



HAL
open science

Les pneumoprotéines sériques, de nouveaux biomarqueurs pour phénotyper l'asthme du nourrisson ?

Cécile Fontaine, Flore Amat, Colombe Paluel-Marmont, Rémy Couderc, Malek Louha, Isabella Annesi-Maesano, Alfred Bernard, Jocelyne Just

► To cite this version:

Cécile Fontaine, Flore Amat, Colombe Paluel-Marmont, Rémy Couderc, Malek Louha, et al.. Les pneumoprotéines sériques, de nouveaux biomarqueurs pour phénotyper l'asthme du nourrisson? . Revue française d'allergologie, 2015, 55 (4), pp.312-316. 10.1016/j.reval.2015.03.004 . hal-01153325

HAL Id: hal-01153325

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-01153325>

Submitted on 19 May 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les pneumoprotéines sériques, de nouveaux biomarqueurs pour phénotyper l'asthme du nourrisson ?

Could serum pneumoproteins be interesting tools for asthma phenotypes in infants?

Cécile Fontaine PharmD¹, Flore Amat MD^{1,2,3}, Colombe Paluel-Marmont MD¹, Rémy Couderc PharmD⁴, Malek Louha PharmD⁴, Isabella Annesi-Maesano MD, PhD^{2,3}, Alfred Bernard PhD⁵, Jocelyne Just MD, PhD^{1,2,3*}

1. Allergology Department, Centre de l'Asthme et des Allergies, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, 26 avenue du Dr Arnold Netter, 75571 Paris Cedex 12, France

2. INSERM, UMR_S1126, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, Equipe EPAR, F-75013, Paris, France

3. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France

4. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, 26 avenue du Dr Arnold Netter, 75571 Paris Cedex 12, France

5. Service de Toxicologie, Université Catholique de Louvain, Louvain, Belgique

*Auteur correspondant : Pr Jocelyne Just Service d'Allergologie –Centre de l'Asthme Hôpital Trousseau 26 avenue du Dr Netter 75012 Paris Tél 01 44 73 68 47 Fax 01 44 73 53 15

jocelyne.just@trs.aphp.fr

Manuscrit

Résumé (93/250)

Il reste difficile actuellement de distinguer a priori les différents phénotypes d'asthme du nourrisson, et notamment de distinguer l'asthme à risque de persistance et de sévérité de l'asthme transitoire. Il est essentiel d'améliorer la prédiction du pronostic de l'asthme au cours de l'enfance, car l'asthme à début précoce concerne une proportion non négligeable, environ 10%, de la population générale pédiatrique. L'épithélium pulmonaire sécrète différentes protéines, dont certaines, appelées pneumo-protéines, sont dorénavant dosables dans le sérum. Certaines d'entre elles pourraient constituer une piste intéressante dans la recherche de biomarqueurs associés aux phénotypes de l'asthme.

Summary

To establish the prognosis of the different phenotypes of early-onset asthma in infancy is still difficult, because some tools are lacking to differentiate early-onset asthma at risk of severity and of persistence during lifetime from transient wheezing. Because of its high frequency in the pediatric general population, it is essential to ameliorate the prediction of the prognosis of early-onset asthma. Pulmonary epithelium is secreting different proteins and some called pneumoproteins are now accessible to serum dosage. Some of them could represent an interesting way in the search of new biomarkers associated with particular phenotypes of asthma.

Mots-clés

Asthme; phénotypes; enfants; biomarqueurs; CC16 ; SP-A ; SP-D ; YKL-40 Asthma ; children ;biomarkers; phenotypes ; CC16 ; SP-A ; SP-D ; YKL-40. Conflit d'intérêt Les auteurs n'ont pas de conflit d'intérêt à déclarer.

