}, Catherine Laprise^{1,2}.

¹Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, Québec, G7H 2B1, Canada;

²Centre intersectoriel en santé durable, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, Québec, G7H 2B1, Canada;

³Department of Human Genetics, McGill University, Montréal, Québec, H3A 0C7, Canada;

⁴McGill University and Genome Québec Innovation Centre, Montréal, Québec, H3A 0G1, Canada;

⁵Center for Pediatric Genomic Medicine, Kansas City, MO, 64108, USA.

5.1 Avant-propos

Cet article a été soumis et accepté (octobre 2020) dans le *International Journal of Molecular Sciences (Int J Mol Sci)* et a été publié le 27 novembre 2020.

Contribution des auteurs à l'article : Conceptualisation et supervision, C.L.; Acquisition du financement, C.L. et T.P.; Ressources, A.M.B.L., M.M.S., T.K., T.P. et C.L.; Analyses formelles, E.B. et A.M.M.; Préparation du manuscrit original, E.B.; Révision et édition, A.M.M. et C.L.

Financement : Anne-Marie Boucher-Lafleur a reçu une bourse du Fonds de recherche en santé du Québec (FRQS) et une bourse de maîtrise du Réseau de recherche en santé respiratoire (RSR). Ce projet est soutenu par des subventions d'opérations des Instituts de recherche en Santé du Canada (IRSC, Laprise et Pastinen, #133605). Catherine Laprise est membre du RSR (<https://rsr-qc.ca/>), directrice du Centre intersectoriel en santé durable (CISD) et titulaire de la Chaire de recherche du Canada en environnement et génétique des troubles respiratoires et de l'allergie (<http://www.chairs.gc.ca>).

Remerciements : Nous tenons à remercier les participants recrutés dans la cohorte d'asthme du Saguenay–Lac-Saint-Jean (SLSJ) pour leur contribution à cette étude.

Conflits d'intérêts : Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Matériel supplémentaire : Le matériel supplémentaire peut être retrouvé à l'annexe A.

Mots clés : microRNAs; miRNAs; eosinophils; atopic march; asthma; allergy; gene expression; sequencing

Source : Bélanger, É., A. M. Madore, A. M. Boucher-Lafleur, M. M. Simon, T. Kwan, T. Pastinen and C. Laprise. "Eosinophil micrnas play a regulatory role in allergic diseases included in the atopic march." *Int J Mol Sci* 21 (2020): 10.3390/ijms21239011.

5.2 Résumé

(1) Contexte : La marche atopique se définit par une prévalence accrue des maladies allergiques après l'apparition de dermatite atopique. En fait, la dermatite atopique serait largement impliquée dans la sensibilisation aux allergènes via la barrière cutanée endommagée, menant à d'autres maladies allergiques telles que l'asthme allergique et la rhinite allergique. Les éosinophiles, un type de cellules pro-inflammatoires contribuant aux dommages des cellules épithéliales, sont l'une des nombreuses cellules recrutées dans les réactions inflammatoires caractérisant ces maladies. Peu d'études se sont consacrées à l'étude du transcriptome de ce type cellulaire, et encore moins sur les patrons de microARN (miARN), qui pourraient moduler la pathogénèse des maladies allergiques et les manifestations cliniques d'une manière post-transcriptionnelle. De fait, leur implication dans les maladies allergiques n'est pas entièrement comprise, mais ils joueraient un rôle important dans les patrons inflammatoires et dans la prolifération des cellules épithéliales. (2) Méthodes : Du séquençage nouvelle génération a été réalisé sur des échantillons d'ARN des éosinophiles d'individus atteints de dermatite atopique, d'atopie, de rhinite allergique et d'asthme afin de retrouver le compte différentiel de pri-miARN. Ils ont aussi été analysés pour des phénotypes liés à l'asthme tels que le VEMS, le niveau d'IgE et la CP₂₀, de même que l'index de Tiffeneau. (3) Résultats : Dix-huit miARN des éosinophiles ont été identifiés comme significativement différemment exprimés entre les individus atteints et les individus non-atteints. En se basant sur le compte de ces miARN, les individus ont ensuite été groupés en utilisant la méthode de Ward sur des distances Euclidiennes. Les groupes étaient expliqués par le diagnostic d'asthme, l'historique familial de maladies respiratoires et de rhinite allergique, de même que par le compte cellulaire de neutrophiles. (4) Conclusion : Ces 18 miARN différemment régulés dans les phénotypes à l'étude permettent une meilleure compréhension des mécanismes épigénétiques sous-jacents au développement des maladies allergiques incluses dans la marche atopique.

5.3 Abstract

(1) Background: The atopic march is defined by the increased prevalence of allergic diseases after atopic dermatitis onset. In fact, atopic dermatitis is believed to play an important role in allergen sensitization via the

damaged skin barrier, leading to allergic diseases such as allergic asthma and allergic rhinitis. The eosinophil, a pro-inflammatory cell that contributes to epithelial damage, is one of the various cells recruited in the inflammatory reactions characterizing these diseases. Few studies were conducted on the transcriptome of this cell type and even less on their specific microRNA (miRNA) profile, which could modulate pathogenesis of allergic diseases and clinical manifestations post-transcriptionally. Actually, their implication in allergic diseases is not fully understood, but they are believed to play a role in inflammation-related patterns and epithelial cell proliferation. (2) Methods: Next-generation sequencing was performed on RNA samples from eosinophils of individuals with atopic dermatitis, atopy, allergic rhinitis and asthma to get differential counts of pri-miRNA. These last were also analyzed for asthma-related phenotypes such as FEV₁, IgE and PC₂₀ levels, as well as FEV₁/FVC ratio. (3) Results: Eighteen miRNAs from eosinophils were identified to be significantly different between affected individuals and unaffected ones. Based on counts from these miRNAs, individuals were then clustered into groups using Ward's method on Euclidian distances. Groups were found to be explained by asthma diagnosis, familial history of respiratory diseases and allergic rhinitis as well as neutrophil counts. (4) Conclusion: The 18 differential miRNA counts for the studying phenotypes allow a better understanding of the epigenetic mechanisms underlying the development of the allergic diseases included in the atopic march.

5.4 Introduction

Allergic diseases (which include atopic dermatitis, food allergy, allergic asthma, and allergic rhinitis) are noncommunicable diseases that have seen the greatest increase in prevalence in the last decades, a phenomenon described as the “allergy epidemic” (Platts-Mills 2015). In the past ten years, allergy prevalence and hospitalization rates for severe allergic reactions has tripled (Mullins *et al.* 2015) and our understanding of the root causes of allergic diseases has seen a complete paradigm shift (du Toit *et al.* 2016). In fact, the atopic march is defined by an increased prevalence of allergic diseases in individuals with atopic dermatitis. The latter, long considered only an epiphenomenon of allergies, has now clearly been shown to play a central role in their development. The inflamed and disrupted skin barrier of infants with atopic dermatitis allows the penetration of food and environmental allergenic proteins, leading to sensitization, the first step in becoming allergic. This explains why children with atopic dermatitis are at a high risk of developing food allergy (35% prevalence), allergic asthma (50%), and allergic rhinitis (75%) later in life (Carlsten *et al.* 2013). Not only is the incidence of these diseases increased with atopic dermatitis, but they are also much more severe when compared to children without a history of atopic dermatitis (Carlsten *et al.* 2013).

Allergic asthma, which can happen at final stages of the atopic march, is a chronic inflammatory disease characterized by symptoms of wheezing, shortness of breath, chest tightness, cough and variable expiratory airflow limitation (Glf). Asthma is often associated with airway hyperresponsiveness and chronic inflammation in reaction to various stimuli including allergens, infections and air pollutants. Causes of asthma are multiple; they

include environmental and genetic factors (Mims 2015). Indeed, familial history of asthma was found to be an important risk factor for the development of the disease, which is characterized by a calculated heritability of 55 to 90% (Hernandez-Pacheco *et al.* 2019). However, heritability only explains partially the disease prevalence in the atopic march process. Another part of this prevalence could also be explained by epigenetic mechanisms such as DNA methylation, histone modification and non-coding RNAs (Lovinsky-Desir et Miller 2012). More studies need to be done to better understand the influence of these mechanisms on diseases of the atopic march, especially concerning miRNA profiles.

miRNAs are small non-coding RNAs with 19–25 nucleotides that regulate gene expression post-transcriptionally. They silence complementary genes by targeting the 3' untranslated region of mRNA, repressing their expression (Lu et Rothenberg 2018). Their maturation includes a primary (pri-miRNA, up to 1,000 nucleotides long) and a precursor (pre-miRNA, 60–120 nucleotides long) steps (Lee *et al.* 2002). miRNAs act on various pro-inflammatory mechanisms in asthma and on smooth muscle cell proliferation, promoting airway hyperresponsiveness and playing an essential role in its pathogenesis (Maneechotesuwan 2019). Some miRNAs were also found to influence both the differentiation of T helper cells (Ma *et al.* 2015) and the innate immune response in keratinocytes of atopic dermatitis patients (Rebane *et al.* 2014), and to be differentially expressed in subjects with rhinitis and other allergic diseases (Suojalehto *et al.* 2013; Wu *et al.* 2015).

Difference in miRNA profiles was also associated with other asthma-related phenotypes. Methacholine challenge (PC₂₀), forced expiratory volume in one second (FEV₁) and FEV₁ to forced vital capacity (FEV₁/FVC) ratio are all measures used as diagnostic tools or indicators of asthma severity (Schneider *et al.* 2009; Nair *et al.* 2017). Few studies have focused on miRNA expression predicting these phenotypes, but all three were previously associated with differential counts for certain miRNAs (Kho *et al.* 2016; Davis *et al.* 2017; Trinh *et al.* 2017). Finally, the differences in miRNA patterns that were observed for various diseases could lead to the identification of potential biomarkers for atopic dermatitis, asthma or other allergic diseases and even of potential therapeutic targets (Lovinsky-Desir et Miller 2012; Levänen *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2014; Kai *et al.* 2015; Wang *et al.* 2015; Bin et Leung 2016; Dissanayake et Inoue 2016; Maneechotesuwan 2019; Mousavi *et al.* 2019).

Moreover, few studies have demonstrated differential miRNA patterns in eosinophils, a type of pro-inflammatory cells whose proliferation in airways is characteristic of certain asthma phenotypes (Drake *et al.* 2018). A study by Rodrigo-Muñoz *et al.* found that miRNAs in these cells that are peripheral can serve as potential diagnostic tools (Rodrigo-Muñoz *et al.* 2019). Another study by Allantaz *et al.* has shown a down-regulation of miR-155 in eosinophils that could be implicated in inflammatory processes (Allantaz *et al.* 2012). Studying miRNA profiles from cell types well-known for their implication in asthma is important considering the cell-type-specific characteristics of the transcriptome.

In this study, we sought to determine if some miRNAs were differentially expressed between individuals with allergic diseases included in the atopic march process and unaffected ones. We also wanted to see if they could be grouped based on their miRNA expression counts associated with diseases of the atopic march and phenotypes.

5.5 Results

This study used pri-miRNA expression counts from 145 individuals of the Saguenay–Lac-Saint-Jean (SLSJ) asthma familial cohort sampled for eosinophils in order to better understand underlying epigenetic mechanisms of diseases included in the atopic march process. The counts were analyzed for atopic dermatitis, atopy, allergic rhinitis, asthma, and asthma-related phenotypes (FEV₁, IgE levels, PC₂₀ and FEV₁/FVC ratio). A clustering approach with significant miRNAs was then applied to identify potential explanations regarding the phenotypes for the differential counts of pri-miRNA between individuals. The phenotypic characteristics of the 145 individuals are accessible in Table 11 and number of individuals presenting overlapping conditions are represented in Figure 13.

Table 11 : Phenotypic characteristics of the individuals included in the eosinophil analysis of the miRNAs

	Eosinophil samples^a (n = 145)	Affected^b (n = 130)	Unaffected^c (n = 15)
M:F ratio	1:1.04	1:1.09	1:0.67
Age, mean (range)	46 (18–81)	45 (18–81)	55 (22–72)
Age, median	47	60	44
Smoking status ^d			
Non-smokers, n (%)	93 (64)	88 (68)	5 (33)
Ex-smokers, n (%)	29 (20)	22 (17)	7 (47)
Smokers, n (%)	22 (15)	19 (15)	3 (20)
PC ₂₀ , mean mg/ml (SD) ^e	1.76 (1.67)	1.5 (1.57)	3.75 (0.76)
IgE, mean µg/l (SD) ^f	4.93 (1.67)	5.09 (1.67)	3.61 (0.97)
FEV ₁ , mean % pred, (range) ^g	94.72 (31–146)	94.25 (31–46)	98.6 (65–119)
FEV ₁ /FVC ratio, mean (range) ^h	79.09 (38–97)	94.25 (38–97)	82.43 (68–96)
White blood cell count ⁱ			
Eosinophil, mean ×10 ⁹ /l (%)	0.25 (3.76)	0.26 (3.96)	0.15 (2.18)
Lymphocyte, mean ×10 ⁹ /l (%)	2.15 (32.12)	2.15 (32.05)	2.03 (31.43)
Monocyte, mean ×10 ⁹ /l (%)	0.52 (7.89)	0.53 (7.88)	0.50 (8.01)
Neutrophil, mean ×10 ⁹ /l (%)	3.80 (55.60)	3.82 (55.45)	3.72 (57.89)
Basophil, mean ×10 ⁹ /l (%)	0.04 (0.78)	0.05 (0.77)	0.04 (0.89)
Asthma, n (%) ^j	89 (61.81)		
Allergic rhinitis, n (%) ^k	54 (37.50)		

Atopic dermatitis, n (%) ⁱ	75 (52.08)		
---------------------------------------	------------	--	--

^aNumber of eosinophil samples for which the sequencing of whole transcriptome data as well as covariates for analyses was available. ^bNumber of affected individuals. Total affected individuals are individuals with either atopic dermatitis, atopy, asthma or allergic rhinitis, or a combination of these diseases. In this sense, depending on the studied phenotype, the number of affected individuals will be lesser while the number of unaffected individuals will be higher. ^cNumber of unaffected individuals. Unaffected individuals were individuals with no disease of the atopic march. ^dEx-smokers are defined as individuals who stopped smoking for at least one year. Smoking status was not available for one individual. ^eThe geometric mean provocative concentration of methacholine inducing a 20% fall in forced expiratory volume in 1 s (PC₂₀), calculated from 130 individuals. ^fThe geometric mean of immunoglobulin E (IgE) levels measured from 142 individuals. ^gThe mean forced expiratory volume in 1 s (FEV₁) as % of predicted value calculated from 138 individuals. ^hThe mean FEV₁ (L)/FVC (forced vital capacity; L) ratio calculated as % for 128 individuals. ⁱWhole blood eosinophil, lymphocyte, monocyte, neutrophil and basophil cell counts obtained using a Coulter LH 780 hematology analyzer. ^jPresent or past documented clinical history of asthma. Status is available for 145 individuals. ^kPersonal history of allergic rhinitis symptoms available for the 145 individuals. ^lPersonal history of atopic dermatitis available for the 145 individuals.

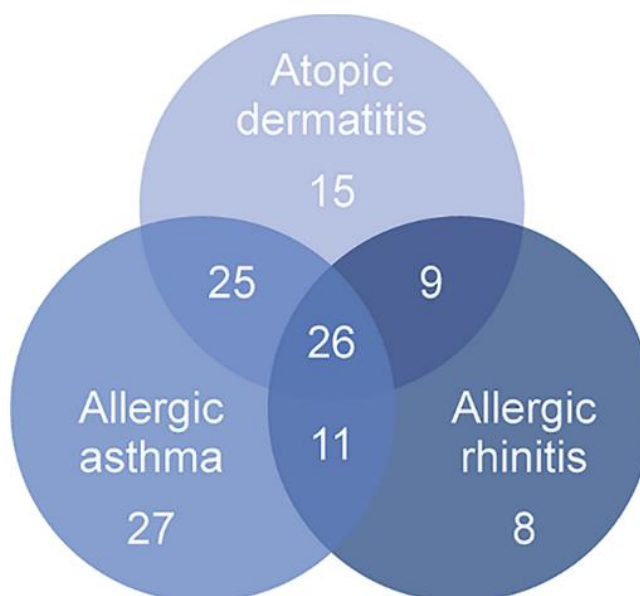


Figure 13 : Number of individuals presenting overlapping conditions of the atopic march
Overall, 75 individuals presented atopic dermatitis, 89 had allergic asthma and 54 had allergic rhinitis. Several of these individuals had overlapping conditions, highlighting the increased risk of presenting an allergic disease as allergic asthma or allergic rhinitis if an individual has atopic dermatitis.

5.5.1 Differential counts of pri-miRNA associated with allergic diseases included in the atopic march

The negative binomial regression model performed for each trait (atopic dermatitis, atopy, asthma, allergic rhinitis, FEV₁, IgE levels, PC₂₀ and FEV₁/FVC ratio) allowed to find 18 miRNAs with significant differences in expression counts for the eosinophil cell type (Table 12). One miRNA was found to be up-regulated in atopic dermatitis (FC = 1.85), ten miRNAs were down-regulated in asthma (FC from -2.57 to -1.10), three miRNAs were

positively correlated with IgE level (rho from 0.02 to 0.19) as well as four miRNAs with PC₂₀ level (rho from 0.11 to 0.18). The distribution of counts for each significant miRNA in accordance with the testing phenotypes is represented in Figure 14.

Table 12 : Significant associations (FDR < 0.05) between pri-miRNAs expression counts and diseases included in the atopic march process or related phenotypes

miRNA	Phenotype observed	P-val	FDR ^a	FC or rho ^b
miR-1276	Asthma	4.511E-04	0.032	-2,136
miR-29B2	Asthma	7.260E-04	0.040	-1,334
miR-3175	Asthma	5.920E-05	0.013	-1,118
miR-33B	Asthma	4.971E-04	0.032	-1,235
miR-4308	Asthma	5.039E-04	0.032	-1,856
miR-4523	Asthma	1.195E-04	0.018	-1,182
miR-4673	Asthma	2.164E-04	0.024	-2,020
miR-4785	Asthma	0.001	0.047	-1,328
miR-590	Asthma	8.479E-04	0.041	-1,100
miR-638	Asthma	1.010E-05	0.004	-2,570
miR-614	Atopic dermatitis	1.190E-06	5.239E-04	1,847
miR-142	IgE	3.940E-08	1.730E-05	0.112
miR-3064	IgE	4.880E-05	0.007	0.185
miR-4434	IgE	4.060E-05	0.007	0.134
miR-1304	PC ₂₀	1.920E-06	8.428E-04	0.105
miR-2355	PC ₂₀	7.120E-05	0.013	0.128
miR-26A2	PC ₂₀	2.054E-05	0.023	0.192
miR-645	PC ₂₀	8.540E-05	0.013	0.024

^aSignificance level for the difference of pri-miRNA expression counts according to phenotypic traits corrected using a false discovery rate (FDR) method. ^bFold change (FC) or Spearman's rho calculated depending on the phenotypic data type. Fold change was calculated for asthma and atopic dermatitis phenotypes. miRNAs with a positive fold change were considered up-regulated in affected individuals while miRNAs with a negative fold change were down-regulated. Spearman's rho was calculated for IgE and PC₂₀ levels. Positive rho values indicate positive correlations between the pri-miRNA counts and the phenotype.

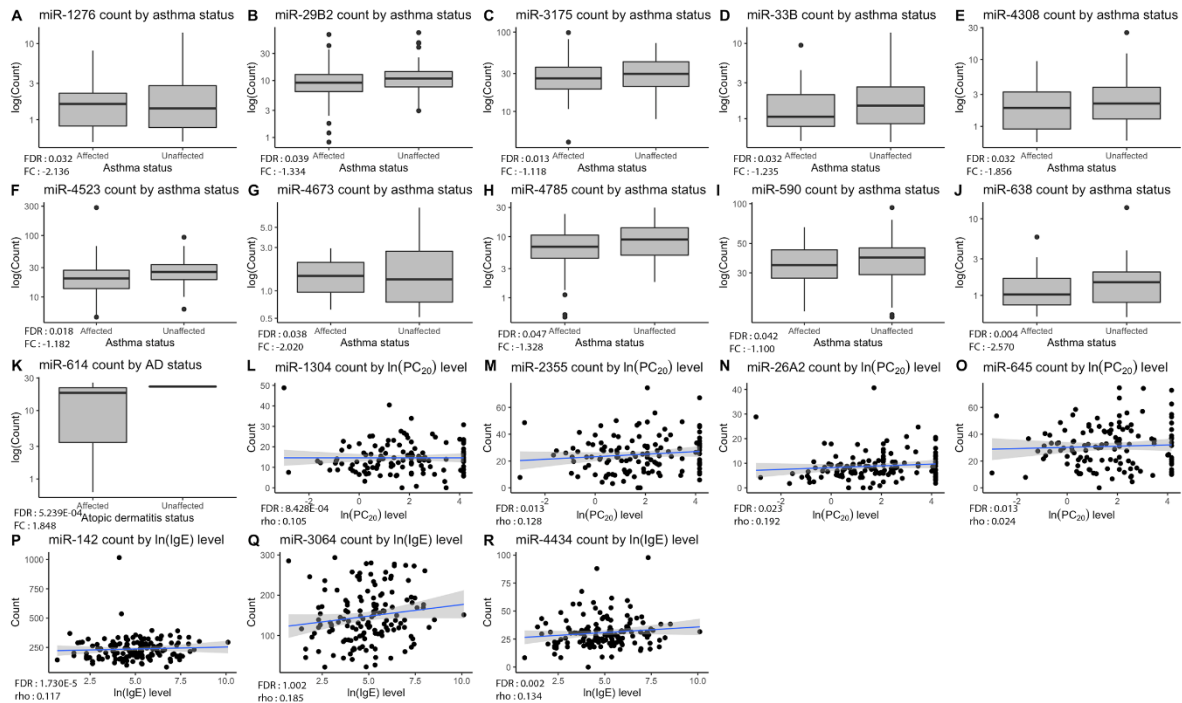


Figure 14 : Significant pri-miRNA expression counts by phenotypes

Plots (a)-(j) show down-regulation of ten pri-miRNAs in asthmatic patients compared to non-asthmatics, while plot (k) shows up-regulation of miR-614 for individuals with atopic dermatitis in comparison with unaffected ones. As for plots (l)-(o), they display positive correlations between miRNAs and PC₂₀ levels. Lastly, plots (p)-(r) show positive correlation between miRNAs and IgE levels. Overall p-value of the analysis is in lower-left corner of each graph with corresponding fold change or Spearman's rho value.

