

Université de Montréal

Mécanismes inflammatoires et auto-immunité dans la maladie de Parkinson :

Rôle de la présentation des antigènes mitochondriaux

Par

Camille Michaud

Département de neurosciences, Faculté de Médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise
en Neurosciences

Décembre 2021

© Camille Michaud, 2021

Université de Montréal

Unité académique : Département de neurosciences, Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé

Mécanismes inflammatoires et auto-immunité dans la maladie de Parkinson :

Rôle de la présentation des antigènes mitochondriaux

Présenté par

Camille Michaud

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Alex Desautels

Président-rapporteur

Martine Tétreault

Directeur de recherche

Diana Matheoud

Codirecteur

Karl J.L. Fernandes

Membre du jury

Résumé

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative qui présente, parmi ces symptômes, une importante inflammation, rapportée tant au niveau du système nerveux central qu'en périphérie. De plus, certains des gènes causant des formes familiales de la MP, soit *PINK1* et *PRKN*, sont impliqués dans la prévention de la présentation des antigènes mitochondriaux (MitAP), un phénomène à risque d'enclencher une réponse auto-immune. Ce travail avait donc pour but d'investiguer la contribution des processus auto-immuns et inflammatoires périphériques dans l'étiologie de la MP, en portant une attention particulière aux phénomènes impliquant la mitochondrie. La quantification des ARNm de *PINK1* et *PRKN* a permis de déterminer que l'expression de ces deux gènes pouvait être inhibée lors de l'activation – par l'exposition au lipopolysaccharide (LPS) ou à *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC) – de certaines cellules présentatrices d'antigènes, soit les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC). L'expression de *PRKN* était également inhibée au cours du vieillissement dans les cellules mononucléées du sang périphérique. L'étude des lymphocytes T présents dans la circulation sanguine a permis l'identification d'une population de cellules T CD8+ IL-17+ (Tc17) pouvant être activées par des antigènes mitochondriaux chez les patients avec MP. Les MDDC furent également identifiées comme étant d'importantes régulatrices de l'inflammation, car les cellules des patients avec MP présentaient un profil d'expression spécifique, caractérisé par une surproduction de cytokines pro-inflammatoires. Leur réponse cytokinique était influencée par le vieillissement et correspondait à un profil pouvant faciliter la polarisation des lymphocytes T CD4+ vers le sous-type Th17, lié aux maladies auto-immunes. Nos résultats, dans leur ensemble, supportent l'implication de mécanismes auto-immuns dans le développement de la MP.

Mots-clés : Maladie de Parkinson, Auto-immunité, Inflammation, Présentation des antigènes mitochondriaux (MitAP), Cytokines, Lymphocytes T

Abstract

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease which is accompanied by a strong inflammation, present both in the central nervous system and the periphery. Moreover, genes *PINK1* and *PRKN*, which are causative of familial forms of PD, are implicated in the inhibition of mitochondrial antigen presentation (MitAP), a phenomenon which acts as a potential trigger for an autoimmune response. This work's aim was to investigate the contribution of peripheral autoimmune and inflammatory processes in the etiology of PD, with a particular focus on phenomena implicating the mitochondria. Quantification of *PINK1* and *PRKN* mRNA allowed us to determine that both genes could be inhibited by the activation – through lipopolysaccharide (LPS) or Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) exposition – of specific antigen-presenting cells, the monocyte-derived dendritic cells (MDDC). The expression of *PRKN* was also inhibited during the aging process in peripheral blood mononuclear cells. Through the investigation of T lymphocytes present in PD patients' circulation, we identified a population of T CD8+ IL-17+ (Tc17) cells which could be activated by mitochondrial antigens. Furthermore, the MDDC were identified as a major contributor to inflammation since PD patients' cells presented a specific expression profile characterized by an over-production of pro-inflammatory cytokines. This response was age-associated and corresponded with a pro-Th17 polarization of T CD4+ lymphocytes, a subtype which has been linked with autoimmune diseases. Taken together, our results support an implication of autoimmune mechanisms in the development of PD.