1

Introduction

L'asthme et les maladies allergiques constituent un problème de santé publique. Durant les trente dernières années, l'incidence de l'asthme a doublé dans les pays industrialisés, ce taux se stabilisant actuellement aux alentours de 10% de la population générale pédiatrique [1]. Actuellement l'asthme n'est plus appréhendé comme une maladie mais comme un regroupement de syndromes (ou phénotypes) secondaires à des voies physiopathologiques

différentes, définissant des endotypes. Par ailleurs, le National Institutes of Health considère que l'étude de biomarqueurs pour le phénotypage de l'asthme est un axe de recherche prioritaire [2].

Asthme de la petite enfance

La petite enfance étant une période cruciale pour la croissance du poumon, le diagnostic précoce d'un phénotype d'asthme à risque de persistance au cours de l'enfance est essentiel pour la mise en place de stratégies de prévention adaptées. En effet, le mauvais pronostic de l'asthme allergique à début précoce a déjà été décrit dans de nombreuses cohortes prospectives. Ce type d'asthme est associé à une maladie plus sévère [3]. Cependant la majorité des nourrissons siffleurs récurrents ont un phénotype d'asthme transitoire et leurs symptômes disparaissent ou s'améliorent à partir de l'âge de 4 ans. Il est difficile de distinguer a priori l'asthme à début précoce à risque de persister ou de devenir sévère au cours de l'enfance de l'asthme transitoire [4].

Just et al ont décrit 3 phénotypes différents parmi les nourrissons "siffleurs", l'asthme épisodique viro-induit, l'asthme à facteurs déclenchant multiples atopique et l'asthme sévère infectieux non contrôlé malgré de fortes doses de corticoïdes inhalés de pronostic plus incertain [5]. Parmi les facteurs de risque biologiques identifiés pour distinguer ces 2 phénotypes, la sensibilisation allergénique IgE médiée (surtout si elle est multiple ou déjà dirigée envers les pneumallergènes) et l'hyperéosinophilie sanguine sont des biomarqueurs pronostiques intéressants [6-8]. Ces phénotypes cliniques ont une évolution différente en terme de rémission et de sévérité au cours de l'enfance, mais à l'échelle individuelle il reste difficile de bien classer les patients a priori dans le phénotype correct [9]. Une identification de biomarqueurs précoces associé aux phénotypes de l'asthme et différents de la voie Th2 (sensibilisation allergénique IgE médiée et l'hyperéosinophilie sanguine) serait intéressante

2

pour mieux diagnostiquer ces phénotypes tôt dans la vie, évaluer leur risque évolutif et in fine cibler des traitements spécifiques personnalisés.

Les pneumoprotéines

L'épithélium pulmonaire sécrète différentes protéines, impliquées dans le maintien des propriétés physicochimiques du mucus, des propriétés tensio-actives du surfactant, et des défenses de l'hôte vis-à-vis des antigènes extérieurs. Plusieurs de ces protéines, appelées pneumo-protéines, sont dorénavant dosables dans le sérum. Certaines d'entre elles pourraient constituer une piste intéressante dans la recherche de biomarqueurs associés aux phénotypes de l'asthme.

La chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1) ou YKL-40 serait associée au remodelage bronchique YKL-40 est une protéine apparentée aux chitinases, car elle a la possibilité de lier la chitine grâce à une adaptation de sa conformation [10]. Elle est synthétisée par les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales des voies aériennes. Le taux sanguin d'YKL-40 est corrélé à sa concentration pulmonaire [10, 11]. YKL-40 a des fonctions de protection contre l'agression oxydative, de stimulation de l'immunité adaptative de type Th2, de régulation de l'apoptose et de stimulation des macrophages [10]. Il a été suggéré que les enzymes de la famille des chitinases pourraient être impliquées dans le développement de la fibrose pulmonaire et du remodelage des voies aériennes [10], par le biais d'un remaniement de la membrane sous épithéliale, de l'accroissement de la taille des cellules des muscles lisses [12] et de la prolifération des fibroblastes [13].