5.5.2 Clustering of significant miRNAs

Using Ward's method on Euclidian distances for the significant miRNAs, six clusters were obtained (Figure 15). Analyses were then performed to define which phenotypic elements characterize them. Clusters 1, 4 and 5 were ignored in analyses because they contained three individuals or less. As for clusters 2, 3 and 6, they included respectively 52, 69 and 19 individuals and were kept for subsequent steps. See supplementary Table 14 (in Appendix A) for a detailed view of all the phenotypes for comparing clusters. These were found to be explained by asthma phenotype, familial history of respiratory diseases and allergic rhinitis as well as neutrophil counts (Figure 16).

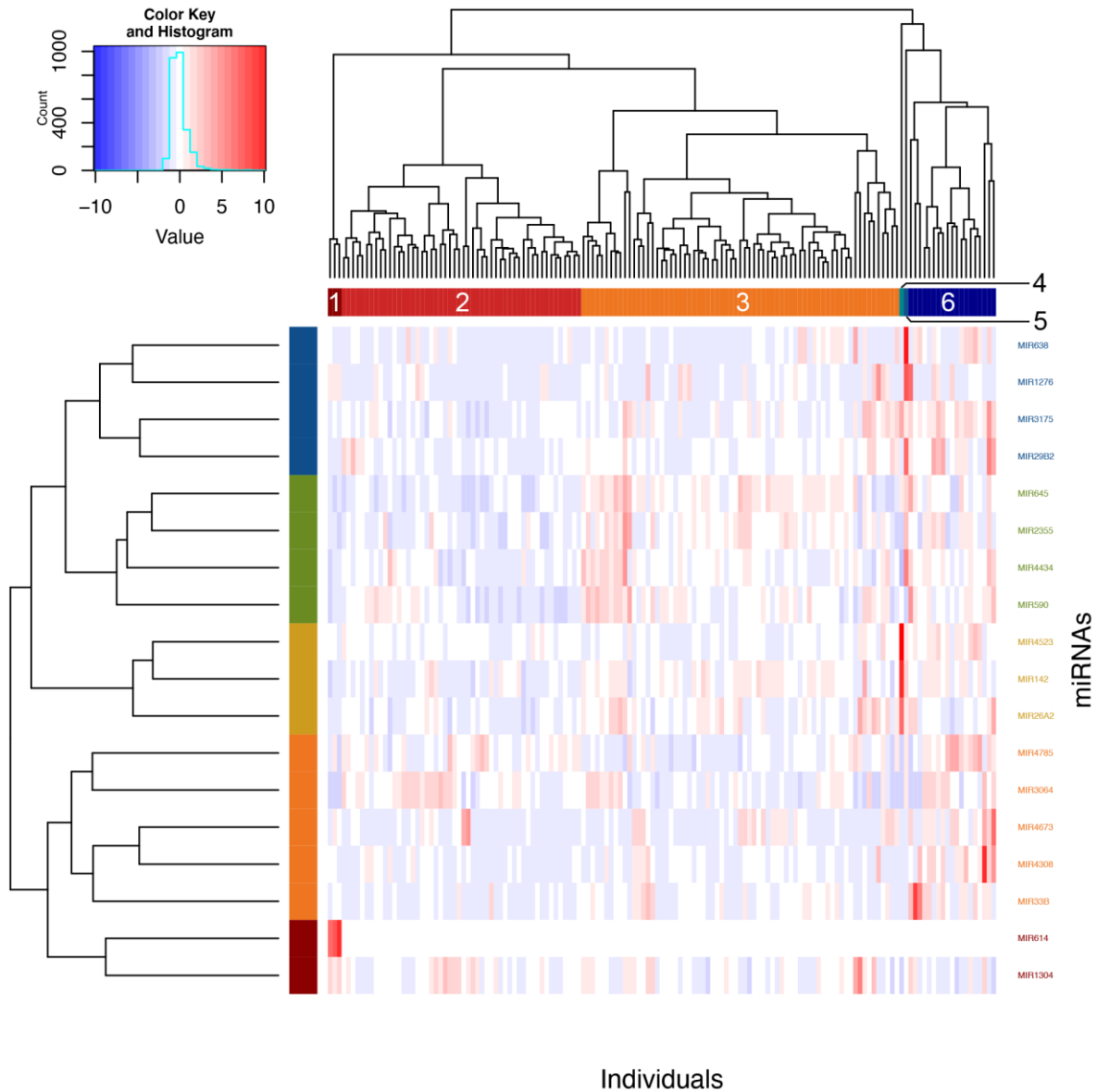


Figure 15 : Clustering of individuals according to significant pri-miRNAs counts
 Individuals were clustered according to expression counts from the 18 associated miRNAs using Ward's method on Euclidian distances. Six clusters were then obtained by visual inspection of the dendrogram and confirmed with the NbClust package in R.

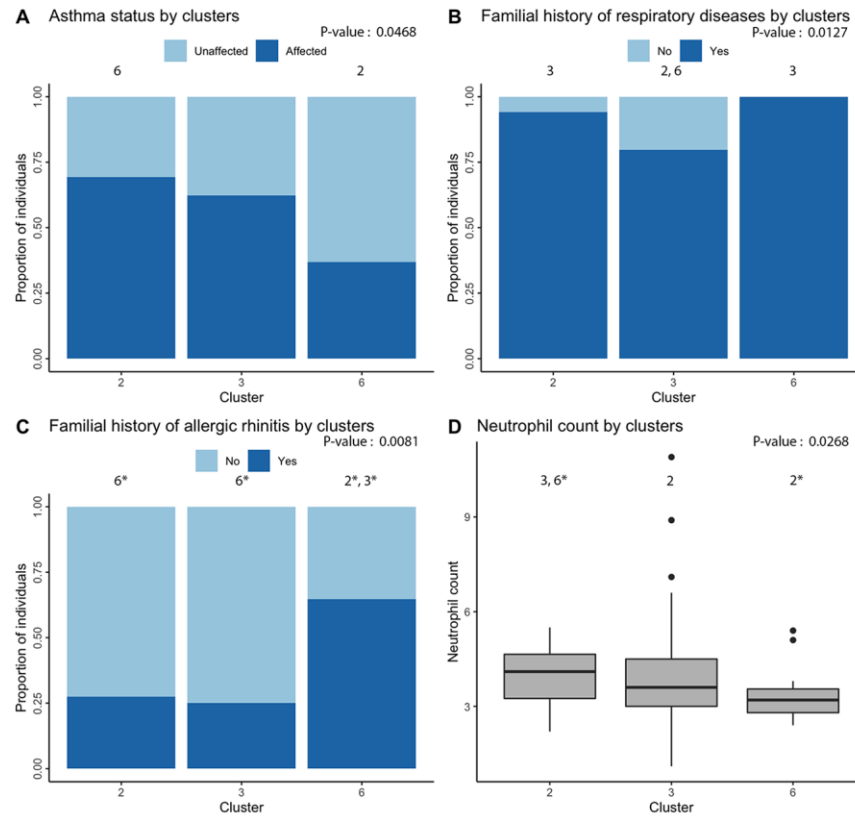


Figure 16 : Phenotypic differences underlying clustering of individuals

Significant differences between individuals of the three main clusters (including more than three people) were found for: (a) asthma; (b) familial history of respiratory diseases; (c) familial history of allergic rhinitis; and (d) neutrophil cell count. Overall p-value of the analysis is in the upper-right corner of each graph and the number above each cluster indicates with which other cluster it shows a significant difference in post-hoc analyses. An asterisk indicates significant difference after Bonferroni correction.

Moreover, looking at Figure 16 and according to post-hoc analyses, cluster 2 was associated with higher diagnosis of asthma as compared with cluster 6 (p-value = 0.027). Cluster 3 was less related to familial history of respiratory diseases as clusters 2 (p-value = 0.033) and 6 (p-value = 0.034). Cluster 6 also had a stronger association with familial history of allergic rhinitis when compared with clusters 2 (p-value = 0.009) and 3 (p-value = 0.003). Finally, cluster 2 had a higher neutrophil count in comparison with clusters 3 (p-value = 0.035) and 6 (p-value = 0.005).

5.5.3 Identification of possible gene targets

In order to better understand underlying mechanisms explaining associations observed between pri-miRNA expression and diseases of the atopic march or clinical measures, correlations were performed to identify possible gene targets. miRNA-gene target pairs with FDR-values inferior to 0.05 and absolute correlation coefficients > 0.2 were deemed significant and further validated using miRTArBase v8.0 (Huang *et al.* 2019). A total of 540 validated miRNA-gene target pairs were found using negative correlations and 663 using positive correlations. According to the inhibition function of miRNAs, results of negative correlations are usually

prioritized. However, a recent study highlighted the mechanisms underlying positive correlations with gene targets, such as in feedback loops and co-transcription of intronic miRNAs and their host genes (Wang *et al.* 2018b), motivating the presentation of positive correlations in this study. The top 25 best negative and positive correlations are displayed in supplementary Table 15 (in Appendix A). They were then classified into PANTHER biological pathways (Mi *et al.* 2005). Among the gene targets identified, 215 from the negative correlations and 353 from the positive ones have been successfully classified by PANTHER. Biological pathways identified were grouped into more general categories shown in Figure 17 (see supplementary Table 16 in Appendix A for the list of PANTHER pathways in each general category).

Finally, gene targets found were compared to the genes already associated with diseases of the atopic march in the GWAS Catalogue (42 for negative correlations and 53 for positives ones) and the SLSJ asthma familial cohort (13 for the negative correlations and 22 for the positive ones; Table 17 in Appendix A). Table 15 represents those of the gene targets that are included in PANTHER biological pathways. Negative correlations included eight gene targets associated in GWAS analyses and four were associated in the SLSJ cohort. Positive correlations included 19 gene targets associated in GWAS and nine were associated in the SLSJ cohort. Total resulting number of targets for positive and negative correlations before and after validation, as well as number of genes found in GWAS Catalogue and literature about the SLSJ asthma familial cohort are detailed in Table 17 of Appendix A.

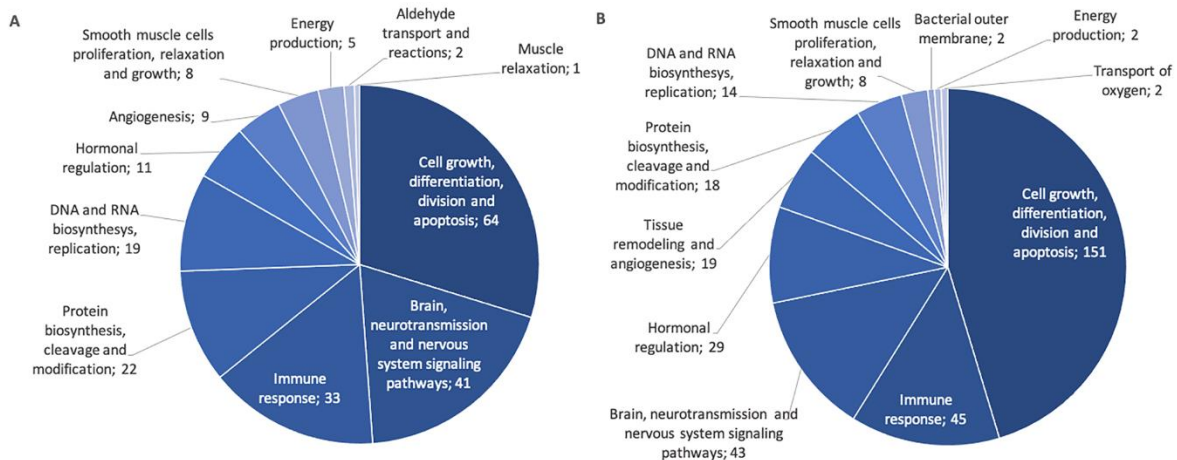


Figure 17 : PANTHER pathway families for gene targets identified in negative and positive correlations with associated miRNAs

The number of genes are indicated for each category. (a) Pathways for negatively correlated miRNA-gene target pairs. (b) Pathways for positively correlated miRNA-gene target pairs.

Table 13 : miRNAs' gene targets previously associated in GWAS as listed by the GWAS Catalogue or in the SLSJ cohort and classified by PANTHER pathways

	Pathway	Nb of gene targets	GWAS associated genes	SLSJ associated genes
Negative correlation	Cell growth, division, differentiation and apoptosis	64	<i>COL15A1, SOCS1, BCL2L1, DUSP2, SSR3</i>	<i>COL15A1, SOCS1</i>
	Immune response	33	<i>FER, IL6</i>	
	Protein cleavage, biosynthesis and modification	21		<i>BACE2</i>
	DNA and RNA synthesis and replication	19		<i>MAT2A</i>
	Aldehyde transport and reactions	2	<i>DCAKD</i>	
Positive correlation	Cell growth, division, differentiation and apoptosis	158	<i>APC, CASP8, CRK, DUSP2, FOS, FRS2, HSPA1B, PRKCD, RTF1, SKI, TGFB1</i>	<i>HSPA1B, HSPA6, YWHAZ</i>
	Brain, neurotransmission and nervous system	44	<i>ALDH1A2, CDC42</i>	<i>ARHGEF1</i>
	Immune response	38	<i>REL, TNFA1P3</i>	<i>CDNK1B, STAT3</i>
	Protein cleavage, biosynthesis and modification	35	<i>INO80, LRP3</i>	<i>MMP9</i>
	Hormonal regulation	29	<i>NAB2, POU2F1</i>	<i>LDB1, SP1</i>

5.6 Discussion

This research used pri-miRNA counts obtained by next-generation sequencing of the whole eosinophil transcriptome, a cell known to play an inflammatory role in asthma (Drake *et al.* 2018), for finding differential expression of certain miRNAs between patients having allergic diseases often associated with the atopic march and controls in order to better understand epigenetic mechanisms underlying these. Specifically, it was previously noted that eosinophils can carry miRNAs via exosomes to other cells; they are becoming not only a pro-inflammatory cell type, but also a vector for miRNAs and a potential regulator of gene expression (Cañas *et al.* 2019). In this sense, extracting miRNAs from eosinophils allows a better understanding of their effect on diseases in the atopic march process as compared to those from whole blood. Overall, miRNAs extracted from eosinophils improve the knowledge of their possible roles in proliferation of the inflammatory cells and immune functions in these diseases (Lu et Rothenberg 2013; Heffler *et al.* 2017).

The miRNA levels measured from eosinophil cells extracted as part of this study allowed to identify 18 that were differentially expressed between individuals with allergic diseases and unaffected ones, as well as for IgE levels and PC₂₀. Five of them were associated in the past with asthma and allergic diseases (miR-142 (Sharma 2017; Badalzadeh *et al.* 2019), -26a (Panganiban *et al.* 2012; Li *et al.* 2019a), -29b (Yan *et al.* 2019; Wardzyńska *et*

al. 2020), -590 (Shi *et al.* 2018; Rodrigo-Muñoz *et al.* 2019) and -638 (Wang *et al.* 2018a)). In fact, the miRNA expression counts of these five miRNAs were all differentially regulated in the same direction than what is found in literature. Three were previously associated with other respiratory conditions including lung cancer (miR-1276 (Zhan *et al.* 2017), -1304 (Li *et al.* 2017a) and -33b (Qu *et al.* 2015)), hypopharyngeal cancer (miR-1304 (Xu *et al.* 2013)) and cystic fibrosis (miR-1276 (Fesen *et al.* 2019)). Finally, three were previously associated with diseases involving inflammatory components (miR-2355 (Lin *et al.* 2017), -3175 (Pan *et al.* 2019), -33b (Ono 2016)). This study led to the identification of 13 miRNAs not previously associated with allergic diseases or asthma. The remaining five miRNAs were already found to have a differential expression in diseases of the atopic march, but this study allowed to confirm that these were also differentially expressed in eosinophils. There are very few studies on miRNA expression in eosinophil samples for allergic diseases. A study by Rodrigo-Muñoz *et al.* found 21 miRNAs differentially expressed in eosinophils in asthma, from which miR-590 was also down-regulated (Rodrigo-Muñoz *et al.* 2019). No significant differences were observed for the 20 other miRNAs in our study. This could be explained by their smaller sample size (29 asthmatic and 10 healthy individuals), the fact that they did not study an allergic endotype of asthma as done in this project, and also because we measured differential pri-miRNA counts as compared to mature miRNAs in their study. However, measuring pri-miRNA counts allow a more direct understanding of miRNA transcription. Finally, even though no mature miRNA data was available, several pri-miRNAs were previously associated with mature miRNAs in allergic diseases included in the atopic march process. Moreover, the target analysis of the significant miRNAs associated in this study found *CITED2* as a target of miR-590, a gene regulating TGF-beta pathways acting on airway smooth muscle cell proliferation. In fact, eosinophils have previously been shown to enhance gene expression of TGF-beta1 and to increase airway smooth muscle cell proliferation (Januskevicius *et al.* 2016). In this sense, it is expected that this miRNA can be differentially regulated in both allergic and non-allergic endotypes of asthma. These findings point toward a regulatory role in these diseases. Finally, considering modest coefficients of correlations found between pri-miRNA counts and PC₂₀ and IgE levels, we hypothesize that such correlations are more complex than mere direct interaction. In fact, Davis *et al.* have found that certain miRNAs could modulate PC₂₀ by increasing airway smooth muscle cell diameter (Davis *et al.* 2017). Therefore, more studies need to be done in order to better define links between these miRNAs and biological measures.

Actually, some well-known miRNAs in asthma and allergic diseases such as miR-221, -485-3p, -1248, -126, -146a/b, -28-5p, -181a, -133a or -10a (Kai *et al.* 2015) were not replicated in this study. Among these, four miRNAs were expressed in eosinophil samples, but their corresponding pri-miRNAs did not show significant differences according to the phenotype status. However, based on the cell-type specificity of transcriptome measurements, it was expected that eosinophils will have a distinct profile in comparison to whole blood. It was demonstrated in the past that whole blood miRNAs are derived from various exosomes specific to cell types, this means previously found differential miRNA counts associated with diseases in the atopic march process

could be derived from other ones like lymphocytes, dendritic cells, platelets, mastocytes, epithelial cells, endothelial cells or neurons (Lin *et al.* 2015).

To further understand the links between pri-miRNA expression counts and phenotypic differences in asthma and allergic diseases, individuals were clustered into three distinct groups based on the pri-miRNA counts for each of the 18 previously associated miRNAs. These clusters featured significant differences, which is consistent with the proportion of subjects having asthma phenotype as well as familial history of respiratory diseases and allergic rhinitis, further confirming the family component in them (Mims 2015). Moreover, earlier studies have associated asthma prevalence with allergic rhinitis (Rosati et Peters 2016; Gon et Hashimoto 2018; Tohidinik *et al.* 2019), these findings tend to demonstrate a link between the two. However, more studies need to be done in regard to the similarities between the eosinophil miRNA patterns between asthma and allergic rhinitis to conclude so. A difference in counts of circulating neutrophils, a cell type characterizing an asthma endotype not typically linked with allergies (Boonpiyathad *et al.* 2019), was also observed. With a higher proportion of individuals with familial history of allergic rhinitis and a smaller neutrophil count, cluster 6 shows a higher number of allergic individuals, even though its proportion of asthmatics is lower. However, it is important to note the smaller number of individuals included in this cluster (19 compared to 52 and 69). Interestingly, many miRNAs turned out to be differentially regulated in cluster 6, as compared to clusters 2 and 3. These miRNAs were previously found to play a role in diseases of the atopic march. It is the case for miR-142 (Sharma 2017; Badalzadeh *et al.* 2019), -26a (Panganiban *et al.* 2012; Li *et al.* 2019a), -29b (Yan *et al.* 2019; Wardzyńska *et al.* 2020), -590 (Shi *et al.* 2018; Rodrigo-Muñoz *et al.* 2019) and -638 (Wang *et al.* 2018a) which all had higher counts in cluster 6, in comparison with clusters 2 and 3. Similarly, both clusters 2 and 3 showed higher values for miR-1276 and -1304 whereas cluster 3 showed higher values for miR-33b and -2355, four miRNAs known for their implication in non-allergic respiratory diseases (Xu *et al.* 2013; Qu *et al.* 2015; Li *et al.* 2017a; Lin *et al.* 2017; Zhan *et al.* 2017; Fesen *et al.* 2019). Furthermore, no association was made with eosinophil counts in the clustering approach. This could be explained by the fact that the eosinophil cell counts were similar between affected (by one or more allergic disease) and non-affected (by none of the allergic diseases tested) individuals. However, there is indeed a difference in eosinophil cell counts when we compare for a single disease such as asthma, with a mean of $0.29 \times 10^9/l$ eosinophils in individuals with asthma and $0.18 \times 10^9/l$ in unaffected ones. However, miRNAs associated in eosinophil samples were not necessarily linked with biological pathways involved in eosinophil recruitment or proliferation.

To further understand the implication of these miRNAs on diseases of the atopic march, an analysis to identify possible gene targets was performed. The 18 associated pri-miRNA expression counts were significantly correlated with several targets previously identified in diseases of the atopic march. Overall, 95 gene targets were already associated with diseases of the atopic march in the GWAS Catalogue and 35 with the SLSJ

asthmatic cohort. Among gene targets that were linked with biological pathways, 42 were also associated with diseases of the atopic march, either in the GWAS Catalogue or in the SLSJ cohort. Those genes were classified into pathways including cell regulation, immune response, smooth muscle cell proliferation and angiogenesis, further confirming the importance of miRNAs in these diseases. However, further studies are needed to better understand the specific link between these 18 miRNAs and the different diseases of the atopic march.

This study sought to find a differential miRNA pattern in eosinophils from patients presenting with diseases in the atopic march process and unaffected individuals. Eighteen miRNAs turned out to be differentially expressed in eosinophil samples in case of either atopic dermatitis or asthmatic statuses than in unaffected individuals, or according to the PC₂₀ or IgE levels. Moreover, the clustering approach used with the associated miRNAs revealed a link between these and fine phenotypic information defining the individuals included in this study and allowed identifying the miRNAs that are more likely to be involved specifically in the atopic component of the studied diseases among the 18 in association.

Overall, these miRNAs could help improve the knowledge of post-transcriptional regulation leading to allergic diseases included in the atopic march process. In fact, their differential regulation found in eosinophils help refine our understanding of miRNAs in these diseases and their important role in gene expression regulation. Finally, the presence of multiple atopic diseases in one patient may imply the relevance of miRNAs in the atopic march. However, birth cohort and longitudinal studies will need to be performed to support this hypothesis. Despite this, it is interesting to note that a previous study including the SLSJ cohort and a birth cohort aiming at developing a polygenic risk score for moderate-to-severe atopic dermatitis, the sub-phenotype of atopic dermatitis associated with the highest risk to develop the atopic march, also showed good discriminative values for allergies, allergic asthma and allergic rhinitis in the SLSJ cohort (Simard *et al.* 2020).