Keywords : Parkinson's disease, Autoimmunity, Inflammation, Mitochondrial antigen presentation (MitAP), Cytokines, T lymphocytes

Table des matières

Résumé.....	5
Abstract.....	7
Table des matières.....	9
Liste des tableaux.....	13
Liste des figures.....	15
Liste des sigles et abréviations.....	17
Remerciements.....	23
Introduction.....	25
1. La maladie de Parkinson.....	25
1.1. Caractéristiques cliniques.....	25
1.1.1. Symptômes moteurs.....	25
1.1.2. Symptômes non-moteurs.....	26
1.2. Caractéristiques moléculaires et cellulaires.....	27
1.2.1. Neuro-dégénération.....	27
1.2.2. Agrégation protéique.....	27
1.2.3. Inflammation et système immunitaire.....	29
1.2.3.1. Dans le système nerveux.....	29
1.2.3.2. En périphérie.....	31
1.2.4. Dysfonction mitochondriale.....	33
1.3. Étiologie.....	35
1.3.1. Pistes provenant des formes familiales.....	35
1.3.2. Hypothèses sur les mécanismes menant à la mort cellulaire.....	39

2. La mitochondrie comme moteur des processus inflammatoires	47
2.1. Fonctionnement normal de la mitochondrie	47
2.2. Stress oxydatif	48
2.3. Contribution aux processus inflammatoires	50
2.4. Régulation des mitochondries endommagées dans les pathologies humaines	52
2.5. Le cas de la maladie de Parkinson.....	54
Objectifs et hypothèses.....	56
Manuscrit #1 - IDENTIFICATION OF AUTOREACTIVE, PRO-INFLAMMATORY MITOCHONDRIAL ANTIGEN-SPECIFIC T CELLS IN PARKINSON’S DISEASE PATIENTS’ CIRCULATION	57
1. Abstract	59
2. Introduction.....	59
3. Methods	61
4. Results	63
4.1. MitAP inhibitors’ expression is repressed in PD and aging.....	63
4.2. PD patients’ cytotoxic T cells are activated by mitochondrial proteins	66
5. Discussion.....	71
6. Contributions.....	74
Manuscrit #2 - LES CELLULES DENDRITIQUES DE PATIENTS AVEC MALADIE DE PARKINSON PRÉSENTENT UN PROFIL D’EXPRESSION CYTOKINIQUE DISTINCT	75
1. Introduction.....	77
2. Méthodes	78
3. Résultats	81
4. Discussion	90
Discussion globale	95

Conclusion104

Références bibliographiques.....107

Liste des tableaux

Tableau 1. – SNPs représentant un facteur de risque associé au développement de la MP et localisés sur un gène impliqué dans la fonction immunitaire	46
Tableau 2. – Les différents types d’anticorps anti-mitochondries impliqués dans les maladies humaines.....	54
Tableau 3. – Antibodies used to stain human PBMC for flow cytometry.....	63
Tableau 4. – Participants’ characteristics by group and experiment.....	64
Tableau 5. – Caractéristiques cliniques des patients avec MP et des CTL de même âge selon l’expérience impliquant leur MDDC.....	82
Tableau 6. – Caractéristiques cliniques des patients avec MP et des CTL de même âge avec division des groupes à l’âge de 65 ans.....	87

Liste des figures

Figure 1. – Présentation des antigènes mitochondriaux	38
Figure 2. – Résumé de l'implication des protéines PINK1 et Parkine dans le contrôle de la qualité des mitochondries.....	40
Figure 3. – Résumé de la fonction de la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie.....	49
Figure 4. – Inflammatory conditions such as LPS and EPEC treatments, as well as aging, can lower the expression of MitAP inhibitors <i>PINK1</i> and <i>Parkin</i>	65
Figure 5. – Flow cytometry gating to study PD patients' T cells pro-inflammatory cytokines expression when exposed to mitochondrial proteins	67
Figure 6. – PD patients' CD8+ T cells seem to express more cytokines upon activation by mitochondrial proteins.....	68
Figure 7. – PD patients' CD8+ T cells' express IL-17 upon activation by mitochondrial proteins.....	69
Figure 8. – PD patients' Tc17 can be activated by OGDH and PDH, as well as Mito-p	70
Figure 9. – Les MDDC des patients avec MP sécrètent plus d'IL-6 en réponse à la toxine LPS..	83
Figure 10. – Les MDDC des patients avec MP expriment davantage certaines cytokines pro-inflammatoires lors de leur activation	84
Figure 11. – Les MDDC des patients avec MP expriment globalement davantage de cytokines inflammatoires lors de leur activation que les cellules contrôles	85
Figure 12. – L'expression des cytokines pro-inflammatoires par les MDDC non traitées ne diffère pas entre les patients avec MP et les contrôles sains.....	86
Figure 13. – L'expression de l'IL-6 et de l'IL-1 β par les MDDC de patients avec MP semblent affectés par le vieillissement, alors que l'IL-12a diffère avec la durée de la maladie	88
Figure 14. – Impact de l'âge sur l'expression des cytokines par les MDDC de patients avec MP expriment lors de leur activation.....	89