Dans l'asthme, les taux sériques de YKL-40 sont augmentés chez les patients asthmatiques [11, 14] et semblent corrélés au niveau de contrôle de l'asthme et au remodelage bronchique [15]. Les taux sériques semblent globalement plus bas chez l'enfant que chez l'adulte, y compris en cas d'asthme sévère, ce qui peut rendre des différences de taux sériques difficiles à mettre en évidence, avec des résultats pouvant être contradictoires [15, 16].

La différence de taux entre les sujets ayant un asthme contrôlé et ceux ayant un asthme réfractaire au traitement par corticoïdes inhalés est corrélée au génotype, les porteurs d'allèles de type CC ayant les taux les plus élevés [15]. A l'inverse l'allèle G semble avoir un effet protecteur contre le développement de l'asthme [17].

Les protéines A et D du surfactant (SP-A et SP-D) sont des protéines-clés de la perméabilité épithéliale

3

SP-A est une protéine hydrophile majeure du surfactant sécrétée par les pneumocytes de type 2 et les cellules épithéliales non ciliées [18]. Elle appartient à la famille des collectines et joue un rôle important dans la réponse immunitaire innée et le maintien de l'homéostasie pulmonaire [19]. SP-A est aussi impliquée dans la régulation de l'inflammation notamment à éosinophiles. En effet, elle peut soit limiter leur activation par inhibition de la sécrétion de la peroxydase éosinophilique (EPO), soit les stimuler en cas d'infection, notamment à *Mycoplasma pneumoniae* [20]. En effet, SP-A possède deux régions qui ont un rôle fonctionnel : le domaine CRD (carbohydrate recognition domain), qui lui permet de se lier aux éléments du surfactant mais aussi aux microorganismes, et une région collagénique. Selon le site qui est sollicité, SP-A a un effet différent sur l'inflammation. L'effet est pro-inflammatoire si la liaison se fait par le domaine collagénique et l'effet est anti-inflammatoire si la liaison se fait par le domaine CRD [21]. SP-A est synthétisée par 2 gènes, SP-A1 et SP-A2, situés sur le chromosome 10 [19]. Le polymorphisme de SP-A est responsable d'une augmentation du risque de développer de l'asthme notamment avec l'haplotype 6A/1A [22]. Chez les asthmatiques il y aurait une dysfonction de la protéine SP-A qui entrainerait une incapacité à contenir l'inflammation locale vis-à-vis de certains pathogènes respiratoires (*Mycoplasma pneumoniae* et VRS notamment) [20, 21]. L'étude de la sécrétion de SP-A dans des modèles murins a montré que l'absence de sécrétions de SP-A entraînait en cas d'exposition allergénique une hyperéosinophilie périphérique majeure et une inflammation de type Th2 au niveau des voies aériennes [23]. En corollaire, l'administration de SP-A exogène chez des souris déficientes entraîne l'inhibition de la synthèse d'IgE spécifiques [24]. Chez l'homme, il a été montré que la sécrétion de SP-A au niveau de l'épithélium nasal était plus élevée en cas de rhinite allergique ou de polypes naso-sinusiens par rapport aux sujets sains [25, 26]. Les taux sériques de SP-A chez l'homme semblent être directement corrélés à l'éosinophilie sanguine ce qui paraît contradictoire par rapport aux résultats des modèles murins. Ce paradoxe s'expliquerait par un mécanisme de compensation par le nombre d'une déficience fonctionnelle [27]. Ainsi, l'augmentation des taux de SP-A chez ces patients serait due d'une part à une augmentation de la sécrétion in situ dans un but protecteur vis-à-vis de l'inflammation, mais également à une augmentation de la perméabilité épithéliale, comme démontré après exposition à certains facteurs irritants, comme le chlore [28]. En conclusion, SP-A paraît donc très liée à la régulation de l'inflammation éosinophilique dans l'asthme.