5.7 Materials and methods

5.7.1 SLSJ asthma cohort

The Saguenay–Lac-Saint-Jean (SLSJ) asthma familial cohort comprises 1,394 individuals distributed in 271 families from which 1,214 subjects have genotypic information. Pulmonary health of each individual was evaluated according to the American Thoracic Society (ATS) Clinical Practice Guidelines using a standardized questionnaire and pulmonary function testing ([Anonyme] 1995). The subpopulation used for this study was selected using siblings with discordant asthma status and from trios of affected probands and discordant parents regarding asthma status. Using these criteria, 215 subjects were obtained to isolate their eosinophils for RNA sequencing. Asthma and atopy phenotypes were defined according to ATS standards ([Anonyme] 1987). Participants were considered as asthmatic if: (1) they had a reported history of asthma (validated by a physician), or (2) they presented asthma-related symptoms and positive PC₂₀ (< 8 mg/ml) at recruitment. Individuals were

deemed atopic if they had at least one positive response on skin prick tests (wheal diameter ≥ 3 mm or larger than the wheal diameter elicited by the negative control [glycerin]) and have a physician diagnosis. Atopic dermatitis and allergic rhinitis were self-reported and were considered as positive if past or present occurrence of these diseases were reported. For children, cross validation was done using questionnaires filled by their parents. Moreover, validation in medical records of these self-reported phenotypes were done for a subset of the SLSJ Cohort ($n = 217$), giving 89% concordance. Proportions of white blood cells were obtained using a Coulter LH 780 hematology analyzer to estimate proportion of five different types of white blood cells: eosinophils, lymphocytes, neutrophils, monocytes and basophils. Respiratory measures such as PC₂₀ and FEV₁ were taken using a Morgan spirometer (Morgan Spiro 232, P.K. Morgan Ltd, Kent, UK) (Laprise 2014). Complete descriptions of both recruitment and evaluation used for the SLSJ cohort can be found in Laprise et al. (Laprise 2014) All participants gave informed consent and the study was approved by the *Centre intégré universitaire de santé et de services sociaux du Saguenay–Lac-Saint-Jean* ethics committee.

5.7.2 Isolation of RNA from eosinophils and sequencing

Complete description of the procedure for eosinophil isolation can be found in Madore et al. (Madore *et al.* 2020) Briefly, eosinophils were isolated by negative selection from 200 ml blood samples with anti-CD16, anti-CD3 and anti-CD19 MicroBeads (Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA) and a proportion of cells ($2E+06$) was used for total RNA extraction (molecules ≥ 200 nucleotides). This step was performed with the RNeasy Mini Kit following manufacturer's instructions (Qiagen, Toronto, ON, Canada). RNA sequencing was carried out at the McGill University and Genome Québec Innovation Center using TruSeq Stranded Total RNA Sample Prep kit. Final libraries were quality controlled on a Bioanalyzer and underwent 100 bp paired-end sequencing on the Illumina HiSeq2000 System. Generated raw reads were filtered for quality (phred33 ≥ 30) and length ($n \geq 32$) as well as adapter sequences were removed using Trimmomatic v.0.32 as previously described (Madore *et al.* 2020). Considering the length of the extracted RNAs (≥ 200 nucleotides), pri-miRNAs were available for analysis. After quality control filtering, 441 pri-miRNA were available for analyses. From the 215 initial individuals, considering the large amount of blood necessary for RNA sequencing, quality filtering applied and the covariates availability for statistical analysis, pri-miRNA counts were accessible for 145 of them. These results reflect the transcription of miRNA sequences without necessarily quantifying abundance of the mature miRNAs (Lee *et al.* 2002).

5.7.2 Statistical methods

Analyses of pri-miRNA expression counts between individuals

Pri-miRNA expression counts were compared with a negative binomial regression model built with pri-miRNA normalized expression counts and phenotypes using the MASS package in R. Studied phenotypes were atopic dermatitis (75 affected, 70 healthy), atopy (94 affected, 51 healthy), allergic rhinitis (54 affected, 91 healthy), asthma (89 affected, 56 healthy), FEV₁, IgE levels, PC₂₀ and FEV₁/FVC ratio. Age, sex, smoking history,

eosinophil proportion and surrogate variables were used as covariates. Proportions of eosinophils were calculated working with methylome data from the same eosinophil samples as well as the method by Houseman implemented in the R package RnBeads as described above (Table S5) (Houseman *et al.* 2012; Reinius *et al.* 2012). Surrogate variables were evaluated using the R package sva in order to account for batch effects, relatedness between samples and other hidden confounders (Leek et Storey 2007). Normalization of miRNAs expression counts on library size were done with the DESeq2 package. Differences in these having a false discovery rate (FDR) value < 0.05 were deemed significant. Fold changes (FC) were calculated using the mean ratios for affected and non-affected individuals in case of analyses taking into account the disease status whereas Spearman's rank correlation was performed between pri-miRNA counts and continuous phenotypes. miRNAs with positive fold change were considered up-regulated while those with negative fold change were down-regulated in the affected group of each allergic disease analyzed.

Clustering of miRNAs

Significant miRNAs were used to cluster individuals with Ward's method on Euclidian distances in R, as described by O'Sullivan et al. (O'Sullivan *et al.* 2017) Groups were determined by visual inspection of the dendrogram and confirmed using the NbClust package in R. An explanation for these clusters was then searched comparing the phenotypic measures between groups with Fisher's exact test for binary data, one-way ANOVA for continuous normally distributed variables and Kruskal-Wallis test for continuous non-normally distributed ones. Post-hoc analyses were performed afterward to find pairwise differences between clusters using Fisher's exact test, Tukey's test and Dunn's test respectively followed by Bonferroni corrections. Clusters with three individuals or less were ignored from this testing (data available for 139 subjects on the 145 included in the pri-miRNA analysis).

Identification of possible gene targets for associated pri-miRNAs

Negative and positive correlations were applied between the 18 associated pri-miRNA and gene log-transformed expression count in order to find which gene are possible gene targets. Correlations that reached an FDR-value < 0.05 and an absolute correlation coefficient > 0.2 were deemed significant. These miRNA-gene target pairs were then validated with miRTarBase v8.0 (Huang *et al.* 2019), a database that list gene targets of miRNAs that were observed using technical approaches (e.g.: qRT-PCR, next-generation sequencing), in order to find which of the significant genes are more likely to be real targets. These targets were classified according to their PANTHER pathways (Mi *et al.* 2005). Gene targets that were previously associated with diseases of the atopic march were identified using the GWAS Catalogue (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) and studies from the SLSJ asthma familial cohort. The GWAS Catalogue list all human genome-wide associations for studies targeting 100,000 SNPs or more and with p values < 10E-05.

Discussion

Ce projet de maîtrise avait pour but de documenter les miARN différemment exprimés dans les éosinophiles d'individus atteints de maladies de la marche atopique, ainsi que dans des phénotypes associés. Plus précisément, nous voulions mieux comprendre l'implication des miARN dans la régulation de ces maladies, notamment en tentant de retrouver des liens phénotypiques et biologiques aux profils différentiels trouvés.

Pour ce faire, du séquençage d'ARN nouvelle génération a été réalisé sur les éosinophiles d'un sous-groupe d'individus de la cohorte familiale du SLSJ, composé de 145 participants. Cette technique a permis de mesurer les pri-miARN en raison de la librairie utilisée et des filtres de qualité. De là, il était possible de trouver lesquels étaient différemment exprimés entre les individus atteints et non-atteints, de même que pour les autres phénotypes à l'étude. De plus, afin de mieux comprendre l'implication de ces pri-miARN dans ces maladies, les individus ont été groupés à l'aide de la méthode de Ward selon leurs niveaux d'expression différentiels. Par la suite, une explication phénotypique de ces groupes a été cherchée en comparant les groupes avec différents phénotypes liés aux maladies; notamment la sensibilité aux allergènes, l'historique familial de maladies respiratoires ainsi que le compte de certaines cellules. Enfin, une analyse des cibles des pri-miARN a permis de mieux comprendre la signification biologique de ceux-ci.

Cette recherche a donc permis de retrouver 18 pri-miARN différemment exprimés dans les maladies de la marche atopique, dont cinq avaient déjà été associés à l'asthme et aux maladies allergiques : miR-142 (Sharma 2017; Badalzadeh *et al.* 2019), -26a (Panganiban *et al.* 2012; Li *et al.* 2019a), -29b (Yan *et al.* 2019; Wardzyńska *et al.* 2020), -590 (Shi *et al.* 2018; Rodrigo-Muñoz *et al.* 2019) et -638 (Wang *et al.* 2018a). Les individus ont ensuite été groupés selon les niveaux d'expression de ces 18 pri-miARN. De là, six groupes ont été obtenus, dont trois ne contenaient que trois individus ou moins; ceux-ci ont donc été ignorés. Ces groupes ont ensuite été comparés à divers phénotypes ce qui a permis de les associer au diagnostic d'asthme, à l'historique familial de maladies respiratoires et de rhinite allergique, ainsi qu'au compte cellulaire de neutrophiles. Le dernier groupe semblait davantage liés à un endotype non-allergique d'asthme alors que les deux autres semblaient liés à un endotype plus allergique, bien que plus d'études soient nécessaires pour lier ces pri-miARN à un endotype spécifique d'asthme.

Enfin, toujours dans le but de mieux comprendre l'implication de ces pri-miARN dans les maladies allergiques, une analyse des gènes cibles a été effectuée. Tout d'abord, les niveaux d'expression de ces 18 pri-miARN ont été corrélés avec les niveaux d'expression des gènes afin d'en retrouver des cibles potentielles. Par la suite, ces cibles potentielles ont été comparées aux données du GWAS Catalog pour les maladies allergiques et aux données précédemment publiées de la cohorte du SLSJ. Quatre-vingt-quinze cibles étaient précédemment associés aux maladies de la marche atopique dans le GWAS Catalog alors que 35 l'étaient dans la cohorte du

SLSJ. Ceux-ci ont ensuite été classifiés selon leurs voies biologiques afin de mieux comprendre leur implication dans ces maladies. Les voies biologiques retrouvées incluaient la régulation cellulaire, la réponse immunitaire, la prolifération des cellules des muscles lisses ainsi que l'angiogenèse. Toutefois, plus d'études demeurent nécessaires afin de comprendre la signification biologique de la régulation différentielle de ces pri-miARN.

Il demeure aussi à noter que certaines limitations demeurent relativement à cette étude. Tout d'abord, l'utilisation d'une librairie pour les ARN de plus de 200 nucléotides limitait le type d'ARN qu'il était possible de séquencer. Ainsi, il était uniquement possible de retrouver des pri-miARN, ceux-ci ne permettant pas de quantifier réellement le niveau de répression des ARNm cibles. Une seconde limitation en lien avec cette étude est l'absence de validation par qRT-PCR. Cette limitation peut toutefois s'expliquer par la rareté de l'échantillon utilisé. En effet, comme les éosinophiles ne composent qu'une très petite portion du sang complet, il aurait été difficile de réaliser une validation par qRT-PCR, compte tenu de la petite quantité d'échantillons dont nous disposions. Enfin, les données quant à l'âge d'apparition des symptômes de dermite atopique et de rhinite n'étaient pas disponibles, rendant ainsi difficile toute conclusion quant à l'implication des miARN dans le continuum de la marche atopique. N'en demeure pas moins que cette étude de nature exploratoire permet de cibler des pistes d'études futures quant aux miARN et à leur implication dans les maladies allergiques. C'est ainsi que d'autres études seront nécessaires pour bien comprendre comment ces miARN agissent dans la dermite atopique, la rhinite allergique ainsi que l'asthme allergique, de même que sur la marche atopique dans son ensemble.

Au cours des dernières années, les miARN ont suscité un grand intérêt en recherche sur les traits complexes tels que l'asthme et les maladies allergiques. Toutefois, la plupart de ces études ont extrait les miARN à partir d'échantillons de sang complet. Ce type d'études, bien que souvent utile pour trouver des biomarqueurs de la maladie, ne permettent pas une compréhension approfondie de l'implication des miARN dans les processus sous-jacents à la maladie, tels que l'inflammation. Bien que certaines études aient corrigé leurs analyses pour le compte de certaines cellules, il demeure difficile pour celles-ci de conclure avec certitudes que la différence de miARN observée ne provient pas de la variabilité cellulaire, mais bien du trait étudié. Ainsi, le fait d'isoler les miARN à partir de cellules pro-inflammatoires telles que les éosinophiles permet certainement un nouveau point de vue quant au rôle des miARN dans la régulation des maladies allergiques, tout en permettant de répondre à la lacune susmentionnée. En fait, même si cette seconde étude sur ce type cellulaire était de nature exploratoire, elle a permis de dégager 18 pri-miARN dont 10 n'avaient pas précédemment été associés aux maladies. De plus, l'analyse des cibles potentielles de ces 18 pri-miARN a révélé un rôle important dans la différenciation et la croissance cellulaire, la réponse immunitaire, la prolifération des muscles lisses des voies respiratoires, de même que dans un certain nombre d'autres fonctions, renforçant ainsi la thèse selon laquelle les miARN pourraient être impliqués dans les processus inflammatoires de ces maladies.

Conclusion

Les miARN ne sont à l'étude que depuis quelques années, mais ont précédemment démontré une importance marquée dans la régulation de diverses maladies. L'étude des profils de miARN différemment régulés dans les maladies de la marche atopique, de même que dans des phénotypes associés, permet une meilleure compréhension des mécanismes post-transcriptionnels sous-jacents à ces maladies. Étant donné la nature relativement nouvelle des études de miARN, il apparaît évident que notre compréhension de leur implication dans les maladies de la marche atopique demeure souvent incomplète; c'est pourquoi davantage d'études seront nécessaires afin d'en comprendre entièrement l'implication dans la pathogénèse et les manifestations de la maladie. En fait, cette étude n'est que la seconde de ce genre, réalisée à partir de miARN des éosinophiles, un type cellulaire connu pour son implication dans les maladies allergiques. Elle est utile afin de distinguer quels miARN sont différemment exprimés dans ce type cellulaire, en comparaison avec d'autres types cellulaires ou même le sang complet. Elle permettait aussi de dresser un portrait de l'éventuelle répression de l'expression de certains ARNm dans les maladies de la marche atopique, notamment en analysant les gènes cibles des miARN retrouvés, quoique des études fonctionnelles, ou même des études sur les miARN matures plutôt que les pri-miARN seraient nécessaires pour supporter les hypothèses posées quant à leur rôle dans ces maladies.

En somme, l'étude des profils des miARN dans des cellules immunes isolées et pertinentes dans les maladies de la marche atopique demeure un sujet d'étude récent. Ce genre d'approche permettra éventuellement de bien comprendre le rôle qu'ont ces cellules pro-inflammatoires dans l'apparition et les manifestations cliniques des maladies allergiques, en particulier sur quels mécanismes biologiques celles-ci agissent. De plus, les miARN pouvant être régulés par différents facteurs environnementaux, ce genre d'étude permettra d'une part de comprendre comment l'exposition à certains allergènes ou à des toxines environnementales peuvent favoriser l'apparition de maladies de la marche atopique, mais aussi de comprendre les mécanismes biologiques sous-jacents à la maladie. Cette étude permet de confirmer l'importance des miARN comme mécanisme épigénétique régulant les maladies allergiques, en particulier dans des cellules largement impliquées dans les patrons inflammatoires de ces maladies telles que les éosinophiles.

Pour conclure, le fait d'étudier les miARN à partir de cellules isolées reconnues pour leur implication dans les maladies de la marche atopique semble être une piste d'étude prometteuse afin de mieux comprendre la régulation post transcriptionnelle de ces maladies. Afin de valider les informations retrouvées dans cette étude, il serait toutefois utile de procéder à une série d'autres études similaires, mais qui répondraient aux principales limitations mentionnées précédemment. Par exemple, une prochaine étude pourrait isoler les miARN matures plutôt que les pri-miARN, ce qui permettrait de retrouver plus exactement les ARNm cibles potentiels et ainsi mieux comprendre l'implication des miARN de l'éosinophile dans les processus inflammatoires de la maladie. Il serait aussi possible de valider les miARN ou les pri-miARN retrouvés, selon le cas, par qRT-PCR, une méthode

souvent considérée comme le standard dans ce type d'études. Finalement, une étude longitudinale pourrait permettre de réellement évaluer l'implication de ces miARN dans le continuum qu'est la marche atopique, plutôt que dans chacune de ces maladies indépendamment. Il est aussi utile de noter que le diagnostic des maladies de la marche atopique de même que leur traitement est parfois difficile, comme il a été possible de le voir dans les chapitres précédents. Des études sur les miARN sont donc particulièrement prometteuses, tant pour trouver des biomarqueurs facilitant le diagnostic des maladies que pour l'évaluation de thérapies nouvelles simplifiant le traitement et améliorant potentiellement le pronostic de ces maladies. Des études futures pourront donc se concentrer sur l'utilisation de miARN des éosinophiles dans le diagnostic et le traitement des maladies de la marche atopique.

En somme, les études de miARN sont relativement récentes, et celles de cellules isolées reconnues pour leur implication dans certaines maladies, telles que les éosinophiles, le sont encore plus. L'étude présentée dans ce mémoire était l'une des seules à le faire et permettra sans doute une meilleure compréhension des maladies allergiques. Il demeure évident que d'autres études en ce sens continueront d'améliorer notre compréhension de ces traits complexes et pourront améliorer la qualité de vie des individus atteints de ces maladies, que ce soit en prévenant leur apparition, en réduisant leur sévérité, ou encore en traitant les symptômes de celles-ci, comme certains ont tentés de le faire, jusqu'ici dans des modèles murins majoritairement.

Bibliographie

[Anonyme]. 1987. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, November 1986. *Am Rev Respir Dis*, 136 : 225-244.

[Anonyme]. 1995. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med*, 152 : 1107-1136.

Aberg N, Hesselmar B, Aberg B et Eriksson B. 1995. Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. *Clin Exp Allergy*, 25 : 815-819.

Abraham WM. 2002. Tryptase: potential role in airway inflammation and remodeling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 282 : L193-196.

Addo Yobo EO, Custovic A, Taggart SC, Asafo-Agyei AP et Woodcock A. 1997. Exercise induced bronchospasm in Ghana: differences in prevalence between urban and rural schoolchildren. *Thorax*, 52 : 161-165.

Addo-Yobo EO, Custovic A, Taggart SC, Craven M, Bonnie B et Woodcock A. 2001. Risk factors for asthma in urban Ghana. *J Allergy Clin Immunol*, 108 : 363-368.

Addo-Yobo EO, Woodcock A, Allotey A, Baffoe-Bonnie B, Strachan D et Custovic A. 2007. Exercise-induced bronchospasm and atopy in Ghana: two surveys ten years apart. *PLoS Med*, 4 : e70.

Afonso-Grunz F et Müller S. 2015. Principles of miRNA-mRNA interactions: beyond sequence complementarity. *Cell Mol Life Sci*, 72 : 3127-3141.

Agrawal N, Dasaradhi PV, Mohammed A, Malhotra P, Bhatnagar RK et Mukherjee SK. 2003. RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiol Mol Biol Rev*, 67 : 657-685.

Alipoor SD, Adcock IM, Garssen J, Mortaz E, Varahram M, Mirsaiedi M et Velayati A. 2016. The roles of miRNAs as potential biomarkers in lung diseases. *Eur J Pharmacol*, 791 : 395-404.

Allantaz F, Cheng DT, Bergauer T, Ravindran P, Rossier MF, Ebeling M, Badi L, Reis B, Bitter H, D'Asaro M, Chiappe A, Sridhar S, Pacheco GD, Burczynski ME, Hochstrasser D, Vonderscher J et Matthes T. 2012. Expression profiling of human immune cell subsets identifies miRNA-mRNA regulatory relationships correlated with cell type specific expression. *PLoS One*, 7 : e29979.

Allen CW, Bidarkar MS, vanNunen SA et Campbell DE. 2015. Factors impacting parental burden in food-allergic children. *J Paediatr Child Health*, 51 : 696-698.

Alfrey VG, Faulkner R et Mirsky AE. 1964. ACETYLATION AND METHYLATION OF HISTONES AND THEIR POSSIBLE ROLE IN THE REGULATION OF RNA SYNTHESIS. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 51 : 786-794.

Amin K. 2012. The role of mast cells in allergic inflammation. *Respiratory medicine*, 106 : 9-14.

Amin K, Lúdvíksdóttir D, Janson C, NETTELBLADT O, Björnsson E, Roomans GM, Boman G, Sevéus L et Venge P. 2000. Inflammation and structural changes in the airways of patients with atopic and nonatopic asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162 : 2295-2301.

Andiappan AK, Wang de Y, Anantharaman R, Parate PN, Suri BK, Low HQ, Li Y, Zhao W, Castagnoli P, Liu J et Chew FT. 2011. Genome-wide association study for atopy and allergic rhinitis in a Singapore Chinese population. *PLoS One*, 6 : e19719.

Arathimos R, Suderman M, Sharp GC, Burrows K, Granell R, Tilling K, Gaunt TR, Henderson J, Ring S, Richmond RC et Relton CL. 2017. Epigenome-wide association study of asthma and wheeze in childhood and adolescence. *Clin Epigenetics*, 9 : 112.

Asai Y, Eslami A, van Ginkel CD, Akhabir L, Wan M, Ellis G, Ben-Shoshan M, Martino D, Ferreira MA, Allen K, Mazer B, de Groot H, de Jong NW, Gerth van Wijk RN, Dubois AEJ, Chin R, Cheuk S, Hoffman J, Jorgensen E, Witte JS, Melles RB, Hong X, Wang X, Hui J, Musk AWB, Hunter M, James AL, Koppelman GH, Sandford AJ, Clarke AE et Daley D. 2018. Genome-wide association study and meta-analysis in multiple populations identifies new loci for peanut allergy and establishes C11orf30/EMSY as a genetic risk factor for food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 141 : 991-1001.

Association des pharmaciens du C. 2015. RxTx.

Asthma and Allergy Foundation of America. 2019. What happens in your airways when you have asthma? Consulté le 02-17, <https://community.aafa.org/blog/what-happens-in-your-airways-when-you-have-asthma>

Baccarelli A, Rusconi F, Bollati V, Catelan D, Accetta G, Hou L, Barbone F, Bertazzi PA et Biggeri A. 2012. Nasal cell DNA methylation, inflammation, lung function and wheezing in children with asthma. *Epigenomics*, 4 : 91-100.

Backman H, Räisänen P, Hedman L, Stridsman C, Andersson M, Lindberg A, Lundbäck B et Rönmark E. 2017. Increased prevalence of allergic asthma from 1996 to 2006 and further to 2016-results from three population surveys. *Clin Exp Allergy*, 47 : 1426-1435.

Badalzadeh M, Mazinani M, Pourpak Z, Heidarnazhad H, Mortaz E, Moin M et Farazmand A. 2019. In Vitro Analysis of Nine MicroRNAs in CD8+ T Cells of Asthmatic Patients and the Effects of Two FDA-approved Drugs. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 18 : 358-368.