Liste des sigles et abréviations

α -syn	α -synucléine
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNmt	ADN mitochondrial
ADP	Adénosine diphosphate
AMS	Atrophie multisystémique
APC	<i>Antigen presenting cell</i>
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
BHE	Barrière hémato-encéphalique
CBP	Cholangite biliaire primitive
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	Cellules présentatrices d'antigènes
CTE	Chaîne de transport d'électrons
DAMP	Motif moléculaire associé aux dégâts (<i>Damage Associated Molecular Patterns</i>)
DC	Cellules dendritiques (<i>Dendritic cells</i>)
EPEC	<i>Escherichia coli</i> entéropathogène (<i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>)
FI	<i>Fold induction</i>
GWAS	Étude d'association pangénomique (<i>Genome-Wide Association Studies</i>)
HLA	Antigène des leucocytes humains (<i>Human Leucocyte Antigen</i>)
IFN	Interféron

IgG	Immunoglobuline G
IL	Interleukine
iPSC	Cellules souches pluripotentes induites (<i>induced Pluripotent Stem Cells</i>)
LPS	Lipopolysaccharide
MDV	Vésicules dérivées de la mitochondrie (<i>Mitochondrial-Derived Vesicles</i>)
MitAP	Présentation des antigènes mitochondriaux (<i>Mitochondrial antigen presentation</i>)
MP	Maladie de Parkinson
MPTP	1-Méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
MS	<i>Multiple sclerosis</i>
MtROS	Espèces réactives de l'oxygène (<i>Reactive Oxygen Species</i>) mitochondriales
NBM	Noyau basal de Meynert
ND	Neurones dopaminergiques
NLRP3	<i>NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3</i>
PA	Parkinsonisme atypique
PBMC	Cellules mononucléées du sang périphérique (<i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>)
PD	<i>Parkinson's disease</i>
PSP	Paralysie supranucléaire progressive
RNS	Espèces réactive de l'azote (<i>Reactive Nitrogen Species</i>)
ROS	Espèces réactives de l'oxygène (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
SEP	Sclérose en plaques
SN	<i>Substantia nigra</i>
SNC	Système nerveux central

SNE	Systeme nerveux entérique
sPD	<i>Sporadic Parkinson's disease</i>
TCSP	Trouble du comportement en sommeil paradoxal
TNF	Facteur de nécrose tumoral (<i>Tumor necrosis factor</i>)

À ma maman, toujours ma première lectrice

Remerciements

Je souhaite offrir mes remerciements à l'ensemble des personnes qui m'ont aidé au fil de la préparation et de la rédaction de ce mémoire.

Je désire tout d'abord remercier l'ensemble des membres de mon jury, pour avoir généreusement accepté d'effectuer la lecture et l'évaluation de ce travail. Je tiens à remercier plus spécifiquement mes deux directrices de recherche : Martine Tétreault et Diana Matheoud. Je leur suis reconnaissante de m'avoir accueillie, au cours des deux dernières années, au sein de leurs équipes. Ce mémoire existe grâce à leur encadrement et à la formation qu'elles m'ont transmises. Un grand merci pour l'ensemble des relectures et des commentaires qu'elles ont pris le temps de me communiquer lors de ma rédaction.

Je tiens également à souligner tout le support que j'ai reçu de la part des membres, actuels et passés, des deux laboratoires dans lesquels j'ai effectué ma recherche. Ainsi, je remercie Lovatiana, Jean, Sébastien, Jennifer, Marjorie, Valérie, Adrien et Annie, du laboratoire Tétreault, ainsi que Renaud, Camberly, Moustapha et Kader, du laboratoire Matheoud. Il fut un plaisir de vous côtoyer tout au long de ma maîtrise.

Merci également aux autres membres du CRCHUM qui m'ont aidé au cours de mes travaux, notamment à Julie qui fut une source fréquente de soutien. Je remercie également Michel Panisset et son équipe d'avoir rendu possible le recrutement des participants.

Enfin, merci à ma famille pour leur immense support. Ainsi, je remercie mes parents, mon frère et mes grands-parents, pour leur implication dans mon cheminement, et leurs constants encouragements.