SP-D est une autre protéine majeure hydrophile du surfactant. Sa structure est proche de celle de SP-A car elle appartient aussi à la famille des collectines [29]. Elle est synthétisée par les

4

pneumocytes de type 2 et les cellules épithéliales non ciliées. Il s'agit d'une molécule de l'immunité innée, elle est impliquée dans la protection contre les infections respiratoires, l'allergie, l'asthme et l'inflammation [30].

L'exposition allergénique entraîne une augmentation de SP-D dans le sérum de manière dépendante de l'interleukine 4 (IL-4) et de l'interleukine 13 (IL-13) dans un but de rétrocontrôle négatif de l'inflammation de type Th2 [30]. L'inflammation de type Th2 est impliquée dans l'asthme de phénotype allergique ou hyperéosinophilique, l'IL-13 étant particulièrement impliquée dans l'hyper-réactivité bronchique [30]. SP-D permet de moduler l'absorption des particules allergéniques [31] car elle lie et séquestre les allergènes inhalés,

évitant ainsi la liaison aux IgE. Elle facilite aussi la clairance des allergènes par le biais des macrophages alvéolaires [32]. SP-D permet par ailleurs de réduire l'éosinophilie pulmonaire et sanguine par le biais d'un rétrocontrôle négatif, induisant une régulation du chimiotactisme et de l'infiltration éosinophilique dans le tissu pulmonaire [30]. L'effet anti-inflammatoire de SP-D correspondrait à un déplacement du profil cytokinique d'une réponse Th2 vers une réponse Th1 protectrice [30, 32].

Grâce à son domaine collagénique, SP-D peut augmenter l'élimination des éosinophiles apoptotiques par les macrophages. Cependant, l'action de SP-D sur les éosinophiles est dépendante de leur activation : il y a une sélectivité de SP-D pour les éosinophiles activés car ils ont moins de récepteurs inhibiteurs à leur surface ce qui permet l'action de la protéine [33]. La sélectivité de SP-D vis-à-vis des éosinophiles activés a ainsi été démontrée chez l'homme, avec une corrélation entre l'augmentation du taux de protéine cationique des éosinophiles (ECP) dans le sputum et l'augmentation du taux de SP-D sérique après challenge allergénique dans une petite cohorte de patients adultes asthmatiques. Dans cette même étude, le taux de SP-D était également corrélée à l'intensité de l'hyper-réactivité bronchique [18].

La modulation de l'inflammation par SP-D existe aussi lors de la soumission à des irritants non spécifiques tels que l'ozone qui entraîne une diminution significative du taux de SP-D [34].

L'augmentation du taux sérique de SP-D chez les patients asthmatiques allergiques ou sensibilisés par rapport aux sujets sains s'expliquerait non seulement par le biais de l'augmentation de la perméabilité de la barrière alvéolo-capillaire permettant un passage sérique de la protéine, mais aussi d'une augmentation de la production de SP-D in situ au niveau de l'épithélium pulmonaire expliquée par le mécanisme de rétrocontrôle [18].

5

SP-D pourrait donc être un biomarqueur utile dans l'évaluation de l'intégrité de la barrière alvéolo-capillaire chez l'asthmatique et suivre indirectement l'évolution de l'inflammation. Son évaluation en tant que marqueur du degré clinique et fonctionnel de contrôle de l'asthme pourrait représenter un axe de recherche intéressant. Des taux sériques globalement bas, et donc difficiles à mesurer, pourraient, tout comme SP-A, en rendre toutefois les applications difficiles [18].