Balan S, Saxena M et Bhardwaj N. 2019. Dendritic cell subsets and locations. *Int Rev Cell Mol Biol*, 348 : 1-68.

Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA, Holberg CJ, Martinez FD et Wright AL. 2000. Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. *N Engl J Med*, 343 : 538-543.

Ban M, Morel G, Langonné I, Huguet N, Pépin E et Binet S. 2006. TDI can induce respiratory allergy with Th2-dominated response in mice. *Toxicology*, 218 : 39-47.

Bannister AJ et Kouzarides T. 2011. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res*, 21 : 381-395.

Bao L, Chau C, Bao J, Tsoukas MM et Chan LS. 2018. IL-4 dysregulates microRNAs involved in inflammation, angiogenesis and apoptosis in epidermal keratinocytes. *Microbiol Immunol*, 62 : 732-736.

Barnig C, Cernadas M, Dutile S, Liu X, Perrella MA, Kazani S, Wechsler ME, Israel E et Levy BD. 2013. Lipoxin A4 regulates natural killer cell and type 2 innate lymphoid cell activation in asthma. *Sci Transl Med*, 5 : 174ra126.

Barton SJ, Ngo S, Costello P, Garratt E, El-Heis S, Antoun E, Clarke-Harris R, Murray R, Bhatt T, Burdge G, Cooper C, Inskip H, van der Beek EM, Sheppard A, Godfrey KM et Lillycrop KA. 2017. DNA methylation of Th2 lineage determination genes at birth is associated with allergic outcomes in childhood. *Clin Exp Allergy*, 47 : 1599-1608.

Basu K, Palmer CN, Lipworth BJ, McLean WH, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Smith FJ, Mitra A et Mukhopadhyay S. 2008. Filaggrin null mutations are associated with increased asthma exacerbations in children and young adults. *Allergy*, 63 : 1211-1217.

Bateman E. 2016. Global Initiative For Asthma (GINA) Reports. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2015 update).

Bateman ED, Boushey HA, Bousquet J, Busse WW, Clark TJ, Pauwels RA et Pedersen SE. 2004. Can guideline-defined asthma control be achieved? The Gaining Optimal Asthma Control study. *Am J Respir Crit Care Med*, 170 : 836-844.

Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald JM, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, Pizzichini E, Sullivan SD, Wenzel SE et Zar HJ. 2008. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J*, 31 : 143-178.

Battle A, Brown CD, Engelhardt BE et Montgomery SB. 2017. Genetic effects on gene expression across human tissues. *Nature*, 550 : 204-213.

Bayrak Degirmenci P, Aksun S, Altin Z, Bilgir F, Arslan I, Colak H, Ural B, Solakoglu Kahraman D, Diniz G et Ozdemir B. 2018. Allergic rhinitis and its relationship with IL-10, IL-17, TGF- β , IFN- γ , IL 22, and IL-35. *Disease markers*, 2018.

Bazaral M, Orgel HA et Hamburger R. 1974. Genetics of IgE and allergy: serum IgE levels in twins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 54 : 288-304.

Beeh K, Ksoll M et Buhl R. 2000. Elevation of total serum immunoglobulin E is associated with asthma in nonallergic individuals. *European Respiratory Journal*, 16 : 609-614.

Bello D, Herrick CA, Smith TJ, Woskie SR, Streicher RP, Cullen MR, Liu Y et Redlich CA. 2007. Skin exposure to isocyanates: reasons for concern. *Environ Health Perspect*, 115 : 328-335.

Berke R, Singh A et Guralnick M. 2012. Atopic dermatitis: an overview. *Am Fam Physician*, 86 : 35-42.

Bin L et Leung DY. 2016. Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 12 : 52.

Bisgaard H, Hermansen MN, Buchvald F, Loland L, Halkjaer LB, Bønnelykke K, Brasholt M, Heltberg A, Vissing NH, Thorsen SV, Stage M et Pipper CB. 2007. Childhood asthma after bacterial colonization of the airway in neonates. *N Engl J Med*, 357 : 1487-1495.

Bondanese VP, Francisco-Garcia A, Bedke N, Davies DE et Sanchez-Elsner T. 2014. Identification of host miRNAs that may limit human rhinovirus replication. *World J Biol Chem*, 5 : 437-456.

Boonpiyathad T, Sözen ZC, Satitsuksanoa P et Akdis CA. 2019. Immunologic mechanisms in asthma. *Semin Immunol*, 46 : 101333.

Boorgula MP, Taub MA, Rafaels N, Daya M, Campbell M, Chavan S, Shetty A, Cheadle C, Barkataki S, Fan J, David G, Beaty TH, Ruczinski I, Hanifin J, Schneider LC, Gallo RL, Paller AS, Beck LA, Leung DY, Mathias RA et Barnes KC. 2019. Replicated methylation changes associated with eczema herpeticum and allergic response. *Clin Epigenetics*, 11 : 122.

- Bousquet J, Vignola AM et Demoly P. 2003. Links between rhinitis and asthma. *Allergy*, 58 : 691-706.
- Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens W, Togias A, Zuberbier T, Baena-Cagnani CE, Canonica G et Van Weel C. 2008. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008. *Allergy*, 63 : 8-160.
- Brenninkmeijer EE, Schram ME, Leeftang MM, Bos JD et Spuls PI. 2008. Diagnostic criteria for atopic dermatitis: a systematic review. *Br J Dermatol*, 158 : 754-765.
- Breton CV, Byun HM, Wang X, Salam MT, Siegmund K et Gilliland FD. 2011. DNA methylation in the arginase-nitric oxide synthase pathway is associated with exhaled nitric oxide in children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 184 : 191-197.
- Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ et Pavord ID. 2002. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *New England Journal of Medicine*, 346 : 1699-1705.
- Broide DH. 2010. Allergic rhinitis: Pathophysiology. *Allergy Asthma Proc*, 31 : 370-374.
- Brown SJ, Asai Y, Cordell HJ, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, Northstone K, Henderson J, Alizadehfar R, Ben-Shoshan M, Morgan K, Roberts G, Masthoff LJ, Pasmans SG, van den Akker PC, Wijmenga C, Hourihane JO, Palmer CN, Lack G, Clarke A, Hull PR, Irvine AD et McLean WH. 2011. Loss-of-function variants in the flaggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 127 : 661-667.
- Brusselle G, Pavord ID, Landis S, Pascoe S, Lettis S, Morjaria N, Barnes N et Hilton E. 2018. Blood eosinophil levels as a biomarker in COPD. *Respir Med*, 138 : 21-31.
- Burr ML, Butland BK, King S et Vaughan-Williams E. 1989. Changes in asthma prevalence: two surveys 15 years apart. *Arch Dis Child*, 64 : 1452-1456.
- Calabresi PA, Allie R, Mullen KM, Yun SH, Georgantas RW, 3rd et Whartenby KA. 2003. Kinetics of CCR7 expression differ between primary activation and effector memory states of T(H)1 and T(H)2 cells. *J Neuroimmunol*, 139 : 58-65.
- Cañas JA, Sastre B, Rodrigo-Muñoz JM et Del Pozo V. 2019. Exosomes: A new approach to asthma pathology. *Clin Chim Acta*, 495 : 139-147.
- Carlsten C, Dimich-Ward H, Ferguson A, Watson W, Rousseau R, Dybuncio A, Becker A et Chan-Yeung M. 2013. Atopic dermatitis in a high-risk cohort: natural history, associated allergic outcomes, and risk factors. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 110 : 24-28.
- Carreras-Badosa G, Runnel T, Plaas M, Kärner J, Rückert B, Lättekivi F, Köks S, Akdis CA, Kingo K et Rebane A. 2018. microRNA-146a is linked to the production of IgE in mice but not in atopic dermatitis patients. *Allergy*, 73 : 2400-2403.
- Chang CC et Lu Q. 2020. *Epigenetics in allergy and autoimmunity*. Springer, Singapore.
- Chen Q, Meng X, Liao Q et Chen M. 2019. Versatile interactions and bioinformatics analysis of noncoding RNAs. *Brief Bioinform*, 20 : 1781-1794.
- Chen XF, Zhang LJ, Zhang J, Dou X, Shao Y, Jia XJ, Zhang W et Yu B. 2018. MiR-151a is involved in the pathogenesis of atopic dermatitis by regulating interleukin-12 receptor $\beta 2$. *Exp Dermatol*, 27 : 427-432.

Cianferoni A et Spergel J. 2014. The importance of TSLP in allergic disease and its role as a potential therapeutic target. *Expert review of clinical immunology*, 10 : 1463-1474.

Cingi C, Bayar Muluk N et Scadding GK. 2019. Will every child have allergic rhinitis soon? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 118 : 53-58.

Clarke JR, Jenkins MA, Hopper JL, Carlin JB, Mayne C, Clayton DG, Dalton MF, Holst DP et Robertson CF. 2000. Evidence for genetic associations between asthma, atopy, and bronchial hyperresponsiveness: a study of 8- to 18-yr-old twins. *Am J Respir Crit Care Med*, 162 : 2188-2193.

Collison A, Herbert C, Siegle JS, Mattes J, Foster PS et Kumar RK. 2011. Altered expression of microRNA in the airway wall in chronic asthma: miR-126 as a potential therapeutic target. *BMC Pulm Med*, 11 : 29.

Comer BS, Camoretti-Mercado B, Kogut PC, Halayko AJ, Solway J et Gerthoffer WT. 2014. MicroRNA-146a and microRNA-146b expression and anti-inflammatory function in human airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 307 : L727-734.

Conrad ML, Ferstl R, Teich R, Brand S, Blümer N, Yildirim AO, Patrascan CC, Hanuszkiewicz A, Akira S, Wagner H, Holst O, von Mutius E, Pfefferle PI, Kirschning CJ, Garn H et Renz H. 2009. Maternal TLR signaling is required for prenatal asthma protection by the nonpathogenic microbe *Acinetobacter lwoffii* F78. *J Exp Med*, 206 : 2869-2877.

Conroy DM et Williams TJ. 2001. Eotaxin and the attraction of eosinophils to the asthmatic lung. *Respir Res*, 2 : 150-156.

Dahlin A, Sordillo JE, Ziniti J, Iribarren C, Lu M, Weiss ST, Tantisira KG, Lu Q, Kan M, Himes BE, Jorgenson E et Wu AC. 2019. Large-scale, multiethnic genome-wide association study identifies novel loci contributing to asthma susceptibility in adults. *J Allergy Clin Immunol*, 143 : 1633-1635.

Davis JS, Sun M, Kho AT, Moore KG, Sylvia JM, Weiss ST, Lu Q et Tantisira KG. 2017. Circulating microRNAs and association with methacholine PC20 in the Childhood Asthma Management Program (CAMP) cohort. *PLoS One*, 12 : e0180329.

Daya M, Rafaels N, Brunetti TM, Chavan S, Levin AM, Shetty A, Gignoux CR, Boorgula MP, Wojcik G, Campbell M, Vergara C, Torgerson DG, Ortega VE, Doumatey A, Johnston HR, Acevedo N, Araujo MI, Avila PC, Belbin G, Bleeker E, Bustamante C, Caraballo L, Cruz A, Dunston GM, Eng C, Faruque MU, Ferguson TS, Figueiredo C, Ford JG, Gan W, Gourraud PA, Hansel NN, Hernandez RD, Herrera-Paz EF, Jiménez S, Kenny EE, Knight-Madden J, Kumar R, Lange LA, Lange EM, Lizee A, Maul P, Maul T, Mayorga A, Meyers D, Nicolae DL, O'Connor TD, Oliveira RR, Olopade CO, Olopade O, Qin ZS, Rotimi C, Vince N, Watson H, Wilks RJ, Wilson JG, Salzberg S, Ober C, Burchard EG, Williams LK, Beaty TH, Taub MA, Ruczinski I, Mathias RA et Barnes KC. 2019. Association study in African-admixed populations across the Americas recapitulates asthma risk loci in non-African populations. *Nat Commun*, 10 : 880.

Debarry J, Garn H, Hanuszkiewicz A, Dickgreber N, Blümer N, von Mutius E, Bufe A, Gattermann S, Renz H, Holst O et Heine H. 2007. *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *J Allergy Clin Immunol*, 119 : 1514-1521.

Demenaïs F, Margaritte-Jeannin P, Barnes KC, Cookson WOC, Altmüller J, Ang W, Barr RG, Beaty TH, Becker AB, Beilby J, Bisgaard H, Björnsdóttir US, Bleeker E, Bønnelykke K, Boomsma DI, Bouzigon E, Brightling CE, Brossard M, Brusselle GG, Burchard E, Burkart KM, Bush A, Chan-Yeung M, Chung KF, Couto Alves A, Curtin JA, Custovic A, Daley D, de Jongste JC, Del-Rio-Navarro BE, Donohue KM, Duijts L, Eng C, Eriksson JG, Farrall M, Fedorova Y, Feenstra B, Ferreira MA, Freidin MB, Gajdos Z, Gauderman J, Gehring U, Geller F, Genuneit

J, Gharib SA, Gilliland F, Granell R, Graves PE, Gudbjartsson DF, Haahtela T, Heckbert SR, Heederik D, Heinrich J, Heliövaara M, Henderson J, Himes BE, Hirose H, Hirschhorn JN, Hofman A, Holt P, Hottenga J, Hudson TJ, Hui J, Imboden M, Ivanov V, Jaddoe VVW, James A, Janson C, Jarvelin MR, Jarvis D, Jones G, Jonsdottir I, Jousilahti P, Kabesch M, Kähönen M, Kantor DB, Karunas AS, Khusnutdinova E, Koppelman GH, Kozyrskyj AL, Kreiner E, Kubo M, Kumar R, Kumar A, Kuokkanen M, Lahousse L, Laitinen T, Laprise C, Lathrop M, Lau S, Lee YA, Lehtimäki T, Letort S, Levin AM, Li G, Liang L, Loefer LR, London SJ, Loth DW, Manichaikul A, Marenholz I, Martinez FJ, Matheson MC, Mathias RA, Matsumoto K, Mbarek H, McArdle WL, Melbye M, Melén E, Meyers D, Michel S, Mohamdi H, Musk AW, Myers RA, Nieuwenhuis MAE, Noguchi E, O'Connor GT, Ogorodova LM, Palmer CD, Palotie A, Park JE, Pennell CE, Pershagen G, Polonikov A, Postma DS, Probst-Hensch N, Puzyrev VP, Raby BA, Raitakari OT, Ramasamy A, Rich SS, Robertson CF, Romieu I, Salam MT, Salomaa V, Schlünssen V, Scott R, Selivanova PA, Sigsgaard T, Simpson A, Siroux V, Smith LJ, Solodilova M, Standl M, Stefansson K, Strachan DP, Stricker BH, Takahashi A, Thompson PJ, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Tiesler CMT, Torgerson DG, Tsunoda T, Uitterlinden AG, van der Valk RJP, Vaysse A, Vedantam S, von Berg A, von Mutius E, Vonk JM, Waage J, Wareham NJ, Weiss ST, White WB, Wickman M, Widén E, Willemssen G, Williams LK, Wouters IM, Yang JJ, Zhao JH, Moffatt MF, Ober C et Nicolae DL. 2018. Multiancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks. *Nat Genet*, 50 : 42-53.

DeVries A et Vercelli D. 2016. Epigenetic Mechanisms in Asthma. *Ann Am Thorac Soc*, 13 Suppl 1 : S48-50.

Ding Y, Shao X, Li X, Zhai Y, Zhang Y, Wang S et Fang H. 2016. Identification of candidate genes in atopic dermatitis based on bioinformatic methods. *Int J Dermatol*, 55 : 791-800.

Dissanayake E et Inoue Y. 2016. MicroRNAs in Allergic Disease. *Curr Allergy Asthma Rep*, 16 : 67.

Dissanayake E, Inoue Y, Ochiai S, Eguchi A, Nakano T, Yamaide F, Hasegawa S, Kojima H, Suzuki H, Mori C, Kohno Y, Taniguchi M et Shimojo N. 2019. Hsa-mir-144-3p expression is increased in umbilical cord serum of infants with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 143 : 447-450.e411.

Dobyns WB, Filauro A, Tomson BN, Chan AS, Ho AW, Ting NT, Oosterwijk JC et Ober C. 2004. Inheritance of most X-linked traits is not dominant or recessive, just X-linked. *Am J Med Genet A*, 129a : 136-143.

Dong X, Xu M, Ren Z, Gu J, Lu M, Lu Q et Zhong N. 2016. Regulation of CBL and ESR1 expression by microRNA-22-3p, 513a-5p and 625-5p may impact the pathogenesis of dust mite-induced pediatric asthma. *Int J Mol Med*, 38 : 446-456.

Drake MG, Lebold KM, Roth-Carter QR, Pincus AB, Blum ED, Proskocil BJ, Jacoby DB, Fryer AD et Nie Z. 2018. Eosinophil and airway nerve interactions in asthma. *J Leukoc Biol*, 104 : 61-67.

du Toit G, Tsakok T, Lack S et Lack G. 2016. Prevention of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 137 : 998-1010.

Duffy DL, Martin NG, Battistutta D, Hopper JL et Mathews JD. 1990. Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Am Rev Respir Dis*, 142 : 1351-1358.

Dunkin D, Berin MC et Mayer L. 2011. Allergic sensitization can be induced via multiple physiologic routes in an adjuvant-dependent manner. *J Allergy Clin Immunol*, 128 : 1251-1258.e1252.

Durham S. 1998. The inflammatory nature of allergic disease. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 28 : 20-24.

Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, Heederik D, Piarroux R et von Mutius E. 2011. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med*, 364 : 701-709.

Eichenfield LF, Hanifin JM, Beck LA, Lemanske RF, Jr., Sampson HA, Weiss ST et Leung DY. 2003. Atopic dermatitis and asthma: parallels in the evolution of treatment. *Pediatrics*, 111 : 608-616.

Elbehidy RM, Youssef DM, El-Shal AS, Shalaby SM, Sherbiny HS, Sherief LM et Akeel NE. 2016. MicroRNA-21 as a novel biomarker in diagnosis and response to therapy in asthmatic children. *Mol Immunol*, 71 : 107-114.

Eller E, Kjaer HF, Høst A, Andersen KE et Bindslev-Jensen C. 2010. Development of atopic dermatitis in the DARC birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol*, 21 : 307-314.

Elmose C et Thomsen SF. 2015. Twin Studies of Atopic Dermatitis: Interpretations and Applications in the Filaggrin Era. *J Allergy (Cairo)*, 2015 : 902359.

Endara P, Vaca M, Platts-Mills TA, Workman L, Chico ME, Barreto ML, Rodrigues LC et Cooper PJ. 2015. Effect of urban vs. rural residence on the association between atopy and wheeze in Latin America: findings from a case-control analysis. *Clin Exp Allergy*, 45 : 438-447.

Fang C, Lu W, Li C, Peng X, Wang Y, Huang X, Yao Z, Cai N, Huang Y, Zhang X et Tan J. 2016. MiR-3162-3p Is a Novel MicroRNA That Exacerbates Asthma by Regulating β -Catenin. *PLoS One*, 11 : e0149257.

Fernandes JCR, Acuña SM, Aoki JI, Floeter-Winter LM et Muxel SM. 2019. Long Non-Coding RNAs in the Regulation of Gene Expression: Physiology and Disease. *Non-coding RNA*, 5 : 17.

Ferreira D, Carvalho-Pinto R, Gregório M, Annoni R, Teles A, Buttignol M, Araújo-Paulino B, Katayama E, Oliveira B et Del Frari H. 2018. Airway pathology in severe asthma is related to airflow obstruction but not symptom control. *Allergy*, 73 : 635-643.

Ferreira MA, Vonk JM, Baurecht H, Marenholz I, Tian C, Hoffman JD, Helmer Q, Tillander A, Ulleamar V, van Dongen J, Lu Y, Rüschendorf F, Esparza-Gordillo J, Medway CW, Mountjoy E, Burrows K, Hummel O, Grosche S, Brumpton BM, Witte JS, Hottenga JJ, Willemsen G, Zheng J, Rodríguez E, Hotze M, Franke A, Revez JA, Beesley J, Matheson MC, Dharmage SC, Bain LM, Fritsche LG, Gabrielsen ME, Balliu B, Nielsen JB, Zhou W, Hveem K, Langhammer A, Holmen OL, Løset M, Abecasis GR, Willer CJ, Arnold A, Homuth G, Schmidt CO, Thompson PJ, Martin NG, Duffy DL, Novak N, Schulz H, Karrasch S, Gieger C, Strauch K, Melles RB, Hinds DA, Hübner N, Weidinger S, Magnusson PKE, Jansen R, Jorgenson E, Lee YA, Boomsma DI, Almqvist C, Karlsson R, Koppelman GH et Paternoster L. 2017. Shared genetic origin of asthma, hay fever and eczema elucidates allergic disease biology. *Nat Genet*, 49 : 1752-1757.

Ferreira MAR, Mathur R, Vonk JM, Sz wajda A, Brumpton B, Granell R, Brew BK, Ulleamar V, Lu Y, Jiang Y, Magnusson PKE, Karlsson R, Hinds DA, Paternoster L, Koppelman GH et Almqvist C. 2019. Genetic Architectures of Childhood- and Adult-Onset Asthma Are Partly Distinct. *Am J Hum Genet*, 104 : 665-684.

Fesen K, Silveyra P, Fuentes N, Nicoleau M, Rivera L, Kitch D, Graff GR et Siddaiah R. 2019. The role of microRNAs in chronic pseudomonas lung infection in Cystic fibrosis. *Respir Med*, 151 : 133-138.

Fischle W, Tseng BS, Dormann HL, Ueberheide BM, Garcia BA, Shabanowitz J, Hunt DF, Funabiki H et Allis CD. 2005. Regulation of HP1-chromatin binding by histone H3 methylation and phosphorylation. *Nature*, 438 : 1116-1122.