Introduction

1. La maladie de Parkinson

1.1. Caractéristiques cliniques

La maladie de Parkinson (MP) est la seconde maladie neurodégénérative la plus commune, affectant 1,9 % de la population mondiale âgée de 80 ans et plus (1). L'âge en est le principal facteur de risque (2). Ainsi, sa prévalence connaît actuellement une hausse avec le vieillissement de la population, notamment au Canada, où l'on prévoit que le nombre de personnes affectées devrait doubler entre les années 2011 et 2031 (3). Malgré tous les efforts de recherche déployés depuis la description initiale de la maladie par James Parkinson il y a plus de deux siècles, la cause et les mécanismes impliqués dans la MP restent incompris, et il demeure impossible d'en freiner le développement (4). Seul un faible pourcentage, situé entre 3 et 10 %, ont une origine génétique identifiée (5,6). Les particularités de ces cas seront davantage abordées dans la section 1.3.1.

1.1.1. Symptômes moteurs

Du point de vue clinique, la MP est principalement caractérisée par l'apparition progressive de symptômes moteurs. Elle est diagnostiquée lorsqu'un individu présente une bradykinésie, soit une lenteur à initier et exécuter les mouvements (7), accompagnée minimalement d'une rigidité musculaire ou d'un tremblement de repos (8). La maladie est également systématiquement accompagnée d'une progression des symptômes au fil du temps, bien que la vitesse de détérioration de l'état de santé puisse être hautement variable (8). Toutefois, une aggravation particulièrement rapide de troubles moteurs répondants à cette description peut être un indicateur de la présence d'un trouble parkinsonien autre que la MP (8). En effet, les parkinsonismes atypiques (PA) sont des troubles partageant les symptômes moteurs caractéristiques de la MP, mais qui sont généralement plus fulgurants et accompagnés de manifestations inhabituelles, appelées atypiques (8). À titre d'exemple, les deux plus communes formes de PA (8), la Paralyse Supranucléaire Progressive (PSP) et l'Atrophie Multisystémique (AMS), s'accompagnent respectivement d'une difficulté à effectuer des saccades oculaires

verticales (9) et de dysfonctionnements autonomes (10). Dans les premiers temps, la présentation de chacune de ces pathologies peut toutefois être essentiellement identique (8,9). En l'absence d'un test clinique spécifique permettant d'effectuer la distinction entre la MP et les PA, le diagnostic différentiel requiert typiquement un suivi de la maladie pendant plusieurs années, ce qui contribue à faire de celui-ci l'un des plus complexes en neurologie (9).

Après le diagnostic, la prise en charge des personnes atteintes de la MP passe principalement par le traitement des symptômes moteurs par des thérapies dopaminergiques, notamment par traitement pharmacologique à l'aide d'agonistes dopaminergiques ou, plus fréquemment, par lévodopa, un précurseur de la dopamine (11). Ce type de traitement est associé avec une apparition éventuelle de complications motrices et une perte d'efficacité au fil du développement de la maladie (11). Les thérapies actuelles visant à réduire la présentation des symptômes ne peuvent pas prévenir ou inverser la neuro-dégénération menant à la progression de la MP (12).

1.1.2. Symptômes non-moteurs

Bien que le diagnostic de MP requière la présence de symptômes moteurs, ces derniers ne sont typiquement pas les premiers à apparaître chez les individus affectés (13). Au contraire, les patients atteints de Parkinson présentent usuellement des symptômes, dits prodromiques, dont l'apparition précède la phase principale de la maladie (13). Ceux-ci semblent débiter de cinq à vingt ans avant la phase aigüe du Parkinson (14). La présentation du prodrome de la MP est relativement hétérogène, mais certains signes sont observés récurrentement au cours de celui-ci (13). Ces manifestations incluent les problèmes de sommeil, tels que la somnolence diurne et le trouble de comportement en sommeil paradoxal (TCSP), ce dernier se manifestant par une perte de la paralysie sélective typiquement observée lors de cette phase du sommeil (13,15). L'anosmie, une perte importante de l'odorat, est également présente chez la majorité des gens qui développeront la MP (15). D'autres problèmes sensoriels possibles incluent également une augmentation des risques de développer des problèmes visuels, telle la diplopie, et une sensibilisation à la douleur (16). Des symptômes d'apathie, d'anxiété, de dépression, de fatigue, ainsi que des atteintes autonomes et cognitives, sont également fréquemment rapportés dans la phase préclinique de la MP (13,17).