La Clara Cell protein 16 (CC16) est un témoin de l'intégrité de l'épithélium pulmonaire. CC16 est une des pneumoprotéines les plus abondantes dans les sécrétions pulmonaires. Une sécrétion prostatique existe également [19]. CC16 a un rôle anti-inflammatoire, immunosuppresseur et de protection contre le stress oxydant. En effet, elle inhibe le chimiotactisme des monocytes, des polynucléaires neutrophiles et des fibroblastes. Elle est aussi capable d'inhiber la phospholipase A2 qui a un rôle dans l'inflammation car elle participe à la cascade dépendante de l'acide arachidonique qui permet la synthèse de prostaglandines et de leucotriènes [35]. Elle affecte aussi d'autres médiateurs de l'inflammation comme l'interféron γ ou le $\text{TNF}\alpha$ [35-37]. Lors d'infections virales comme l'infection par le VRS, CC-16 permet de moduler l'inflammation entraînée par le virus, quoique son action soit limitée par le virus lui-même qui entraîne une diminution du nombre de cellules sécrétrices [37].

Le gène de CC16 est situé sur le chromosome 11, dans une région contenant des gènes décrits comme associés à l'asthme, l'inflammation et l'atopie [35, 36, 38, 39]. Différents polymorphismes ont été décrits, notamment le polymorphisme 38AA. Les individus homozygotes 38AA ont donc un risque d'asthme plus élevé que les homozygotes 38GG. Le polymorphisme AA serait également associé à la sévérité de l'asthme chez les enfants et cela indépendamment de l'atopie. Ainsi la relation entre le taux sérique de CC16 et la survenue de l'asthme correspondrait à un mécanisme non lié à l'atopie, et donc indépendant des processus Th1 et Th2. Il consisterait plutôt en une altération histopathologique des voies aériennes [36].

Les taux de CC16 dans le LBA et le sérum sont plus bas en cas d'asthme [35, 38, 39]. La diminution du taux de CC16 est due à une diminution du nombre de cellules sécrétrices et traduit une anomalie de la perméabilité de la barrière alvéolo-capillaire [38, 40]. CC16 serait donc un témoin de l'intégrité de l'épithélium pulmonaire [35, 41, 42]. Les taux de CC16 sériques sont par ailleurs, parmi les patients asthmatiques, plus bas encore chez les patients

6 ayant un asthme ancien [42]. Outre l'asthme, le taux de CC16 est influencé par l'âge avec un rôle probable de la dysmaturité pulmonaire [43], la filtration glomérulaire, les polluants [38, 39].

Enfin, CC-16 pourrait un marqueur intéressant dans l'évaluation du risque de développement d'un asthme à long terme, des taux sériques plus bas ayant été montrés comme corrélés à l'hyper-réactivité bronchique latente pré-existant au développement de l'asthme dans une cohorte de jeunes adultes [44].

Perspectives

Nous proposons donc de définir dans l'avenir la place de ces pneumoprotéines pour le phénotypage de l'asthme du nourrisson dans le but mieux définir leur pronostic à long terme.

Références

1. Lowe L, Custovic A, Woodcock A. Childhood asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004;4:159–65.
2. Szeffler SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, et al. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:S9–23.
3. Zeiger RS, Dawson C, Weiss S. Relationships between duration of asthma and asthma severity among children in the Childhood Asthma Management Program (CAMP). *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:376–87.
4. Guilbert TW, Mauger DT, Lemanske RF. Childhood asthma-predictive phenotype. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;2:664–70.
5. Just J, Gouvis-Echraghi R, Couderc R, Guillemot-Lambert N, Saint-Pierre P. Novel severe wheezy young children phenotypes: boys atopic multiple-trigger and girls nonatopic uncontrolled wheeze. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:103–10.
6. Antó JM, Pinart M, Akdis M, Auffray C, Bachert C, Basagaña X, et al. Understanding the complexity of IgE-related phenotypes from childhood to young adulthood: a Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL) seminar. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:943–54.
7. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Bacharier LB, Boehmer SJ, Krawiec M, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1282–7.
8. Simpson A, Soderstrom L, Ahlstedt S, Murray CS, Woodcock A, Custovic A. IgE antibody quantification and the probability of wheeze in preschool children. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:744–9.
9. Just J, Saint-Pierre P, Gouvis-Echraghi R, Boutin B, Panayotopoulos V, Chebahi N, et al. Wheeze phenotypes in young children have different courses during the preschool period. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;111:256–61.
10. Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang M-J, et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annu Rev Physiol* 2011;73:479–501.
11. Chupp GL, Lee CG, Jarjour N, Shim YM, Holm CT, He S, et al. A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* 2007;357:2016–27.
12. Bara I, Ozier A, Girodet P-O, Carvalho G, Cattiaux J, Begueret H, et al. Role of YKL-40 in bronchial smooth muscle remodeling in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185:715–22.