- Flies EJ, Mavoa S, Zosky GR, Mantzioris E, Williams C, Eri R, Brook BW et Buettel JC. 2019. Urban-associated diseases: Candidate diseases, environmental risk factors, and a path forward. *Environ Int*, 133 : 105187.
- Froidure A, Shen C, Gras D, Van Snick J, Chanez P et Pilette C. 2014. Myeloid dendritic cells are primed in allergic asthma for thymic stromal lymphopoietin-mediated induction of Th2 and Th9 responses. *Allergy*, 69 : 1068-1076.
- Froidure A, Mouthuy J, Durham SR, Chanez P, Sibille Y et Pilette C. 2016. Asthma phenotypes and IgE responses. *European Respiratory Journal*, 47 : 304-319.
- Fu A, Leaderer BP, Gent JF, Leaderer D et Zhu Y. 2012. An environmental epigenetic study of ADRB2 5'-UTR methylation and childhood asthma severity. *Clin Exp Allergy*, 42 : 1575-1581.
- Gaffin JM, Raby BA, Petty CR, Hoffman EB, Baccarelli AA, Gold DR et Phipatanakul W. 2014. β -2 adrenergic receptor gene methylation is associated with decreased asthma severity in inner-city schoolchildren: asthma and rhinitis. *Clin Exp Allergy*, 44 : 681-689.
- Gao L, Millstein J, Siegmund KD, Dubeau L, Maguire R, Gilliland FD, Murphy SK, Hoyo C et Breton CV. 2017. Epigenetic regulation of AXL and risk of childhood asthma symptoms. *Clin Epigenetics*, 9 : 121.
- Ghildiyal M et Zamore PD. 2009. Small silencing RNAs: an expanding universe. *Nat Rev Genet*, 10 : 94-108.
- Gibeon D et Menzies-Gow A. 2013. Recent changes in the drug treatment of allergic asthma. *Clin Med (Lond)*, 13 : 477-481.
- Glif A. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2019. 2019.
- Gill MA. 2012. The role of dendritic cells in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129 : 889-901.
- Global Initiative for Asthma. 2020. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 209 pages p.
- Gomez JL. 2019. Epigenetics in Asthma. *Curr Allergy Asthma Rep*, 19 : 56.
- Gon Y et Hashimoto S. 2018. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma. *Allergol Int*, 67 : 12-17.
- Gorska MM. 2017. Natural killer cells in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 17 : 50-54.
- Grant IWB. 1987. Asthma mortality: comparison between New Zealand and England. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 294 : 53-54.
- Grimalt R, Menegeaud V et Cambazard F. 2007. The steroid-sparing effect of an emollient therapy in infants with atopic dermatitis: a randomized controlled study. *Dermatology*, 214 : 61-67.
- Gu H, Chen XS, Chen K, Yan Y, Jing H, Chen XQ, Shao CG et Ye GY. 2001. Evaluation of diagnostic criteria for atopic dermatitis: validity of the criteria of Williams et al. in a hospital-based setting. *Br J Dermatol*, 145 : 428-433.
- Gunawardhana LP, Gibson PG, Simpson JL, Benton MC, Lea RA et Baines KJ. 2014. Characteristic DNA methylation profiles in peripheral blood monocytes are associated with inflammatory phenotypes of asthma. *Epigenetics*, 9 : 1302-1316.

Gustafsson D, Sjöberg O et Foucard T. 2000. Development of allergies and asthma in infants and young children with atopic dermatitis--a prospective follow-up to 7 years of age. *Allergy*, 55 : 240-245.

Ha M et Kim VN. 2014. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15 : 509-524.

Han H, Roan F et Ziegler SF. 2017. The atopic march: current insights into skin barrier dysfunction and epithelial cell-derived cytokines. *Immunol Rev*, 278 : 116-130.

Hanifin JM, Cooper KD, Ho VC, Kang S, Krafchik BR, Margolis DJ, Schachner LA, Sidbury R, Whitmore SE, Sieck CK et Van Voorhees AS. 2004. Guidelines of care for atopic dermatitis, developed in accordance with the American Academy of Dermatology (AAD)/American Academy of Dermatology Association "Administrative Regulations for Evidence-Based Clinical Practice Guidelines". *J Am Acad Dermatol*, 50 : 391-404.

Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF et Tamari M. 2011. Thymic stromal lymphopoietin gene promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 44 : 787-793.

Hassani M et Koenderman L. 2018. Immunological and hematological effects of IL-5 (R α)-targeted therapy: An overview. *Allergy*, 73 : 1979-1988.

Heffler E, Allegra A, Pioggia G, Picardi G, Musolino C et Gangemi S. 2017. MicroRNA Profiling in Asthma: Potential Biomarkers and Therapeutic Targets. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 57 : 642-650.

Henderson J, Northstone K, Lee SP, Liao H, Zhao Y, Pembrey M, Mukhopadhyay S, Smith GD, Palmer CN, McLean WH et Irvine AD. 2008. The burden of disease associated with filaggrin mutations: a population-based, longitudinal birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol*, 121 : 872-877.e879.

Henikoff S et Greally JM. 2016. Epigenetics, cellular memory and gene regulation. *Curr Biol*, 26 : R644-648.

Hermann H, Runnel T, Aab A, Baurecht H, Rodriguez E, Magilnick N, Urgard E, Šahmatova L, Prans E, Maslovskaja J, Abram K, Karelson M, Kaldvee B, Reemann P, Haljasorg U, Rückert B, Wawrzyniak P, Weichenthal M, Mrowietz U, Franke A, Gieger C, Barker J, Trembath R, Tsoi LC, Elder JT, Tkaczyk ER, Kisand K, Peterson P, Kingo K, Boldin M, Weidinger S, Akdis CA et Rebane A. 2017. miR-146b Probably Assists miRNA-146a in the Suppression of Keratinocyte Proliferation and Inflammatory Responses in Psoriasis. *J Invest Dermatol*, 137 : 1945-1954.

Hernandez-Pacheco N, Pino-Yanes M et Flores C. 2019. Genomic Predictors of Asthma Phenotypes and Treatment Response. *Front Pediatr*, 7 : 6.

Herrick CA, Das J, Xu L, Wisnewski AV, Redlich CA et Bottomly K. 2003. Differential roles for CD4 and CD8 T cells after diisocyanate sensitization: genetic control of TH2-induced lung inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 111 : 1087-1094.

Hogan SP. 2009. Functional role of eosinophils in gastrointestinal inflammation. *Immunol Allergy Clin North Am*, 29 : 129-140, xi.

Hoppenot D, Malakauskas K, Lavinskienė S, Bajoriūnienė I, Kalinauskaitė V et Sakalauskas R. 2015. Peripheral blood Th9 cells and eosinophil apoptosis in asthma patients. *Medicina*, 51 : 10-17.

Horimukai K, Morita K, Narita M, Kondo M, Kitazawa H, Nozaki M, Shigematsu Y, Yoshida K, Niizeki H, Motomura K, Sago H, Takimoto T, Inoue E, Kamemura N, Kido H, Hisatsune J, Sugai M, Murota H, Katayama I, Sasaki T, Amagai M, Morita H, Matsuda A, Matsumoto K, Saito H et Ohya Y. 2014. Application of moisturizer to neonates prevents development of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 134 : 824-830.e826.

Houseman EA, Accomando WP, Koestler DC, Christensen BC, Marsit CJ, Nelson HH, Wiencke JK et Kelsey KT. 2012. DNA methylation arrays as surrogate measures of cell mixture distribution. *BMC Bioinformatics*, 13 : 86.

HSU JY, KING SL, KUO BIT et CHIANG CD. 2004. Age of onset and the characteristics of asthma. *Respirology*, 9 : 369-372.

Hu B, Zhong L, Weng Y, Peng L, Huang Y, Zhao Y et Liang X-J. 2020. Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5 : 101.

Hu R, Pan W, Fedulov AV, Jester W, Jones MR, Weiss ST, Panettieri RA, Jr., Tantisira K et Lu Q. 2014. MicroRNA-10a controls airway smooth muscle cell proliferation via direct targeting of the PI3 kinase pathway. *Faseb j*, 28 : 2347-2357.

Huang H-Y, Lin Y-C-D, Li J, Huang K-Y, Shrestha S, Hong H-C, Tang Y, Chen Y-G, Jin C-N, Yu Y, Xu J-T, Li Y-M, Cai X-X, Zhou Z-Y, Chen X-H, Pei Y-Y, Hu L, Su J-J, Cui S-D, Wang F, Xie Y-Y, Ding S-Y, Luo M-F, Chou C-H, Chang N-W, Chen K-W, Cheng Y-H, Wan X-H, Hsu W-L, Lee T-Y, Wei F-X et Huang H-D. 2019. miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA–target interaction database. *Nucleic Acids Research*, 48 : D148-D154.

Iizuka M, Matsui T, Takisawa H et Smith MM. 2006. Regulation of replication licensing by acetyltransferase Hbo1. *Mol Cell Biol*, 26 : 1098-1108.

Inouye T, Tarlo S, Broder I, Corey P, Davies G, Leznoff A, Mintz S et Thomas P. 1985. Severity of asthma in skin test-negative and skin test-positive patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 75 : 313-319.

International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. 1998. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J*, 12 : 315-335.

Ito R, Maruoka S, Soda K, Katano I, Kawai K, Yagoto M, Hanazawa A, Takahashi T, Ogura T, Goto M, Takahashi R, Toyoshima S, Okayama Y, Izuhara K, Gon Y, Hashimoto S, Ito M et Nunomura S. 2018. A humanized mouse model to study asthmatic airway inflammation via the human IL-33/IL-13 axis. *JCI Insight*, 3.

Januskevicius A, Vaitkiene S, Gosens R, Janulaityte I, Hoppenot D, Sakalauskas R et Malakauskas K. 2016. Eosinophils enhance WNT-5a and TGF- β 1 genes expression in airway smooth muscle cells and promote their proliferation by increased extracellular matrix proteins production in asthma. *BMC Pulm Med*, 16 : 94.

Jardim MJ, Dailey L, Silbajoris R et Diaz-Sanchez D. 2012. Distinct microRNA expression in human airway cells of asthmatic donors identifies a novel asthma-associated gene. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 47 : 536-542.

Jeang K-T. 2012. RNAi in the regulation of mammalian viral infections. *BMC biology*, 10 : 58.

Jia HZ, Liu SL, Zou YF, Chen XF, Yu L, Wan J, Zhang HY, Chen Q, Xiong Y, Yu B et Zhang W. 2018a. MicroRNA-223 is involved in the pathogenesis of atopic dermatitis by affecting histamine-N-methyltransferase. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 64 : 103-107.

Jia L, Wang Y, Li J, Li S, Zhang Y, Shen J, Tan W et Wu C. 2017. Detection of IL-9 producing T cells in the PBMCs of allergic asthmatic patients. *BMC immunology*, 18 : 38.

Jia M, Chu C et Wang M. 2018b. Correlation of microRNA profiles with disease risk and severity of allergic rhinitis. *Int J Clin Exp Pathol*, 11 : 1791-1802.

Jira M, Antosova E, Vondra V, Strejcek J, Mazakova H et Prazakova J. 1988. Natural killer and interleukin-2 induced cytotoxicity in asthmatics. I. Effect of acute antigen-specific challenge. *Allergy*, 43 : 294-298.

Kai W, Qian XU et Qun WU. 2015. MicroRNAs and Asthma Regulation. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 14 : 120-125.

Kamen LA, Schlessinger J et Lowell CA. 2011. Pyk2 is required for neutrophil degranulation and host defense responses to bacterial infection. *J Immunol*, 186 : 1656-1665.

Kasaian MT, Marquette K, Fish S, DeClercq C, Agostinelli R, Cook TA, Brennan A, Lee J, Fitz L, Brooks J, Vugmeyster Y, Williams CM, Lofquist A et Tchistiakova L. 2013. An IL-4/IL-13 dual antagonist reduces lung inflammation, airway hyperresponsiveness, and IgE production in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 49 : 37-46.

Kay J, Gawkrödger DJ, Mortimer MJ et Jaron AG. 1994. The prevalence of childhood atopic eczema in a general population. *J Am Acad Dermatol*, 30 : 35-39.

Keil T, Bockelbrink A, Reich A, Hoffmann U, Kamin W, Forster J, Schuster A, Willich SN, Wahn U et Lau S. 2010. The natural history of allergic rhinitis in childhood. *Pediatr Allergy Immunol*, 21 : 962-969.

Kerstjens HA, Engel M, Dahl R, Paggiaro P, Beck E, Vandewalker M, Sigmund R, Seibold W, Moroni-Zentgraf P et Bateman ED. 2012. Tiotropium in asthma poorly controlled with standard combination therapy. *New England Journal of Medicine*, 367 : 1198-1207.

Kho AT, Sharma S, Davis JS, Spina J, Howard D, McEnroy K, Moore K, Sylvia J, Qiu W, Weiss ST et Tantisira KG. 2016. Circulating MicroRNAs: Association with Lung Function in Asthma. *PLoS One*, 11 : e0157998.

Khor SS, Morino R, Nakazono K, Kamitsuji S, Akita M, Kawajiri M, Yamasaki T, Kami A, Hoshi Y, Tada A, Ishikawa K, Hine M, Kobayashi M, Kurume N, Kamatani N, Tokunaga K et Johnson TA. 2018. Genome-wide association study of self-reported food reactions in Japanese identifies shrimp and peach specific loci in the HLA-DR/DQ gene region. *Sci Rep*, 8 : 1069.

Kim KW et Ober C. 2019. Lessons Learned From GWAS of Asthma. *Allergy Asthma Immunol Res*, 11 : 170-187.

Kitajima M, Lee HC, Nakayama T et Ziegler SF. 2011. TSLP enhances the function of helper type 2 cells. *European journal of immunology*, 41 : 1862-1871.

Kivihall A, Aab A, Soja J, Sladek K, Sanak M, Altraja A, Jakiela B, Bochenek G et Rebane A. 2019. Reduced expression of miR-146a in human bronchial epithelial cells alters neutrophil migration. *Clin Transl Allergy*, 9 : 62.

Kohlhaas S, Garden OA, Scudamore C, Turner M, Okkenhaug K et Vigorito E. 2009. Cutting edge: the Foxp3 target miR-155 contributes to the development of regulatory T cells. *J Immunol*, 182 : 2578-2582.

Kouzarides T. 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128 : 693-705.

Kulig M, Bergmann R, Klettke U, Wahn V, Tacke U et Wahn U. 1999. Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life. *J Allergy Clin Immunol*, 103 : 1173-1179.

Kumar D, Puan KJ, Andiappan AK, Lee B, Westerlaken GH, Haase D, Melchiotti R, Li Z, Yusof N, Lum J, Koh G, Foo S, Yeong J, Alves AC, Pekkanen J, Sun LD, Irwanto A, Fairfax BP, Naranbhai V, Common JE, Tang M, Chuang CK, Jarvelin MR, Knight JC, Zhang X, Chew FT, Prabhakar S, Jianjun L, Wang Y, Zolezzi F, Poidinger M, Lane EB, Meyaard L et Röttschke O. 2017. A functional SNP associated with atopic dermatitis controls cell type-specific methylation of the VSTM1 gene locus. *Genome Med*, 9 : 18.

Kumar M, Ahmad T, Sharma A, Mabalirajan U, Kulshreshtha A, Agrawal A et Ghosh B. 2011. Let-7 microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 128 : 1077-1085.e1071-1010.

Lack G, Fox D, Northstone K et Golding J. 2003. Factors associated with the development of peanut allergy in childhood. *N Engl J Med*, 348 : 977-985.

Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W et Tuschl T. 2001. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294 : 853-858.

Laitinen LA, Haahtela T, Vilkkä V, Lee T et Spur BW. 1993. Leukotriene E4 and granulocytic infiltration into asthmatic airways. *The Lancet*, 341 : 989-990.

Lam MT, Li W, Rosenfeld MG et Glass CK. 2014. Enhancer RNAs and regulated transcriptional programs. *Trends Biochem Sci*, 39 : 170-182.

Laprise C. 2014. The Saguenay-Lac-Saint-Jean asthma familial collection: the genetics of asthma in a young founder population. *Genes Immun*, 15 : 247-255.

Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S et Kim VN. 2002. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *Embo j*, 21 : 4663-4670.

Leek JT et Storey JD. 2007. Capturing heterogeneity in gene expression studies by surrogate variable analysis. *PLoS Genet*, 3 : 1724-1735.

Lei DK et Grammer LC. 2019. An overview of allergens. *Allergy Asthma Proc*, 40 : 362-365.

Lei Z, Liu G, Huang Q, Lv M, Zu R, Zhang GM, Feng ZH et Huang B. 2008. SCF and IL-31 rather than IL-17 and BAFF are potential indicators in patients with allergic asthma. *Allergy*, 63 : 327-332.

Levänen B, Bhakta NR, Torregrosa Paredes P, Barbeau R, Hiltbrunner S, Pollack JL, Sköld CM, Svartengren M, Grunewald J, Gabrielsson S, Eklund A, Larsson BM, Woodruff PG, Erle DJ et Wheelock Å M. 2013. Altered microRNA profiles in bronchoalveolar lavage fluid exosomes in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*, 131 : 894-903.

Levitt RC. 1994. Molecular genetic methods for mapping disease genes. *Am J Respir Crit Care Med*, 150 : S94-99.

Li CG, Pu MF, Li CZ, Gao M, Liu MX, Yu CZ, Yan H, Peng C, Zhao Y, Li Y, Ma ZL, Qi XM, Wang YZ, Miao LL et Ren J. 2017a. MicroRNA-1304 suppresses human non-small cell lung cancer cell growth in vitro by targeting heme oxygenase-1. *Acta Pharmacol Sin*, 38 : 110-119.

- Li F, Huang Y, Huang YY, Kuang YS, Wei YJ, Xiang L, Zhang XJ, Jia ZC, Jiang S, Li JY et Wan Y. 2017b. MicroRNA-146a promotes IgE class switch in B cells via upregulating 14-3-3 σ expression. *Mol Immunol*, 92 : 180-189.
- Li HM, Xiao YJ, Min ZS et Tan C. 2019a. Identification and interaction analysis of key genes and microRNAs in atopic dermatitis by bioinformatics analysis. *Clin Exp Dermatol*, 44 : 257-264.
- Li J, Zhang Y, Lin X, Ruan Y, Wang Y, Wang C et Zhang L. 2016a. Association between DNA hypomethylation at IL 13 gene and allergic rhinitis in house dust mite-sensitized subjects. *Clinical & Experimental Allergy*, 46 : 298-307.
- Li L, Zhang S, Jiang X, Liu Y, Liu K et Yang C. 2018a. MicroRNA-let-7e regulates the progression and development of allergic rhinitis by targeting suppressor of cytokine signaling 4 and activating Janus kinase 1/signal transducer and activator of transcription 3 pathway. *Exp Ther Med*, 15 : 3523-3529.
- Li M-Y, Ding J-Q, Tang Q, Hao M-M, Wang B-H, Wu J, Yu L-Z, Jiao M, Luo B-H et Xie M. 2019b. SIRT1 activation by SRT1720 attenuates bone cancer pain via preventing Drp1-mediated mitochondrial fission. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1865 : 587-598.
- Li Y, Mu Z, Wang H, Liu J et Jiang F. 2018b. The role of particulate matters on methylation of IFN- γ and IL-4 promoter genes in pediatric allergic rhinitis. *Oncotarget*, 9 : 17406.
- Li Y, Li N, Mu Z, Ma B, Jiang F et Chen J. 2016b. The study of atmospheric particulate matters and IFN- γ DNA methylation in CD4⁺ T cells from patients with AR children. *Lin chuang er bi yan hou tou jing wai ke za zhi= Journal of clinical otorhinolaryngology, head, and neck surgery*, 30 : 523-529.
- Licona-Limón P, Kim LK, Palm NW et Flavell RA. 2013. T H 2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nature immunology*, 14 : 536.
- Lin CE, Kaptein JS et Sheikh J. 2017. Differential expression of microRNAs and their possible roles in patients with chronic idiopathic urticaria and active hives. *Allergy Rhinol (Providence)*, 8 : 67-80.
- Lin J, Li J, Huang B, Liu J, Chen X, Chen XM, Xu YM, Huang LF et Wang XZ. 2015. Exosomes: novel biomarkers for clinical diagnosis. *ScientificWorldJournal*, 2015 : 657086.
- Lin SJ, Chang LY, Yan DC, Huang YJ, Lin TJ et Lin TY. 2003. Decreased intercellular adhesion molecule-1 (CD54) and L-selectin (CD62L) expression on peripheral blood natural killer cells in asthmatic children with acute exacerbation. *Allergy*, 58 : 67-71.
- Løset M, Brown SJ, Saunes M et Hveem K. 2019. Genetics of Atopic Dermatitis: From DNA Sequence to Clinical Relevance. *Dermatology*, 235 : 355-364.
- Lovinsky-Desir S et Miller RL. 2012. Epigenetics, asthma, and allergic diseases: a review of the latest advancements. *Curr Allergy Asthma Rep*, 12 : 211-220.
- Lowe A, Su J, Allen K, Abramson M, Cranswick N, Robertson C, Forster D, Varigos G, Hamilton S et Kennedy R. 2018. A randomized trial of a barrier lipid replacement strategy for the prevention of atopic dermatitis and allergic sensitization: the PEBBLES pilot study. *British journal of dermatology*, 178 : e19-e21.
- Lu TX et Rothenberg ME. 2013. Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 132 : 3-13; quiz 14.

- Lu TX et Rothenberg ME. 2018. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol*, 141 : 1202-1207.
- Lu Z, Carter AC et Chang HY. 2017. Mechanistic insights in X-chromosome inactivation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 372.
- Lv Y, Qi R, Xu J, Di Z, Zheng H, Huo W, Zhang L, Chen H et Gao X. 2014. Profiling of serum and urinary microRNAs in children with atopic dermatitis. *PLoS One*, 9 : e115448.
- Ma L, Xue HB, Wang F, Shu CM et Zhang JH. 2015. MicroRNA-155 may be involved in the pathogenesis of atopic dermatitis by modulating the differentiation and function of T helper type 17 (Th17) cells. *Clin Exp Immunol*, 181 : 142-149.
- MacArthur J, Bowler E, Cerezo M, Gil L, Hall P, Hastings E, Junkins H, McMahon A, Milano A, Morales J, Pendlington ZM, Welter D, Burdett T, Hindorf L, Flicek P, Cunningham F et Parkinson H. 2016. The new NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog). *Nucleic Acids Research*, 45 : D896-D901.
- Madore AM, Pain L, Boucher-Lafleur AM, Morin A, Meloche J, Simon MM, Ge B, Kwan T, Cheung WA, Pastinen T et Laprise C. 2020. Asthma-associated polymorphisms in 17q12-21 locus modulate methylation and gene expression of GSDMA in naïve CD4(+) T cells. *J Genet Genomics*, 47 : 171-174.
- Maes T, Provoost S, Lanckacker EA, Cataldo DD, Vanoirbeek JA, Nemery B, Tournoy KG et Joos GF. 2010. Mouse models to unravel the role of inhaled pollutants on allergic sensitization and airway inflammation. *Respir Res*, 11 : 7.
- Maes T, Cobos FA, Schleich F, Sorbello V, Henket M, De Preter K, Bracke KR, Conickx G, Mesnil C, Vandesompele J, Lahousse L, Bureau F, Mestdagh P, Joos GF, Ricciardolo FL, Brusselle GG et Louis R. 2016. Asthma inflammatory phenotypes show differential microRNA expression in sputum. *J Allergy Clin Immunol*, 137 : 1433-1446.
- Malaisse J, Bourguignon V, De Vuyst E, Lambert de Rouvroit C, Nikkels AF, Flamion B et Poumay Y. 2014. Hyaluronan metabolism in human keratinocytes and atopic dermatitis skin is driven by a balance of hyaluronan synthases 1 and 3. *J Invest Dermatol*, 134 : 2174-2182.
- Maneechotesuwan K. 2019. Role of microRNA in severe asthma. *Respir Investig*, 57 : 9-19.
- Martin MJ, Estravis M, García-Sánchez A, Dávila I, Isidoro-García M et Sanz C. 2020. Genetics and Epigenetics of Atopic Dermatitis: An Updated Systematic Review. *Genes (Basel)*, 11.
- Martinez-Nunez RT, Louafi F et Sanchez-Elsner T. 2011. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor alpha1 (IL13Ralpha1). *J Biol Chem*, 286 : 1786-1794.
- Martinez-Nunez RT, Bondanese VP, Louafi F, Francisco-Garcia AS, Rupani H, Bedke N, Holgate S, Howarth PH, Davies DE et Sanchez-Elsner T. 2014. A microRNA network dysregulated in asthma controls IL-6 production in bronchial epithelial cells. *PLoS One*, 9 : e111659.
- Mattes J, Collison A, Plank M, Phipps S et Foster PS. 2009. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106 : 18704-18709.