Les symptômes non-moteurs tendent à empirer et à se diversifier dans les années qui suivront le diagnostic de MP (16,17), et ceux-ci contribuent à la baisse de la qualité de vie des gens affectés. Au fil de la progression de la maladie, certains symptômes deviennent ainsi plus communs. Particulièrement, l'atteinte cognitive et les défauts affectant le système nerveux autonome, pouvant se manifester, entre autres, par des dysfonctions urinaires, sexuelles, cardiovasculaires et gastrointestinales, deviennent très fréquentes (16).

1.2. Caractéristiques moléculaires et cellulaires

1.2.1. Neuro-dégénération

La MP est caractérisée par la dégradation des neurones dopaminergiques (ND), notamment ceux localisés à la *substantia nigra* (SN) et au putamen, des régions cérébrales faisant parties des noyaux de la base et étant impliqués dans la régulation du mouvement (18,19). Au moment de l'apparition des symptômes moteurs, la dégradation de la zone la plus affectée – la *SN pars compacta* – est déjà avancée, avec une perte affectant de 50 à 70 % des ND y étant localisés (20).

Bien que l'atteinte cellulaire soit beaucoup plus marquée dans les ND, elle ne leur est pas entièrement exclusive. En effet, de nombreuses études ont rapportées une dégénération des neurones cholinergiques, principalement dans les région du noyau basal de Meynert (NBM), impliquée dans les cycles de sommeil et la vigilance, le noyau pédonculopontin, qui régule entre autres la locomotion, et le noyau dorsal moteur (21–23). Cette perte, principalement au niveau du NBM, paraît contribuer au développement de l'atteinte cognitive (24). Il semble également que certains neurones dopaminergiques hors de la SN connaissent une mort cellulaire à plus petite échelle, notamment au site de l'aire ventrale tegmentale, qui est impliquée dans la motivation (21,25).

1.2.2. Agrégation protéique

À l'échelle moléculaire, la MP se caractérise par la présence d'agrégats protéiques d' α -synucléine (syn), appelés corps de Lewy, dans le système nerveux central (SNC) des patients (26). Ces amas se retrouvent à l'intérieur des neurones et leur présence ne peut être confirmée, chez l'humain,

que par des études post-mortem des cerveaux (26). Ces agrégats se composent d'une forme incorrectement repliée de l' α -syn, accompagnée de lipides et d'organelles (26).

La protéine α -syn est encodée par le gène *SNCA* et se localise au site des terminaisons nerveuses, où elle est en temps normal impliquée dans la régulation du trafic synaptique, et où elle interagit avec certains transporteurs de la dopamine (27,28). Son agglomération a été rapportée dans de nombreuses maladies neurodégénératives, classées comme étant des synucléinopathies (26). Toutefois, la formation des corps de Lewy, qui, par définition, se retrouvent dans les corps des neurones, semble exclusive à deux pathologies : la MP et la démence à corps de Lewy (26). La MP est donc la seule pathologie principalement motrice dans laquelle on retrouve cette exacte inclusion. Des amas d' α -syn se retrouvent toutefois dans d'autres pathologies du mouvement sous forme de sphéroïdes axonales ou d'inclusions gliales cytoplasmiques intra-oligodendrocytes, ces dernières étant notamment caractéristique de l'AMS (26). Bien que la cause de la formation de ces agrégats demeure incomprise, il semblerait que la propension de l' α -syn à s'auto-agrégérer et sa capacité à se transmettre de cellules en cellules de façon similaire aux prions fassent partie inerrante de l'explication (29).

L'analyse de coupes de corps de Lewy provenant de patients atteints de MP indique également la présence d'autres protéines dans ceux-ci. Notamment, on rapporte l'identification de la forme fibrillée de la protéine amyloïde, plus connue pour son implication dans la maladie d'Alzheimer (30). La composition des agrégats protéiques chez les patients, ainsi que leur distribution (31), pourraient expliquer une part de l'hétérogénéité clinique de la maladie, tant au niveau de la vitesse de progression que des types de symptômes qui surviennent (32,33). Par exemple, la présence d'amyloïde est un prédicteur du développement de symptômes de démence (33). L'identification de protéines régulatrices de la dégradation protéique, comme l'ubiquitine, ou de partenaires de l' α -syn, telle synphilin-1, dans les corps de Lewy suggère également que ces protéines puissent influencer la progression de la protéinopathie (34).