13. Rathcke CN, Holmkvist J, Husmoen LLN, Hansen T, Pedersen O, Vestergaard H, et al. Association of polymorphisms of the CHI3L1 gene with asthma and atopy: a population-based study of 6514 Danish adults. *PloS One*. 2009;4:e6106.
14. Bargagli E, Olivieri C, Margollicci M, Bennett D, Luddi A, Perrone M, et al. Serum chitotriosidase levels in patients with allergic and non-allergic asthma. *Respir Int Rev Thorac Dis* 2010;79:437–8.
15. Konradsen JR, James A, Nordlund B, Reinius LE, Söderhäll C, Melén E, et al. The chitinase-like protein YKL-40: a possible biomarker of inflammation and airway remodeling in severe pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:328–35.
16. Santos CB, Davidson J, Covar RA, Spahn JD. The chitinase-like protein YKL-40 is not a useful biomarker for severe persistent asthma in children. *Ann Allergy Asthma Immunol Off* 2014;113:263–6.
- 8
17. Ober C, Tan Z, Sun Y, Possick JD, Pan L, Nicolae R, et al. Effect of variation in CHI3L1 on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function. *N Engl J Med* 2008;358:1682–91.
18. Koopmans JG, van der Zee JS, Krop EJM, Lopuhaä CE, Jansen HM, Batenburg JJ. Serum surfactant protein D is elevated in allergic patients. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1827–33.
19. Hermans C, Bernard A. Lung epithelium-specific proteins: characteristics and potential applications as markers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:646–78.
20. Ledford JG, Mukherjee S, Kiskan MM, Nugent JL, Hollingsworth JW, Wright JR. Surfactant protein-A suppresses eosinophil-mediated killing of *Mycoplasma pneumoniae* in allergic lungs. *PloS One* 2012;7:e32436.
21. Barreira ER, Precioso AR, Bouso A. Pulmonary surfactant in respiratory syncytial virus bronchiolitis: the role in pathogenesis and clinical implications. *Pediatr Pulmonol* 2011;46:415–20.
22. Wang Y, Voelker DR, Lugogo NL, Wang G, Floros J, Ingram JL, et al. Surfactant protein A is defective in abrogating inflammation in asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011 ;301:L598–606.
23. Pastva AM, Mukherjee S, Giamberardino C, Hsia B, Lo B, Sempowski GD, Wright JR. Lung effector memory and activated CD41 T cells display enhanced proliferation in surfactant protein A-deficient mice during allergen-mediated inflammation. *J Immunol* 2011;186:2842–2849.
24. Ren J, Deng Y, Xiao B, Wang G, Tao Z. Protective effects of exogenous surfactant protein A in allergic rhinitis: a mouse model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2013;122:240–246.
25. Schicht M, Knipping S, Hirt R, Beileke S, Sel S, Paulsen F, Brauer L. Detection of surfactant proteins A, B, C, and D in human nasal mucosa and their regulation in chronic rhinosinusitis with polyps. *Am J Rhinol Allergy* 2013;27:24–29.
26. Wootten CT, Labadie RF, Chen A, Lane KF. Differential expression of surfactant protein A in the nasal mucosa of patients with allergy symptoms. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;132:1001–1007.
27. Ledford JG, Addison KJ, Foster MW, Que LG. Eosinophil-associated lung diseases. A cry for surfactant proteins A and D help ? *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014 ; 51 : 604-614.
- 9
28. Bernard A, Carbonnelle S, Michel O, Higuët S, De Burbure C, Buchet J-P, et al. Lung hyperpermeability and asthma prevalence in schoolchildren: unexpected associations with the attendance at indoor chlorinated swimming pools. *Occup Environ Med* 2003;60:385–94.
29. Haczku A, Vass G, Kierstein S. Surfactant protein D and asthma. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1815–8.
30. Qaseem AS, Sonar S, Mahajan L, Madan T, Sorensen GL, Shamji MH, et al. Linking surfactant protein SP-D and IL-13: implications in asthma and allergy. *Mol Immunol*