Matucci A, Vultaggio A, Maggi E et Kasujee I. 2018. Is IgE or eosinophils the key player in allergic asthma pathogenesis? Are we asking the right question? *Respiratory research*, 19 : 1-10.

Maurer M et Zuberbier T. 2007. Undertreatment of rhinitis symptoms in Europe: findings from a cross-sectional questionnaire survey. *Allergy*, 62 : 1057-1063.

McBrien CN et Menzies-Gow A. 2017. The Biology of Eosinophils and Their Role in Asthma. *Front Med (Lausanne)*, 4 : 93.

McClure C, Brudecki L, Ferguson DA, Yao ZQ, Moorman JP, McCall CE et El Gazzar M. 2014. MicroRNA 21 (miR-21) and miR-181b couple with NFI-A to generate myeloid-derived suppressor cells and promote immunosuppression in late sepsis. *Infect Immun*, 82 : 3816-3825.

Meisgen F, Xu Landén N, Wang A, Réthi B, Bouez C, Zuccolo M, Gueniche A, Stähle M, Sonkoly E, Breton L et Pivarcsi A. 2014. MiR-146a negatively regulates TLR2-induced inflammatory responses in keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 134 : 1931-1940.

Mi H, Lazareva-Ulitsky B, Loo R, Kejariwal A, Vandergriff J, Rabkin S, Guo N, Muruganujan A, Doremieux O, Campbell MJ, Kitano H et Thomas PD. 2005. The PANTHER database of protein families, subfamilies, functions and pathways. *Nucleic Acids Research*, 33 : D284-D288.

Miller RL, Zhang H, Jezioro J, De Planell Saguier M, Lovinsky-Desir S, Liu X, Perzanowski M, Divjan A, Phipatanakul W et Matsui EC. 2017. Reduced mouse allergen is associated with epigenetic changes in regulatory genes, but not mouse sensitization, in asthmatic children. *Environ Res*, 156 : 619-624.

Mims JW. 2015. Asthma: definitions and pathophysiology. *Int Forum Allergy Rhinol*, 5 Suppl 1 : S2-6.

Mitamura Y, Nunomura S, Nanri Y, Ogawa M, Yoshihara T, Masuoka M, Tsuji G, Nakahara T, Hashimoto-Hachiya A et Conway S. 2018. The IL-13/periostin/IL-24 pathway causes epidermal barrier dysfunction in allergic skin inflammation. *Allergy*, 73 : 1881-1891.

Miyake Y, Hitsumoto S, Tanaka K et Arakawa M. 2015. Association Between TSLP Polymorphisms and Eczema in Japanese Women: the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study. *Inflammation*, 38 : 1663-1668.

Mjösberg J, Bernink J, Golebski K, Karrich JJ, Peters CP, Blom B, te Velde AA, Fokkens WJ, van Drunen CM et Spits H. 2012. The transcription factor GATA3 is essential for the function of human type 2 innate lymphoid cells. *Immunity*, 37 : 649-659.

Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, von Mutius E, Farrall M, Lathrop M et Cookson W. 2010. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N Engl J Med*, 363 : 1211-1221.

Moore LD, Le T et Fan G. 2013. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*, 38 : 23-38.

Morales E, Bustamante M, Vilahur N, Escaramis G, Montfort M, de Cid R, Garcia-Esteban R, Torrent M, Estivill X, Grimalt JO et Sunyer J. 2012. DNA hypomethylation at ALOX12 is associated with persistent wheezing in childhood. *Am J Respir Crit Care Med*, 185 : 937-943.

Morgan WJ, Stern DA, Sherrill DL, Guerra S, Holberg CJ, Guilbert TW, Taussig LM, Wright AL et Martinez FD. 2005. Outcome of asthma and wheezing in the first 6 years of life: follow-up through adolescence. *Am J Respir Crit Care Med*, 172 : 1253-1258.

Mousavi SR, Ahmadi A, Jamalkandi SA et Salimian J. 2019. Involvement of microRNAs in physiological and pathological processes in asthma. *J Cell Physiol*, 234 : 21547-21559.

Mullins RJ, Dear KB et Tang ML. 2015. Time trends in Australian hospital anaphylaxis admissions in 1998-1999 to 2011-2012. *J Allergy Clin Immunol*, 136 : 367-375.

Nair P, Martin JG, Cockcroft DC, Dolovich M, Lemiere C, Boulet LP et O'Byrne PM. 2017. Airway Hyperresponsiveness in Asthma: Measurement and Clinical Relevance. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 5 : 649-659.e642.

Nakagome K et Nagata M. 2018. Involvement and possible role of eosinophils in asthma exacerbation. *Frontiers in immunology*, 9 : 2220.

Nakano T, Inoue Y, Shimojo N, Yamaide F, Morita Y, Arima T, Tomiita M et Kohno Y. 2013. Lower levels of hsa-mir-15a, which decreases VEGFA, in the CD4+ T cells of pediatric patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 132 : 1224-1227.e1212.

National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. 2007. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. Dans : *Atopic Eczema in Children: Management of Atopic Eczema in Children from Birth up to the Age of 12 Years*. RCOG Press
Copyright © 2007, National Collaborating Centre for Women's and Children's Health., London.

Nestor CE, Barrenäs F, Wang H, Lentini A, Zhang H, Bruhn S, Jörnsten R, Langston MA, Rogers G et Gustafsson M. 2014. DNA methylation changes separate allergic patients from healthy controls and may reflect altered CD4+ T-cell population structure. *PLoS Genet*, 10 : e1004059.

Nicodemus-Johnson J, Myers RA, Sakabe NJ, Sobreira DR, Hogarth DK, Naureckas ET, Sperling AI, Solway J, White SR, Nobrega MA, Nicolae DL, Gilad Y et Ober C. 2016. DNA methylation in lung cells is associated with asthma endotypes and genetic risk. *JCI Insight*, 1 : e90151.

Noguchi E, Akiyama M, Yagami A, Hirota T, Okada Y, Kato Z, Kishikawa R, Fukutomi Y, Hide M, Morita E, Aihara M, Hiragun M, Chinuki Y, Okabe T, Ito A, Adachi A, Fukunaga A, Kubota Y, Aoki T, Aoki Y, Nishioka K, Adachi T, Kanazawa N, Miyazawa H, Sakai H, Kozuka T, Kitamura H, Hashizume H, Kanegane C, Masuda K, Sugiyama K, Tokuda R, Furuta J, Higashimoto I, Kato A, Seishima M, Tajiri A, Tomura A, Taniguchi H, Kojima H, Tanaka H, Sakai A, Morii W, Nakamura M, Kamatani Y, Takahashi A, Kubo M, Tamari M, Saito H et Matsunaga K. 2019. HLA-DQ and RBFox1 as susceptibility genes for an outbreak of hydrolyzed wheat allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 144 : 1354-1363.

North ML et Ellis AK. 2011. The role of epigenetics in the developmental origins of allergic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 106 : 355-361; quiz 362.

Nussbaum JC, Van Dyken SJ, von Moltke J, Cheng LE, Mohapatra A, Molofsky AB, Thornton EE, Krummel MF, Chawla A, Liang HE et Locksley RM. 2013. Type 2 innate lymphoid cells control eosinophil homeostasis. *Nature*, 502 : 245-248.

O'Sullivan F, Keenan J, Aherne S, O'Neill F, Clarke C, Henry M, Meleady P, Breen L, Barron N, Clynes M, Horgan K, Doolan P et Murphy R. 2017. Parallel mRNA, proteomics and miRNA expression analysis in cell line models of the intestine. *World J Gastroenterol*, 23 : 7369-7386.

Ohtomo T, Kaminuma O, Yamada J, Kitamura N, Abe A, Kobayashi N, Suko M et Mori A. 2010. Eosinophils are required for the induction of bronchial hyperresponsiveness in a Th transfer model of BALB/c background. *International archives of allergy and immunology*, 152 : 79-82.

Ono K. 2016. A Novel Link between Plasma MicroRNA-33b Levels and Lipid Disorders in Diabetes Mellitus. *J Atheroscler Thromb*, 23 : 1259-1260.

Paller AS, Spergel JM, Mina-Osorio P et Irvine AD. 2019. The atopic march and atopic multimorbidity: Many trajectories, many pathways. *J Allergy Clin Immunol*, 143 : 46-55.

Palmer CN, Ismail T, Lee SP, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Smith FJ, McLean WH et Mukhopadhyay S. 2007. Filaggrin null mutations are associated with increased asthma severity in children and young adults. *J Allergy Clin Immunol*, 120 : 64-68.

Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant A, Munro CS, El Houate B, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S et McLean WH. 2006. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet*, 38 : 441-446.

Pan K, Wang Y, Pan P, Xu G, Mo L, Cao L, Wu C et Shen X. 2019. The regulatory role of microRNA-mRNA co-expression in hepatitis B virus-associated acute liver failure. *Ann Hepatol*, 18 : 883-892.

Panganiban RP, Pinkerton MH, Maru SY, Jefferson SJ, Roff AN et Ishmael FT. 2012. Differential microRNA expression in asthma and the role of miR-1248 in regulation of IL-5. *Am J Clin Exp Immunol*, 1 : 154-165.

Panganiban RP, Wang Y, Howrylak J, Chinchilli VM, Craig TJ, August A et Ishmael FT. 2016. Circulating microRNAs as biomarkers in patients with allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 137 : 1423-1432.

Pauluhn J. 2008. Brown Norway rat asthma model of diphenylmethane-4,4'-diisocyanate (MDI): analysis of the elicitation dose-response relationship. *Toxicol Sci*, 104 : 320-331.

Peng C, Cardenas A, Rifas-Shiman SL, Hivert MF, Gold DR, Platts-Mills TA, Lin X, Oken E, Baccarelli AA, Litonjua AA et DeMeo DL. 2018. Epigenome-wide association study of total serum immunoglobulin E in children: a life course approach. *Clin Epigenetics*, 10 : 55.

Perry MM, Baker JE, Gibeon DS, Adcock IM et Chung KF. 2014. Airway smooth muscle hyperproliferation is regulated by microRNA-221 in severe asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 50 : 7-17.

Perzanowski MS, Ng'ang'a LW, Carter MC, Odhiambo J, Ngari P, Vaughan JW, Chapman MD, Kennedy MW et Platts-Mills TA. 2002. Atopy, asthma, and antibodies to *Ascaris* among rural and urban children in Kenya. *J Pediatr*, 140 : 582-588.

Peters M, Kauth M, Scherner O, Gehlhar K, Steffen I, Wentker P, von Mutius E, Holst O et Bufe A. 2010. Arabinogalactan isolated from cowshed dust extract protects mice from allergic airway inflammation and sensitization. *J Allergy Clin Immunol*, 126 : 648-656.e641-644.

Peters M, Kauth M, Schwarze J, Körner-Rettberg C, Riedler J, Nowak D, Braun-Fahrlander C, von Mutius E, Bufe A et Holst O. 2006. Inhalation of stable dust extract prevents allergen induced airway inflammation and hyperresponsiveness. *Thorax*, 61 : 134-139.

Pham T-H, Damera G, Newbold P et Ranade K. 2016. Reductions in eosinophil biomarkers by benralizumab in patients with asthma. *Respiratory medicine*, 111 : 21-29.

Phelan PD, Robertson CF et Olinsky A. 2002. The Melbourne Asthma Study: 1964-1999. *J Allergy Clin Immunol*, 109 : 189-194.

Pividori M, Schoettler N, Nicolae DL, Ober C et Im HK. 2019. Shared and distinct genetic risk factors for childhood-onset and adult-onset asthma: genome-wide and transcriptome-wide studies. *Lancet Respir Med*, 7 : 509-522.

Plank MW, Maltby S, Tay HL, Stewart J, Eysers F, Hansbro PM et Foster PS. 2015. MicroRNA Expression Is Altered in an Ovalbumin-Induced Asthma Model and Targeting miR-155 with Antagomirs Reveals Cellular Specificity. *PLoS One*, 10 : e0144810.

Platts-Mills TA. 2015. The allergy epidemics: 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol*, 136 : 3-13.

Platts-Mills TA et Woodfolk JA. 2011. Allergens and their role in the allergic immune response. *Immunol Rev*, 242 : 51-68.

Plenge RM, Hendrich BD, Schwartz C, Arena JF, Naumova A, Sapienza C, Winter RM et Willard HF. 1997. A promoter mutation in the XIST gene in two unrelated families with skewed X-chromosome inactivation. *Nat Genet*, 17 : 353-356.

Polikepahad S, Knight JM, Naghavi AO, Oplt T, Creighton CJ, Shaw C, Benham AL, Kim J, Soibam B, Harris RA, Coarfa C, Zariff A, Milosavljevic A, Batts LM, Kheradmand F, Gunaratne PH et Corry DB. 2010. Proinflammatory role for let-7 microRNAs in experimental asthma. *J Biol Chem*, 285 : 30139-30149.

Possa SS, Leick EA, Prado CM, Martins MA et Tibério IF. 2013. Eosinophilic inflammation in allergic asthma. *Front Pharmacol*, 4 : 46.

Potaczek DP, Harb H, Michel S, Alhamwe BA, Renz H et Tost J. 2017. Epigenetics and allergy: from basic mechanisms to clinical applications. *Epigenomics*, 9 : 539-571.

Pulst SM. 1999. Genetic Linkage Analysis. *Archives of Neurology*, 56 : 667-672.

Qin HB, Xu B, Mei JJ, Li D, Liu JJ, Zhao DY et Liu F. 2012. Inhibition of miRNA-221 suppresses the airway inflammation in asthma. *Inflammation*, 35 : 1595-1599.

Qu J, Li M, An J, Zhao B, Zhong W, Gu Q, Cao L, Yang H et Hu C. 2015. MicroRNA-33b inhibits lung adenocarcinoma cell growth, invasion, and epithelial-mesenchymal transition by suppressing Wnt/ β -catenin/ZEB1 signaling. *Int J Oncol*, 47 : 2141-2152.

Quinn SR et O'Neill LA. 2011. A trio of microRNAs that control Toll-like receptor signalling. *Int Immunol*, 23 : 421-425.

Rackemann FM. 1947. A working classification of asthma. *Am J Med*, 3 : 601-606.

Rebane A, Runnel T, Aab A, Maslovskaja J, Rückert B, Zimmermann M, Plaas M, Kärner J, Treis A, Pihlap M, Haljasorg U, Hermann H, Nagy N, Kemeny L, Erm T, Kingo K, Li M, Boldin MP et Akdis CA. 2014. MicroRNA-146a alleviates chronic skin inflammation in atopic dermatitis through suppression of innate immune responses in keratinocytes. *J Allergy Clin Immunol*, 134 : 836-847.e811.

Reinius LE, Acevedo N, Joerink M, Pershagen G, Dahlén SE, Greco D, Söderhäll C, Scheynius A et Kere J. 2012. Differential DNA methylation in purified human blood cells: implications for cell lineage and studies on disease susceptibility. *PLoS One*, 7 : e41361.

Rezaie J, Ajezi S, Avci Ç B, Karimipour M, Geranmayeh MH, Nourazarian A, Sokullu E, Rezabakhsh A et Rahbarghazi R. 2018. Exosomes and their Application in Biomedical Field: Difficulties and Advantages. *Mol Neurobiol*, 55 : 3372-3393.

Roan F, Obata-Ninomiya K et Ziegler SF. 2019. Epithelial cell-derived cytokines: more than just signaling the alarm. *The Journal of clinical investigation*, 129 : 1441-1451.

Rodrigo-Muñoz JM, Cañas JA, Sastre B, Rego N, Greif G, Rial M, Mínguez P, Mahillo-Fernández I, Fernández-Nieto M, Mora I, Barranco P, Quirce S, Sastre J et Del Pozo V. 2019. Asthma diagnosis using integrated analysis of eosinophil microRNAs. *Allergy*, 74 : 507-517.

Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, van Dongen S, Grocock RJ, Das PP, Miska EA, Vetrie D, Okkenhaug K, Enright AJ, Dougan G, Turner M et Bradley A. 2007. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*, 316 : 608-611.

Roff AN, Craig TJ, August A, Stellato C et Ishmael FT. 2014. MicroRNA-570-3p regulates HuR and cytokine expression in airway epithelial cells. *Am J Clin Exp Immunol*, 3 : 68-83.

Romanet-Manent S, Charpin D, Magnan A, Lanteaume A et Vervloet D. 2002. Allergic vs nonallergic asthma: what makes the difference? *Allergy*, 57 : 607-613.

Rosati MG et Peters AT. 2016. Relationships among allergic rhinitis, asthma, and chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*, 30 : 44-47.

Rose CE, Jr., Lannigan JA, Kim P, Lee JJ, Fu SM et Sung SS. 2010. Murine lung eosinophil activation and chemokine production in allergic airway inflammation. *Cell Mol Immunol*, 7 : 361-374.

Rosenwasser LJ. 1996. Genetics of asthma and atopy. *Toxicology Letters*, 86 : 73-77.

Rothenberg ME, Spergel JM, Sherrill JD, Annaiah K, Martin LJ, Cianferoni A, Gober L, Kim C, Glessner J, Frackelton E, Thomas K, Blanchard C, Liacouras C, Verma R, Aceves S, Collins MH, Brown-Whitehorn T, Putnam PE, Franciosi JP, Chiavacci RM, Grant SF, Abonia JP, Sleiman PM et Hakonarson H. 2010. Common variants at 5q22 associate with pediatric eosinophilic esophagitis. *Nat Genet*, 42 : 289-291.

Röther S et Meister G. 2011. Small RNAs derived from longer non-coding RNAs. *Biochimie*, 93 : 1905-1915.

Russkamp D, Aguilar-Pimentel A, Alessandrini F, Gailus-Durner V, Fuchs H, Ohnmacht C, Chaker A, de Angelis MH, Ollert M et Schmidt-Weber CB. 2019. IL-4 receptor α blockade prevents sensitization and alters acute and long-lasting effects of allergen-specific immunotherapy of murine allergic asthma. *Allergy*, 74 : 1549-1560.

Rutledge H, Baran-Gale J, de Villena FP, Chesler EJ, Churchill GA, Sethupathy P et Kelada SN. 2015. Identification of microRNAs associated with allergic airway disease using a genetically diverse mouse population. *BMC Genomics*, 16 : 633.

Saatian B, Rezaee F, Desando S, Emo J, Chapman T, Knowlden S et Georas SN. 2013. Interleukin-4 and interleukin-13 cause barrier dysfunction in human airway epithelial cells. *Tissue barriers*, 1 : e24333.

- Saeki M, Kaminuma O, Nishimura T, Kitamura N, Mori A et Hiroi T. 2017. Th9 cells induce steroid-resistant bronchial hyperresponsiveness in mice. *Allergology International*, 66 : S35-S40.
- Sastre B, Cañas JA, Rodrigo-Muñoz JM et Del Pozo V. 2017. Novel Modulators of Asthma and Allergy: Exosomes and MicroRNAs. *Front Immunol*, 8 : 826.
- Savenije OE, Mahachie John JM, Granell R, Kerkhof M, Dijk FN, de Jongste JC, Smit HA, Brunekreef B, Postma DS, Van Steen K, Henderson J et Koppelman GH. 2014. Association of IL33-IL-1 receptor-like 1 (IL1RL1) pathway polymorphisms with wheezing phenotypes and asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol*, 134 : 170-177.
- Schaefer M, Pollex T, Hanna K, Tuorto F, Meusburger M, Helm M et Lyko F. 2010. RNA methylation by Dnmt2 protects transfer RNAs against stress-induced cleavage. *Genes Dev*, 24 : 1590-1595.
- Schleimer RP et Berdnikovs S. 2017. Etiology of epithelial barrier dysfunction in patients with type 2 inflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 139 : 1752-1761.
- Schmitz R, Atzpodien K et Schlaud M. 2012. Prevalence and risk factors of atopic diseases in German children and adolescents. *Pediatr Allergy Immunol*, 23 : 716-723.
- Schneider A, Gindner L, Tilemann L, Schermer T, Dinant GJ, Meyer FJ et Szecsenyi J. 2009. Diagnostic accuracy of spirometry in primary care. *BMC Pulm Med*, 9 : 31.
- Schoettler N, Rodríguez E, Weidinger S et Ober C. 2019. Advances in asthma and allergic disease genetics: Is bigger always better? *J Allergy Clin Immunol*, 144 : 1495-1506.
- Schuijs MJ, Willart MA, Vergote K, Gras D, Deswarte K, Ege MJ, Madeira FB, Beyaert R, van Loo G, Bracher F, von Mutius E, Chanez P, Lambrecht BN et Hammad H. 2015. Farm dust and endotoxin protect against allergy through A20 induction in lung epithelial cells. *Science*, 349 : 1106-1110.
- Schulman ES. 2001. Development of a monoclonal anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab) for the treatment of allergic respiratory disorders. *Am J Respir Crit Care Med*, 164 : S6-11.
- Sears MR. 2013. The FDA-mandated trial of safety of long-acting beta-agonists in asthma: finality or futility? *Thorax*, 68 : 195-198.
- Shaoqing Y, Ruxin Z, Guojun L, Zhiqiang Y, Hua H, Shudong Y et Jie Z. 2011. Microarray analysis of differentially expressed microRNAs in allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy*, 25 : e242-246.
- Sharma S. 2017. Immunomodulation: A definitive role of microRNA-142. *Dev Comp Immunol*, 77 : 150-156.
- Sherrill DL, Stein R, Halonen M, Holberg CJ, Wright A et Martinez FD. 1999. Total serum IgE and its association with asthma symptoms and allergic sensitization among children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104 : 28-36.
- Sherrill JD, Gao PS, Stucke EM, Blanchard C, Collins MH, Putnam PE, Franciosi JP, Kushner JP, Abonia JP, Assa'ad AH, Kovacic MB, Biagini Myers JM, Bochner BS, He H, Hershey GK, Martin LJ et Rothenberg ME. 2010. Variants of thymic stromal lymphopoietin and its receptor associate with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol*, 126 : 160-165.e163.