2013;54:98–107.

31. Schleh C, Rothen-Rutishauser BM, Blank F, Lauenstein HD, Nassimi M, Krug N, et al. Surfactant Protein D modulates allergen particle uptake and inflammatory response in a human epithelial airway model. *Respir Res* 2012;13:8.
 32. Haczku A, Vass G, Kierstein S. Surfactant protein D and asthma. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1815–8.
 33. Mahajan L, Madan T, Kamal N, Singh VK, Sim RB, Telang SD, et al. Recombinant surfactant protein-D selectively increases apoptosis in eosinophils of allergic asthmatics and enhances uptake of apoptotic eosinophils by macrophages. *Int Immunol* 2008;20:993–1007.
 34. Kierstein S, Poulain FR, Cao Y, Grous M, Mathias R, Kierstein G, et al. Susceptibility to ozone-induced airway inflammation is associated with decreased levels of surfactant protein D. *Respir Res* 2006;7:85.
 35. Broeckaert F, Bernard A. Clara cell secretory protein (CC16): characteristics and perspectives as lung peripheral biomarker. *Clin Exp Allergy* 2000;30:469–75.
 36. Candelaria PV, Backer V, Laing IA, Porsbjerg C, Nepper-Christensen S, de Klerk N, et al. Association between asthma-related phenotypes and the CC16 A38G polymorphism in an unselected population of young adult Danes. *Immunogenetics* 2005;57:25–32.
 37. Wang SZ, Rosenberger CL, Bao YX, Stark JM, Harrod KS. Clara cell secretory protein modulates lung inflammatory and immune responses to respiratory syncytial virus infection. *J Immunol* 2003;171:1051–60.
- 10
38. Gioldassi XM, Papadimitriou H, Mikraki V, Karamanos NK. Clara cell secretory protein: determination of serum levels by an enzyme immunoassay and its importance as an indicator of bronchial asthma in children. *J Pharm Biomed Ann* 2004;34:823–6.
 39. Laing IA, Hermans C, Bernard A, Burton PR, Goldblatt J, Le Souëf PN. Association between plasma CC16 levels, the A38G polymorphism, and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:124–7.
 40. Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, Imada A, Hirasawa M, Yamada T, et al. Clara cell protein-positive epithelial cells are reduced in small airways of asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:930–3.
 41. Sengler C, Heinzmann A, Jerkic S-P, Haider A, Sommerfeld C, Niggemann B, et al. Clara cell protein 16 (CC16) gene polymorphism influences the degree of airway responsiveness in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:515–9.
 42. Rava M, Tares L, Lavi I, Barreiro E, Zock J-P, Ferrer A, et al. Serum levels of Clara cell secretory protein, asthma, and lung function in the adult general population. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:230–2.
 43. Briana DD, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Marmarinos A, et al. Clara cell protein in full-term pregnancies : the influence of intrauterine growth restriction. *Ped Pulmonol* 2010 ; 45 : 1186-1191.
 44. Taniguchi N, Konno S, Hattori T, Isada A, Shimizu K, Shimizu K. The CC16 A38G polymorphism is associated with asymptomatic airway hyper-responsiveness and development of late-onset asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013 ; 111 : 376-381.

11