Shi S, Jin L, Zhang S, Li H, Zhang B et Sun M. 2018. MicroRNA-590-5p represses proliferation of human fetal airway smooth muscle cells by targeting signal transducer and activator of transcription 3. *Arch Med Sci*, 14 : 1093-1101.

Shimizu M, Matsuda A, Yanagisawa K, Hirota T, Akahoshi M, Inomata N, Ebe K, Tanaka K, Sugiura H, Nakashima K, Tamari M, Takahashi N, Obara K, Enomoto T, Okayama Y, Gao PS, Huang SK, Tominaga S, Ikezawa Z et Shirakawa T. 2005. Functional SNPs in the distal promoter of the ST2 gene are associated with atopic dermatitis. *Hum Mol Genet*, 14 : 2919-2927.

Shrine N, Portelli MA, John C, Soler Artigas M, Bennett N, Hall R, Lewis J, Henry AP, Billington CK, Ahmad A, Packer RJ, Shaw D, Pogson ZEK, Fogarty A, McKeever TM, Singapuri A, Heaney LG, Mansur AH, Chaudhuri R, Thomson NC, Holloway JW, Lockett GA, Howarth PH, Djukanovic R, Hankinson J, Niven R, Simpson A, Chung KF, Sterk PJ, Blakey JD, Adcock IM, Hu S, Guo Y, Obeidat M, Sin DD, van den Berge M, Nickle DC, Bossé Y, Tobin MD, Hall IP, Brightling CE, Wain LV et Sayers I. 2019. Moderate-to-severe asthma in individuals of European ancestry: a genome-wide association study. *Lancet Respir Med*, 7 : 20-34.

Simard M, Madore AM, Girard S, Waserman S, Duan Q, Subbarao P, Sears MR, Moraes TJ, Becker AB, Turvey SE, Mandhane PJ, Morin C, Bégin P et Laprise C. 2020. Polygenic risk score for atopic dermatitis in the Canadian population. *J Allergy Clin Immunol*.

Simpson EL, Chalmers JR, Hanifin JM, Thomas KS, Cork MJ, McLean WH, Brown SJ, Chen Z, Chen Y et Williams HC. 2014a. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *J Allergy Clin Immunol*, 134 : 818-823.

Simpson LJ, Patel S, Bhakta NR, Choy DF, Brightbill HD, Ren X, Wang Y, Pua HH, Baumjohann D, Montoya MM, Panduro M, Remedios KA, Huang X, Fahy JV, Arron JR, Woodruff PG et Ansel KM. 2014b. A microRNA upregulated in asthma airway T cells promotes TH2 cytokine production. *Nat Immunol*, 15 : 1162-1170.

Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, Evans AT, Goudie DR, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Munro CS, Sergeant A, O'Regan G, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Presland RB, Fleckman P et McLean WH. 2006. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Genet*, 38 : 337-342.

Solberg OD, Ostrin EJ, Love MI, Peng JC, Bhakta NR, Hou L, Nguyen C, Solon M, Nguyen C, Barczak AJ, Zlock LT, Blagev DP, Finkbeiner WE, Ansel KM, Arron JR, Erle DJ et Woodruff PG. 2012. Airway epithelial miRNA expression is altered in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 186 : 965-974.

Sonkoly E, Stähle M et Pivarcsi A. 2008. MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation. *Semin Cancer Biol*, 18 : 131-140.

Sonkoly E, Wei T, Janson PC, Sääf A, Lundeberg L, Tengvall-Linder M, Norstedt G, Alenius H, Homey B, Scheynius A, Stähle M et Pivarcsi A. 2007. MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? *PLoS One*, 2 : e610.

Sonkoly E, Janson P, Majuri ML, Savinko T, Fyhrquist N, Eidsmo L, Xu N, Meisgen F, Wei T, Bradley M, Stenvang J, Kauppinen S, Alenius H, Lauerma A, Homey B, Winqvist O, Stähle M et Pivarcsi A. 2010. MiR-155 is overexpressed in patients with atopic dermatitis and modulates T-cell proliferative responses by targeting cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Allergy Clin Immunol*, 126 : 581-589.e581-520.

Sood A, Petersen H, Blanchette CM, Meek P, Picchi MA, Belinsky SA et Tesfaigzi Y. 2012. Methylated Genes in Sputum Among Older Smokers With Asthma. *Chest*, 142 : 425-431.

Specjalski K et Jassem E. 2019. MicroRNAs: Potential Biomarkers and Targets of Therapy in Allergic Diseases? Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 67 : 213-223.

Spergel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, Martin TR, Bhan AK et Geha RS. 1998. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. J Clin Invest, 101 : 1614-1622.

Srivastava A, Nikamo P, Lohcharoenkal W, Li D, Meisgen F, Xu Landén N, Ståhle M, Pivarcsi A et Sonkoly E. 2017. MicroRNA-146a suppresses IL-17-mediated skin inflammation and is genetically associated with psoriasis. J Allergy Clin Immunol, 139 : 550-561.

Stavast CJ et Erkeland SJ. 2019. The Non-Canonical Aspects of MicroRNAs: Many Roads to Gene Regulation. Cells, 8.

Stefanowicz D, Hackett TL, Garmaroudi FS, Günther OP, Neumann S, Sutanto EN, Ling KM, Kobor MS, Kicic A, Stick SM, Paré PD et Knight DA. 2012. DNA methylation profiles of airway epithelial cells and PBMCs from healthy, atopic and asthmatic children. PLoS One, 7 : e44213.

Stein MM, Hrusch CL, Gozdz J, Igartua C, Pivniouk V, Murray SE, Ledford JG, Marques Dos Santos M, Anderson RL, Metwali N, Neilson JW, Maier RM, Gilbert JA, Holbreich M, Thorne PS, Martinez FD, von Mutius E, Vercelli D, Ober C et Sperling AI. 2016. Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. N Engl J Med, 375 : 411-421.

Stevens W, Addo-Yobo E, Roper J, Woodcock A, James H, Platts-Mills T et Custovic A. 2011. Differences in both prevalence and titre of specific immunoglobulin E among children with asthma in affluent and poor communities within a large town in Ghana. Clin Exp Allergy, 41 : 1587-1594.

Strachan DP. 1989. Hay fever, hygiene, and household size. Bmj, 299 : 1259-1260.

Strachan DP. 1997. Allergy and family size: a riddle worth solving. Clin Exp Allergy, 27 : 235-236.

Strid J, Hourihane J, Kimber I, Callard R et Strobel S. 2004. Disruption of the stratum corneum allows potent epicutaneous immunization with protein antigens resulting in a dominant systemic Th2 response. Eur J Immunol, 34 : 2100-2109.

Sun BK et Tsao H. 2008. X-chromosome inactivation and skin disease. J Invest Dermatol, 128 : 2753-2759.

Suojalehto H, Lindström I, Majuri ML, Mitts C, Karjalainen J, Wolff H et Alenius H. 2014. Altered microRNA expression of nasal mucosa in long-term asthma and allergic rhinitis. Int Arch Allergy Immunol, 163 : 168-178.

Suojalehto H, Toskala E, Kilpeläinen M, Majuri ML, Mitts C, Lindström I, Puustinen A, Plosila T, Sipilä J, Wolff H et Alenius H. 2013. MicroRNA profiles in nasal mucosa of patients with allergic and nonallergic rhinitis and asthma. Int Forum Allergy Rhinol, 3 : 612-620.

Sutton B et Gould H. 1993. The human IgE network. Nature, 366 : 421-428.

Tan L, Tao Z, Kong Y et Xu Y. 2018. Reversible immune abnormality and regulatory T cells in offspring of Der p 1-exposed female mice. life, 11 : 14.

Tang H, Jiang H, Zheng J, Li J, Wei Y, Xu G et Li H. 2015. MicroRNA-106b regulates pro-allergic properties of dendritic cells and Th2 polarisation by targeting early growth response-2 in vitro. Int Immunopharmacol, 28 : 866-874.

Tarkowski M, Vanoirbeek JA, Vanhooren HM, De Vooght V, Mercier CM, Ceuppens J, Nemery B et Hoet PH. 2007. Immunological determinants of ventilatory changes induced in mice by dermal sensitization and respiratory challenge with toluene diisocyanate. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 292 : L207-214.

Teixeira LK, Fonseca BP, Barboza BA et Viola JP. 2005. The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100 : 137-144.

Teng Y, Zhang R, Liu C, Zhou L, Wang H, Zhuang W, Huang Y et Hong Z. 2015. miR-143 inhibits interleukin-13-induced inflammatory cytokine and mucus production in nasal epithelial cells from allergic rhinitis patients by targeting IL13R α 1. *Biochem Biophys Res Commun*, 457 : 58-64.

Terl M, Sedlák V, Cap P, Dvořáková R, Kašák V, Kočí T, Novotná B, Seberová E, Panžner P et Zindr V. 2017. Asthma management: a new phenotype-based approach using presence of eosinophilia and allergy. *Allergy*, 72 : 1279-1287.

Thomas M et Pavord I. 2012. Single inhaler maintenance and reliever therapy (SMART) in general practice asthma management: where are we? *Prim Care Respir J*, 21 : 8-10.

Thomsen SF, Ulrik CS, Kyvik KO, Hjelmborg J, Skadhauge LR, Steffensen I et Backer V. 2007. Importance of genetic factors in the etiology of atopic dermatitis: a twin study. *Allergy Asthma Proc*, 28 : 535-539.

Thürmann L, Grützmann K, Klös M, Bieg M, Winter M, Polte T, Bauer T, Schick M, Bewerunge-Hudler M, Röder S, Bauer M, Wissenbach DK, Sack U, Weichenhan D, Mücke O, Plass C, Borte M, von Bergen M, Lehmann I, Eils R et Trump S. 2018. Early-onset childhood atopic dermatitis is related to NLRP2 repression. *J Allergy Clin Immunol*, 141 : 1482-1485.e1416.

Timonen T et Stenius-Aarniala B. 1985. Natural killer cell activity in asthma. *Clin Exp Immunol*, 59 : 85-90.

Tohidinik HR, Mallah N et Takkouche B. 2019. History of allergic rhinitis and risk of asthma; a systematic review and meta-analysis. *World Allergy Organ J*, 12 : 100069.

Trinh HKT, Pham DL, Kim SC, Kim RY, Park HS et Kim SH. 2017. Association of the miR-196a2, miR-146a, and miR-499 Polymorphisms with Asthma Phenotypes in a Korean Population. *Mol Diagn Ther*, 21 : 547-554.

Tworek D, Smith SG, Salter BM, Baatjes AJ, Scime T, Watson R, Obminski C, Gauvreau GM et O'Byrne PM. 2016. IL-25 receptor expression on airway dendritic cells after allergen challenge in subjects with asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 193 : 957-964.

Ullemar V, Lundholm C et Almqvist C. 2015. Twins' risk of childhood asthma mediated by gestational age and birthweight. *Clin Exp Allergy*, 45 : 1328-1336.

Ulrik CS, Backer V et Dirksen A. 1992. A 10 year follow up of 180 adults with bronchial asthma: factors important for the decline in lung function. *Thorax*, 47 : 14-18.

Upadhyaya B, Yin Y, Hill BJ, Douek DC et Prussin C. 2011. Hierarchical IL-5 expression defines a subpopulation of highly differentiated human Th2 cells. *J Immunol*, 187 : 3111-3120.

Urgard E, Lorents A, Klaas M, Padari K, Viil J, Runnel T, Langel K, Kingo K, Tkaczyk E, Langel Ü, Maimets T, Jaks V, Pooga M et Rebane A. 2016. Pre-administration of PepFect6-microRNA-146a nanocomplexes inhibits inflammatory responses in keratinocytes and in a mouse model of irritant contact dermatitis. *J Control Release*, 235 : 195-204.

Uzzaman A et Story R. 2012. Allergic rhinitis. *Allergy and Asthma Proceedings*, 33 : S15-S18.

Vaher H, Runnel T, Urgard E, Aab A, Carreras Badosa G, Maslovskaja J, Abram K, Raam L, Kaldvee B, Annilo T, Tkaczyk ER, Maimets T, Akdis CA, Kingo K et Rebane A. 2019. miR-10a-5p is increased in atopic dermatitis and has capacity to inhibit keratinocyte proliferation. *Allergy*, 74 : 2146-2156.

Valero A, Quirce S, Dávila I, Delgado J et Domínguez-Ortega J. 2017. Allergic respiratory disease: different allergens, different symptoms. *Allergy*, 72 : 1306-1316.

van Rooij E et Kauppinen S. 2014. Development of microRNA therapeutics is coming of age. *EMBO Mol Med*, 6 : 851-864.

Vanoirbeek JA, Tarkowski M, Ceuppens JL, Verbeken EK, Nemery B et Hoet PH. 2004. Respiratory response to toluene diisocyanate depends on prior frequency and concentration of dermal sensitization in mice. *Toxicol Sci*, 80 : 310-321.

Vaquero A, Scher MB, Lee DH, Sutton A, Cheng HL, Alt FW, Serrano L, Sternglanz R et Reinberg D. 2006. SirT2 is a histone deacetylase with preference for histone H4 Lys 16 during mitosis. *Genes Dev*, 20 : 1256-1261.

Venkataraman D, Soto-Ramírez N, Kurukulaaratchy RJ, Holloway JW, Karmaus W, Ewart SL, Arshad SH et Erlewyn-Lajeunesse M. 2014. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with food allergy in childhood and adolescence. *J Allergy Clin Immunol*, 134 : 876-882.e874.

Venkatesh T, Suresh PS et Tsutsumi R. 2016. tRFs: miRNAs in disguise. *Gene*, 579 : 133-138.

Vercelli D. 2016. Does epigenetics play a role in human asthma? *Allergol Int*, 65 : 123-126.

Verjan Garcia N, Umemoto E, Saito Y, Yamasaki M, Hata E, Matozaki T, Murakami M, Jung YJ, Woo SY, Seoh JY, Jang MH, Aozasa K et Miyasaka M. 2011. SIRPα/CD172a regulates eosinophil homeostasis. *J Immunol*, 187 : 2268-2277.

Vogel K, Blümer N, Korthals M, Mittelstädt J, Garn H, Ege M, von Mutius E, Gattermann S, Bufer A, Goldmann T, Schwaiger K, Renz H, Brandau S, Bauer J, Heine H et Holst O. 2008. Animal shed *Bacillus licheniformis* spores possess allergy-protective as well as inflammatory properties. *J Allergy Clin Immunol*, 122 : 307-312, 312.e301-308.

von Mutius E et Vercelli D. 2010. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nature reviews Immunology*, 10 : 861-868.

Vroman H, Hendriks RW et Kool M. 2017. Dendritic cell subsets in asthma: impaired tolerance or exaggerated inflammation? *Frontiers in immunology*, 8 : 941.

Waage J, Standl M, Curtin JA, Jessen LE, Thorsen J, Tian C, Schoettler N, Flores C, Abdellaoui A, Ahluwalia TS, Alves AC, Amaral AFS, Antó JM, Arnold A, Barreto-Luis A, Baurecht H, van Beijsterveldt CEM, Bleecker ER, Bonàs-Guarch S, Boomsma DI, Brix S, Bunyavanich S, Burchard EG, Chen Z, Curjuric I, Custovic A, den Dekker HT, Dharmage SC, Dmitrieva J, Duijts L, Ege MJ, Gauderman WJ, Georges M, Gieger C, Gilliland F, Granell R, Gui H, Hansen T, Heinrich J, Henderson J, Hernandez-Pacheco N, Holt P, Imboden M, Jaddoe VWV, Jarvelin MR, Jarvis DL, Jensen KK, Jónsdóttir I, Kabesch M, Kaprio J, Kumar A, Lee YA, Levin AM, Li X, Lorenzo-Diaz F, Melén E, Mercader JM, Meyers DA, Myers R, Nicolae DL, Nohr EA, Palviainen T, Paternoster L, Pennell CE, Pershagen G, Pino-Yanes M, Probst-Hensch NM, Rüschendorf F, Simpson A, Stefansson K, Sunyer J, Sveinbjornsson G, Thiering E, Thompson PJ, Torrent M, Torrents D, Tung JY, Wang CA, Weidinger

S, Weiss S, Willemsen G, Williams LK, Ober C, Hinds DA, Ferreira MA, Bisgaard H, Strachan DP et Bønnelykke K. 2018. Genome-wide association and HLA fine-mapping studies identify risk loci and genetic pathways underlying allergic rhinitis. *Nat Genet*, 50 : 1072-1080.

Waddington CH. 2008. The Basic Ideas of Biology. *Biological Theory*, 3 : 238-253.

Wang H, Yao H, Yi B, Kazama K, Liu Y, Deshpande D, Zhang J et Sun J. 2018a. MicroRNA-638 inhibits human airway smooth muscle cell proliferation and migration through targeting cyclin D1 and NOR1. *J Cell Physiol*, 234 : 369-381.

Wang L, Zhu J, Deng FY, Wu LF, Mo XB, Zhu XW, Xia W, Xie FF, He P, Bing PF, Qiu YH, Lin X, Lu X, Zhang L, Yi NJ, Zhang YH et Lei SF. 2018b. Correlation analyses revealed global microRNA-mRNA expression associations in human peripheral blood mononuclear cells. *Mol Genet Genomics*, 293 : 95-105.

Wang Y, Yang L, Li P, Huang H, Liu T, He H, Lin Z, Jiang Y, Ren N, Wu B, Kamp DW, Tan J et Liu G. 2015. Circulating microRNA Signatures Associated with Childhood Asthma. *Clin Lab*, 61 : 467-474.

Wang Y-H, Ito T, Wang Y-H, Homey B, Watanabe N, Martin R, Barnes CJ, McIntyre BW, Gilliet M et Kumar R. 2006. Maintenance and polarization of human TH2 central memory T cells by thymic stromal lymphopoietin-activated dendritic cells. *Immunity*, 24 : 827-838.

Wardzyńska A, Pawełczyk M, Rywaniak J, Kurowski M, Makowska JS et Kowalski ML. 2020. Circulating MicroRNAs and T-Cell Cytokine Expression Are Associated With the Characteristics of Asthma Exacerbation. *Allergy Asthma Immunol Res*, 12 : 125-136.

Weidner J, Ekerljung L, Malmhäll C, Miron N et Rådinger M. 2020a. Circulating microRNAs correlate to clinical parameters in individuals with allergic and non-allergic asthma. *Respir Res*, 21 : 107.

Weidner J, Bartel S, Kılıç A, Zissler UM, Renz H, Schwarze Jr, Schmidt-Weber CB, Maes T, Rebane A, Krauss-Etschmann S et Rådinger M. 2020b. Spotlight on microRNAs in allergy and asthma. *Allergy*.

Wen T, Mingler MK, Blanchard C, Wahl B, Pabst O et Rothenberg ME. 2012. The pan-B cell marker CD22 is expressed on gastrointestinal eosinophils and negatively regulates tissue eosinophilia. *J Immunol*, 188 : 1075-1082.

Williams H, Jburney P, Pembroke A, Hay R et Party ADDCW. 1994a. The UK Working Party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. III. Independent hospital validation. *British journal of dermatology*, 131 : 406-416.

Williams H, Stewart A, von Mutius E, Cookson W et Anderson HR. 2008. Is eczema really on the increase worldwide? *J Allergy Clin Immunol*, 121 : 947-954.e915.

Williams H, Jburney P, Hay R, Archer C, Shipley M, Ahunter J, Bingham E, Finlay A, Pembroke A et CGRAHAM-BROWN R. 1994b. The UK Working Party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis. I. Derivation of a minimum set of discriminators for atopic dermatitis. *British journal of dermatology*, 131 : 383-396.

Wong CK, Hu S, Cheung PF et Lam CW. 2010. Thymic stromal lymphopoietin induces chemotactic and prosurvival effects in eosinophils: implications in allergic inflammation. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 43 : 305-315.

Wong D, Elovic A, Matossian K, Nagura N, McBride J, Chou MY, Gordon JR, Rand TH, Galli SJ et Weller PF. 1991. Eosinophils from patients with blood eosinophilia express transforming growth factor beta 1.

Wu C et Morris JR. 2001. Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science*, 293 : 1103-1105.

Wu G, Yang G, Zhang R, Xu G, Zhang L, Wen W, Lu J, Liu J et Yu Y. 2015. Altered microRNA Expression Profiles of Extracellular Vesicles in Nasal Mucus From Patients With Allergic Rhinitis. *Allergy Asthma Immunol Res*, 7 : 449-457.

Xu CJ, Söderhäll C, Bustamante M, Baiz N, Gruzieva O, Gehring U, Mason D, Chatzi L, Basterrechea M, Llop S, Torrent M, Forastiere F, Fantini MP, Carlsen KCL, Haahtela T, Morin A, Kerkhof M, Merid SK, van Rijkom B, Jankipersadsing SA, Bonder MJ, Ballereau S, Vermeulen CJ, Aguirre-Gamboa R, de Jongste JC, Smit HA, Kumar A, Pershagen G, Guerra S, Garcia-Aymerich J, Greco D, Reinius L, McEachan RRC, Azad R, Hovland V, Mowinckel P, Alenius H, Fyhrquist N, Lemonnier N, Pellet J, Auffray C, van der Vlies P, van Diemen CC, Li Y, Wijmenga C, Netea MG, Moffatt MF, Cookson W, Anto JM, Bousquet J, Laatikainen T, Laprise C, Carlsen KH, Gori D, Porta D, Iñiguez C, Bilbao JR, Kogevinas M, Wright J, Brunekreef B, Kere J, Nawijn MC, Annesi-Maesano I, Sunyer J, Melén E et Koppelman GH. 2018. DNA methylation in childhood asthma: an epigenome-wide meta-analysis. *Lancet Respir Med*, 6 : 379-388.

Xu CZ, Shi RJ, Chen D, Sun YY, Wu QW, Wang T et Wang PH. 2013. Potential biomarkers for paclitaxel sensitivity in hypopharynx cancer cell. *Int J Clin Exp Pathol*, 6 : 2745-2756.

Yan J, Zhang X, Sun S, Yang T, Yang J, Wu G, Qiu Y, Yin Y et Xu W. 2019. miR-29b Reverses T helper 1 cells/T helper 2 cells Imbalance and Alleviates Airway Eosinophils Recruitment in OVA-Induced Murine Asthma by Targeting Inducible Co-Stimulator. *Int Arch Allergy Immunol*, 180 : 182-194.

Yan SR et Novak MJ. 1999. Beta2 integrin-dependent phosphorylation of protein-tyrosine kinase Pyk2 stimulated by tumor necrosis factor alpha and fMLP in human neutrophils adherent to fibrinogen. *FEBS Lett*, 451 : 33-38.

Yang CW, Hojer CD, Zhou M, Wu X, Wuster A, Lee WP, Yaspan BL et Chan AC. 2016. Regulation of T Cell Receptor Signaling by DENND1B in TH2 Cells and Allergic Disease. *Cell*, 164 : 141-155.

Yang IV, Lozupone CA et Schwartz DA. 2017a. The environment, epigenome, and asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 140 : 14-23.

Yang IV, Pedersen BS, Liu A, O'Connor GT, Teach SJ, Kattan M, Misiak RT, Gruchalla R, Steinbach SF, Szefer SJ, Gill MA, Calatroni A, David G, Hennessy CE, Davidson EJ, Zhang W, Gergen P, Togias A, Busse WW et Schwartz DA. 2015. DNA methylation and childhood asthma in the inner city. *J Allergy Clin Immunol*, 136 : 69-80.

Yang IV, Pedersen BS, Liu AH, O'Connor GT, Pillai D, Kattan M, Misiak RT, Gruchalla R, Szefer SJ, Khurana Hershey GK, Kercsmar C, Richards A, Stevens AD, Kolakowski CA, Makhija M, Sorkness CA, Krouse RZ, Visness C, Davidson EJ, Hennessy CE, Martin RJ, Togias A, Busse WW et Schwartz DA. 2017b. The nasal methylome and childhood atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 139 : 1478-1488.

Yang Z, Zeng B, Wang C, Wang H, Huang P et Pan Y. 2017c. MicroRNA-124 alleviates chronic skin inflammation in atopic eczema via suppressing innate immune responses in keratinocytes. *Cell Immunol*, 319 : 53-60.

Ying S, Robinson DS, Meng Q, Rottman J, Kennedy R, Ringler DJ, Mackay CR, Daugherty BL, Springer MS et Durham SR. 1997. Enhanced expression of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsiveness and predominant co-localization of eotaxin mRNA to bronchial epithelial and endothelial cells. *European journal of immunology*, 27 : 3507-3516.

Young R, Dekker J, Wordsworth B, Schou C, Pile K, Matthiesen F, Rosenberg W, Bell J, Hopkin J et Cookson W. 1994. HLA-DR and HLA-DP genotypes and immunoglobulin E responses to common major allergens. *Clinical & Experimental Allergy*, 24 : 431-439.

Yu S, Zhang R, Zhu C, Cheng J, Wang H et Wu J. 2013. MicroRNA-143 downregulates interleukin-13 receptor alpha1 in human mast cells. *Int J Mol Sci*, 14 : 16958-16969.

Yunginger JW, Reed CE, O'Connell EJ, Melton LJ, 3rd, O'Fallon WM et Silverstein MD. 1992. A community-based study of the epidemiology of asthma. Incidence rates, 1964-1983. *Am Rev Respir Dis*, 146 : 888-894.

Zeng YP, Nguyen GH et Jin HZ. 2016. MicroRNA-143 inhibits IL-13-induced dysregulation of the epidermal barrier-related proteins in skin keratinocytes via targeting to IL-13R α 1. *Mol Cell Biochem*, 416 : 63-70.

Zhan JW, Jiao DM, Wang Y, Song J, Wu JH, Wu LJ, Chen QY et Ma SL. 2017. Integrated microRNA and gene expression profiling reveals the crucial miRNAs in curcumin anti-lung cancer cell invasion. *Thorac Cancer*, 8 : 461-470.

Zhang P, Wu W, Chen Q et Chen M. 2019. Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *J Integr Bioinform*, 16.

Zhang R. 2018. The epigenetics of autoimmunity. Academic Press, an imprint of Elsevier, London.

Zhang X-H, Zhang Y-N et Liu Z. 2014. MicroRNA in chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis. *Current allergy and asthma reports*, 14 : 415.

Zhou H, Hu H et Lai M. 2010. Non-coding RNAs and their epigenetic regulatory mechanisms. *Biol Cell*, 102 : 645-655.

Zhu Z, Lee PH, Chaffin MD, Chung W, Loh PR, Lu Q, Christiani DC et Liang L. 2018. A genome-wide cross-trait analysis from UK Biobank highlights the shared genetic architecture of asthma and allergic diseases. *Nat Genet*, 50 : 857-864.

Annexe A Matériel supplémentaire

Table 14 : List of phenotypes tested to look at phenotypic differences between clusters and results of analyses

Phenotypic explanation	Pval ^a
Age	0.461
Sex	0.361
BMI	0.346
Smoke history over 20 years	0.260
Smoke status	0.251
Basophil count	0.384
Basophil %	0.671
Eosinophil count	0.105
Eosinophil %	0.117
Lymphocyte count	0.061
Lymphocyte %	0.768
Monocyte count	0.862
Monocyte %	0.243
Neutrophil count	0.027
Neutrophil %	0.740
PC ₂₀	0.457
IgE	0.935
FEV ₁	0.884
FEV ₁ /FVC	0.545
Atopy	0,506
Asthma	
Diagnostic	0.047
Treatment	0.119
Age of onset	0.138
Familial history	
Atopic dermatitis	0.363
Allergic rhinitis	0.008
Asthma	0.417
Respiratory diseases	0.013
Bronchitis	0.263
Emphysema	0.784
Hives	0.943
Tuberculosis	0.878
Personnal history	

Atopic dermatitis	0.399
Allergic rhinitis	0.859

^aP values obtained after application of the Fisher's exact test, one-way Anova or Kruskal-Wallis test, depending on the phenotype data type. P values in bold are significant (< 0.05).

Table 15 : Top 25 miRNA-gene target pairs for negative and positive correlations

Negative correlations			
miRNA	Gene	r	FDR
miR-2355	<i>RPL41</i>	-0,635	9,78E-18
miR-29B2	<i>KCTD15</i>	-0,589	6,27E-15
miR-29B2	<i>CDC23</i>	-0,587	8,03E-15
miR-29B2	<i>P3H1</i>	-0,576	3,42E-14
miR-29B2	<i>NNT</i>	-0,560	2,30E-13
miR-29B2	<i>PIGS</i>	-0,550	7,59E-13
miR-29B2	<i>AMFR</i>	-0,548	9,76E-13
miR-3175	<i>CREBL2</i>	-0,543	1,76E-12
miR-590	<i>UQCRB</i>	-0,542	1,88E-12
miR-590	<i>MRPL50</i>	-0,529	7,74E-12
miR-29B2	<i>ENPP2</i>	-0,526	1,13E-11
miR-142	<i>SRSF7</i>	-0,520	2,12E-11
miR-29B2	<i>MAZ</i>	-0,513	4,38E-11
miR-29B2	<i>ITGA6</i>	-0,511	5,36E-11
miR-590	<i>NOA1</i>	-0,508	7,08E-11
miR-2355	<i>MRPL4</i>	-0,504	1,06E-10
miR-142	<i>RPS19</i>	-0,499	1,72E-10
miR-29B2	<i>TRAM2</i>	-0,498	1,86E-10
miR-142	<i>PEBP1</i>	-0,480	9,79E-10
miR-590	<i>NDUFB5</i>	-0,476	1,42E-09
miR-590	<i>TIMM29</i>	-0,476	1,46E-09
miR-29B2	<i>TDG</i>	-0,472	2,11E-09
miR-590	<i>NUPL2</i>	-0,470	2,44E-09
miR-590	<i>NDUFA12</i>	-0,466	3,37E-09
miR-4434	<i>SNRPD1</i>	-0,465	3,76E-09
Positive correlations			
miRNA	Gene	r	FDR
miR-29B2	<i>STAT3</i>	0,718	3,18E-24
miR-2355	<i>TAOK1</i>	0,699	1,46E-22
miR-29B2	<i>FAM53C</i>	0,687	1,50E-21
miR-29B2	<i>SH3GLB1</i>	0,682	3,53E-21

miR-29B2	<i>TPD52L2</i>	0,679	5,75E-21
miR-29B2	<i>WDR26</i>	0,679	5,82E-21
miR-29B2	<i>MDM2</i>	0,662	1,16E-19
miR-3175	<i>KDM6B</i>	0,657	2,76E-19
miR-2355	<i>WAPL</i>	0,655	4,31E-19
miR-29B2	<i>RAB11FIP1</i>	0,639	5,07E-18
miR-29B2	<i>GSK3B</i>	0,636	8,58E-18
miR-29B2	<i>TET2</i>	0,633	1,34E-17
miR-29B2	<i>FAM71F2</i>	0,633	1,42E-17
miR-2355	<i>VPS8</i>	0,628	2,67E-17
miR-29B2	<i>PTEN</i>	0,626	3,82E-17
miR-29B2	<i>LASP1</i>	0,626	3,93E-17
miR-29B2	<i>R3HDM4</i>	0,622	7,00E-17
miR-29B2	<i>KDM2A</i>	0,621	7,63E-17
miR-29B2	<i>SP1</i>	0,613	2,40E-16
miR-29B2	<i>LRP10</i>	0,609	4,66E-16
miR-29B2	<i>IFIH1</i>	0,606	6,91E-16
miR-590	<i>MED13L</i>	0,606	7,03E-16
miR-29B2	<i>IMPDH1</i>	0,605	7,91E-16
miR-29B2	<i>MCL1</i>	0,603	9,49E-16
miR-3175	<i>KMT2D</i>	0,597	2,24E-15

Table 16 : PANTHER pathways included in each general category and number of gene targets

Negative correlations		
General category	PANTHER Pathway	Nb of gene targets
Cell growth, differentiation, division and apoptosis	Apoptosis signaling pathway (P00006)	4
	CCKR signaling map (P06959)	3
	PI3 kinase pathway (P00048)	2
	PDGF signaling pathway (P00047)	2
	Oxidative stress response (P00046)	1
	Notch signaling pathway (P00045)	2
	Integrin signalling pathway (P00034)	5
	Insulin/IGF pathway-protein kinase B signaling cascade (P00033)	1
	Insulin/IGF pathway-mitogen activated protein kinase kinase/MAP kinase cascade (P00032)	1
	p53 pathway by glucose deprivation (P04397)	1
	Hypoxia response via HIF activation (P00030)	2
	Vitamin D metabolism and pathway (P04396)	1
	Ras Pathway (P04393)	2
	Huntington disease (P00029)	1
	FGF signaling pathway (P00021)	2
	FAS signaling pathway (P00020)	1
	Endothelin signaling pathway (P00019)	1
	EGF receptor signaling pathway (P00018)	2
	Cytoskeletal regulation by Rho GTPase (P00016)	1
	Cell cycle (P00013)	2
Brain, neurotransmission and nervous system signaling pathways	Axon guidance mediated by Slit/Robo (P00008)	1
	Axon guidance mediated by semaphorins (P00007)	1
	Parkinson disease (P00049)	4
	Nicotinic acetylcholine receptor signaling pathway (P00044)	2
	Muscarinic acetylcholine receptor 2 and 4 signaling pathway (P00043)	1

	Muscarinic acetylcholine receptor 1 and 3 signaling pathway (P00042)	1
	Metabotropic glutamate receptor group II pathway (P00040)	1
	GABA-B receptor II signaling (P05731)	1
	Endogenous cannabinoid signaling (P05730)	1
	Metabotropic glutamate receptor group III pathway (P00039)	1
	Heterotrimeric G-protein signaling pathway-rod outer segment phototransduction (P00028)	1
	Heterotrimeric G-protein signaling pathway-Gq alpha and Go alpha mediated pathway (P00027)	2
	Heterotrimeric G-protein signaling pathway-Gi alpha and Gs alpha mediated pathway (P00026)	2
	Opioid proopiomelanocortin pathway (P05917)	1
	Opioid prodynorphin pathway (P05916)	1
	Opioid proenkephalin pathway (P05915)	1
	Enkephalin release (P05913)	1
	Dopamine receptor mediated signaling pathway (P05912)	1
	Corticotropin releasing factor receptor signaling pathway (P04380)	1
	5HT4 type receptor mediated signaling pathway (P04376)	1
	5HT2 type receptor mediated signaling pathway (P04374)	2
	5HT1 type receptor mediated signaling pathway (P04373)	1
Immune response	Toll receptor signaling pathway (P00054)	1
	T cell activation (P00053)	2
	TGF-beta signaling pathway (P00052)	5
	JAK/STAT signaling pathway (P00038)	1
	Interleukin signaling pathway (P00036)	2
	Interferon-gamma signaling pathway (P00035)	1
	Inflammation mediated by chemokine and cytokine signaling pathway (P00031)	3
	Cadherin signaling pathway (P00012)	2
	B cell activation (P00010)	3
	Alzheimer disease-presenilin pathway (P00004)	3

Protein biosynthesis, cleavage and modification	Alzheimer disease-amyloid secretase pathway (P00003)	1
	Cholesterol biosynthesis (P00014)	1
	Methionine biosynthesis (P02753)	1
	Ubiquitin proteasome pathway (P00060)	3
	Wnt signaling pathway (P00057)	1
	Oxytocin receptor mediated signaling pathway (P04391)	2
DNA and RNA biosynthesys, replication	p53 pathway (P00059)	4
	Transcription regulation by bZIP transcription factor (P00055)	1
	De novo pyrimidine ribonucleotides biosynthesis (P02740)	2
	p53 pathway feedback loops 2 (P04398)	2
	P53 pathway feedback loops 1 (P04392)	1
	General transcription regulation (P00023)	1
	General transcription by RNA polymerase I (P00022)	2
	Salvage pyrimidine ribonucleotides (P02775)	1
	DNA replication (P00017)	2
Hormonal regulation	Gonadotropin-releasing hormone receptor pathway (P06664)	4
	Thyrotropin-releasing hormone receptor signaling pathway (P04394)	2
	S-adenosylmethionine biosynthesis (P02773)	1
Angiogenesis	Angiogenesis (P00005)	2
	VEGF signaling pathway (P00056)	1
Smooth muscle cells proliferation, relaxation and growth	Alpha adrenergic receptor signaling pathway (P00002)	2
	Angiotensin II-stimulated signaling through G proteins and beta-arrestin (P05911)	3
	Histamine H2 receptor mediated signaling pathway (P04386)	1
	Histamine H1 receptor mediated signaling pathway (P04385)	2
	Beta2 adrenergic receptor signaling pathway (P04378)	1
Energy production	Fructose galactose metabolism (P02744)	1
	TCA cycle (P00051)	1
	Triacylglycerol metabolism (P02782)	1

	Glycolysis (P00024)	1
	Beta3 adrenergic receptor signaling pathway (P04379)	1
Aldehyde transport and reactions	Formyltetrahydroformate biosynthesis (P02743)	1
	Coenzyme A biosynthesis (P02736)	1
Muscle relaxation	Beta1 adrenergic receptor signaling pathway (P04377)	1
Positive correlations		
General category	PANTHER Pathway	Nb of gene targets
Cell growth, differentiation, division and apoptosis	Apoptosis signaling pathway (P00006)	4
	CCKR signaling map (P06959)	3
	Parkinson disease (P00049)	7
	PI3 kinase pathway (P00048)	6
	PDGF signaling pathway (P00047)	3
	Oxidative stress response (P00046)	6
	Notch signaling pathway (P00045)	1
	JAK/STAT signaling pathway (P00038)	1
	Integrin signalling pathway (P00034)	5
	Insulin/IGF pathway-protein kinase B signaling cascade (P00033)	2
	Insulin/IGF pathway-mitogen activated protein kinase kinase/MAP kinase cascade (P00032)	2
	p53 pathway feedback loops 2 (P04398)	5
	p53 pathway by glucose deprivation (P04397)	1
	Hypoxia response via HIF activation (P00030)	2
	Ras Pathway (P04393)	5
	Huntington disease (P00029)	1
	Heterotrimeric G-protein signaling pathway-Gq alpha and Go alpha mediated pathway (P00027)	2
	p38 MAPK pathway (P05918)	1
	Hedgehog signaling pathway (P00025)	3
	FGF signaling pathway (P00021)	6

	FAS signaling pathway (P00020)	1
	S-adenosylmethionine biosynthesis (P02773)	1
	EGF receptor signaling pathway (P00018)	2
	Cell cycle (P00013)	1
Immune response	Toll receptor signaling pathway (P00054)	2
	T cell activation (P00053)	3
	TGF-beta signaling pathway (P00052)	5
	Interleukin signaling pathway (P00036)	1
	Interferon-gamma signaling pathway (P00035)	1
	Inflammation mediated by chemokine and cytokine signaling pathway (P00031)	2
	Cadherin signaling pathway (P00012)	1
	B cell activation (P00010)	1
Brain, neurotransmission and nervous system signaling pathways	Axon guidance mediated by netrin (P00009)	4
	Axon guidance mediated by Slit/Robo (P00008)	2
	Axon guidance mediated by semaphorins (P00007)	3
	Nicotinic acetylcholine receptor signaling pathway (P00044)	4
	Muscarinic acetylcholine receptor 2 and 4 signaling pathway (P00043)	2
	Muscarinic acetylcholine receptor 1 and 3 signaling pathway (P00042)	3
	Metabotropic glutamate receptor group I pathway (P00041)	2
	Synaptic vesicle trafficking (P05734)	1
	Thyrotropin-releasing hormone receptor signaling pathway (P04394)	3
	Oxytocin receptor mediated signaling pathway (P04391)	3
	Heterotrimeric G-protein signaling pathway-rod outer segment phototransduction (P00028)	5
	Corticotropin releasing factor receptor signaling pathway (P04380)	2
	Endothelin signaling pathway (P00019)	1
	Cytoskeletal regulation by Rho GTPase (P00016)	3
	Circadian clock system (P00015)	2
	5HT2 type receptor mediated signaling pathway (P04374)	3

	5-Hydroxytryptamine degradation (P04372)	2
Hormonal regulation	Gonadotropin-releasing hormone receptor pathway (P06664)	11
Tissue remodeling and angiogenesis	Angiogenesis (P00005)	7
	VEGF signaling pathway (P00056)	2
	Plasminogen activating cascade (P00050)	1
Protein biosynthesis, cleavage and modification	Alzheimer disease-presenilin pathway (P00004)	3
	Alzheimer disease-amyloid secretase pathway (P00003)	1
	Ubiquitin proteasome pathway (P00060)	7
	Wnt signaling pathway (P00057)	8
	Heterotrimeric G-protein signaling pathway-Gi alpha and Gs alpha mediated pathway (P00026)	1
	Cholesterol biosynthesis (P00014)	1
DNA and RNA biosynthesis, replication	p53 pathway (P00059)	4
	Transcription regulation by bZIP transcription factor (P00055)	2
	De novo purine biosynthesis (P02738)	1
	P53 pathway feedback loops 1 (P04392)	3
	General transcription regulation (P00023)	1
	General transcription by RNA polymerase I (P00022)	2
	Pentose phosphate pathway (P02762)	1
Smooth muscle cells proliferation, relaxation and growth	Alpha adrenergic receptor signaling pathway (P00002)	1
	Angiotensin II-stimulated signaling through G proteins and beta-arrestin (P05911)	2
	Histamine H1 receptor mediated signaling pathway (P04385)	3
Bacterial outer membrane	O-antigen biosynthesis (P02757)	2
	N-acetylglucosamine metabolism (P02756)	2
Energy production	Methylcitrate cycle (P02754)	1
	ATP synthesis (P02721)	1
Transport of oxygen	Heme biosynthesis (P02746)	2

Table 17 : Number of possible gene targets identified for each associated miRNA

miRNA	Nb of gene targets (corr -)	Nb of gene targets (corr +)	Nb of gene targets in miRTarBase ^a (corr -)	Nb of gene targets in miRTarBase ^a (corr +)	Nb of gene targets in GWAS catalogue ^b (corr -)	Nb of gene targets in GWAS catalogue ^b (corr +)	Nb of gene targets in SLSJ cohort (corr -)	PMIDs	Nb of gene targets in SLSJ cohort (corr +)	PMIDs
miR-26a	1 924	1 829	63	59	10	4	1	29273806	1	15038835
miR-29b	3 711	4 024	50	75	4	8	2	27334786 25707804	4	27334786 24646526
miR-33b	1 825	2 603	9	23	1	2	0		2	27334786 30282721
miR-142	3 445	2 127	99	92	8	8	5	27334786 29273806	0	
miR-590	2 852	2 322	48	89	2	10	0	29273806	1	27334786
miR-614	2 113	5 863	0	2	0	0	0		0	
miR-638	1 124	2 172	2	6	0	1	0		0	
miR-645	2 742	2 282	4	4	0	0	0		0	
miR-1276	1 611	2 573	18	22	3	4	0		2	27334786
miR-1304	1 522	1 715	69	73	1	2	1	27334786	1	27334786
miR-2355	3 690	2 532	42	44	3	1	1	29273806	2	27334786
miR-3064	4 100	2 068	35	19	2	0	1	27334786		
miR-3175	3 180	3 877	41	80	4	8	0		7	27334786 15038835 29273806 18682798
miR-4308	2 316	3 303	8	17	1	0	0		1	27334786
miR-4434	4 193	3 267	41	37	2	3	1	24646526	1	27334786
miR-4523	1 008	2 326	0	2	0	0	0		0	

miR-4673	1 537	2 193	8	17	0	2	1	27334786	0	
miR-4785	1 750	1 755	3	2	1	0	0		0	

^amiRTarBase is a database of experimentally validated microRNA-target interactions (<http://mirtarbase.cuhk.edu.cn/php/index.php>) ^bGWAS Catalogue is a database listing all human genome-wide associations for studies of 100,000 single nucleotide polymorphisms (SNPs) or more and p values < 10E-05 (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>)

Table 18 : Calculated proportion of eosinophils, granulocytes and neutrophils in eosinophil samples

	Eosinophil samples (n = 145)	Affected (n = 130)^a	Unaffected (n = 15)^a
Eosinophil proportion, mean (range) ^b	0.77 (0–0.99)	0.78 (0–0.99)	0.67 (0.02–0.96)
Granulocyte proportion, mean (range) ^b	0.17 (-3.9E-17–0.95)	0.26 (0–0.92)	0.16 (-3.9E-17–0.95)
Neutrophil proportion, mean (range) ^b	5.23E-19 (-2.17E-16–2.22E-16)	1.09E-18 (-2.16E-16–2.22E-16)	-5.40E-18 (-5.51E-17–4.21E-17)

^aAffected individuals are those having one or more of the allergic diseases tested and unaffected individuals are those having none of these diseases.

^bEosinophil, granulocyte and neutrophil proportions calculated with methylation levels from the same eosinophil samples using the method by Houseman implemented in RnBeads package in R. Samples with low eosinophil proportion all shown a high granulocyte combined with a low neutrophil ones.