L'apparition et la distribution des corps de Lewy dans le SNC suivent une trajectoire prévisible, décrite par un ensemble d'étapes typiques : les six stades de Braak (35). Leur trajectoire parcourt un axe caudo-rostral, prenant son origine hors du SNC. Les premières zones affectées sont

typiquement le système nerveux entérique (SNE) ou le bulbe olfactif (36). L'atteinte se reprend ensuite au tronc cérébral, puis à la SN, au stade 3, pour enfin atteindre les zones supra-tentorielles (35). Cette classification laisse supposer que l'origine de l'accumulation de l' α -syn puisse être localisée au système digestif, puis se propager par le nerf vague vers le bulbe olfactif et, enfin, au cerveau (36), une hypothèse qui a pris beaucoup d'importance dans les dernières années (31), et qui sera discuté dans la section 1.3.2.

1.2.3. Inflammation et système immunitaire

1.2.3.1. Dans le système nerveux

Un autre des signes associés à la MP est la présence excessive de certains marqueurs d'inflammation. L'un des indices témoignant de l'implication de phénomènes inflammatoires est la suractivation des cellules immunitaires résidentes du SNC, la microglie (37). Cette hyperactivation est présente dans divers modèles animaux de la maladie (38), et est observée dans les cerveaux post-mortem de patients atteints de MP via l'expression de HLA-DR (39), une molécule faisant part du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et contribuant donc à la présentation d'antigènes aux lymphocytes T (40). Dans son état activé, la microglie exprime des cytokines pro- ou anti-inflammatoires pouvant accélérer ou ralentir la progression de la neuro-dégénération (41). Par exemple, l'activation directe de la microglie par traitement avec la toxine bactérienne lipopolysaccharide (LPS) est capable d'induire la mort des ND de la SN de souris (41,42).

L'activation de la microglie, dans le contexte de la MP, résulte en une hausse maintenue de cytokines pro-inflammatoires, telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF)- α , l'interleukine (IL)-2, l'IL-6 et l'IL-1 β , dans le cerveau et le liquide céphalo-rachidien. Leur sécrétion par la microglie est associée à une hausse de la dégénération des ND (41,43). Une part de l'activation de la microglie dans la MP semble provenir de l'expression de l' α -syn dans l'espace extracellulaire, où elle agit comme signal de danger (41). La présence de l' α -syn au niveau du cerveau est en effet capable d'activer les inflammasomes dépendant du *NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3* (NLRP3) (44). De plus, certaines variations de la séquence de la région des antigènes des leucocytes humains (HLA), qui permettent l'identification des cellules du soi par le système

immunitaire (45), sont associées à une hausse du risque de développer la MP (46–48), tout comme la fréquence de certains antigènes reconnus par les molécules qui y sont encodées (49,50). Ainsi, dans le contexte de la MP, la microglie semble jouer un rôle généralement délétère.

Les astrocytes, d'autres cellules immunitaires du SNC, sont également activés au cours de la MP (51), potentiellement de façon secondaire à la neuro-dégénération ayant lieu pendant le développement de la pathologie. De nombreux gènes impliqués dans les formes familiales de la MP sont toutefois exprimés dans les astrocytes, ainsi, ils pourraient jouer un rôle dans les changements observés (51). L'activation de ces cellules gliales contribue à la neuro-inflammation via l'expression surélevée de la protéine S100B, pouvant agir comme cytokine, ou comme motif moléculaire associé aux dégâts (DAMP) (52).

Une récente étude de transcriptomique a démontré une hausse de l'expression de gènes associés aux oligodendrocytes dans la SN de patients parkinsoniens post-mortem, suggérant une hausse de l'activité ou de la prolifération de ces cellules immunitaires (53). De plus, cette augmentation était identifiable chez les patients dont la pathologie n'avait progressée qu'aux stades de Braak I et II, durant lesquels la SN n'a pas commencé à dégénérer et l'expression des ND s'y trouvant est encore normale, suggérant une implication précoce des oligodendrocytes dans la maladie (53).

De plus, le mécanisme d'immunité de l'activation classique du complément semble être augmenté dans les ND de la SN des patients, car des protéines marquant le début (C3d et C4d) et la fin (C7 et C9) de sa voie d'activation ont été repérées dans les corps de Lewy (54,55), alors que les neurones d'individus sains présentent très peu d'immunomarquage pour ceux-ci.

L'inflammation affecte également le SNC par son impact sur la barrière hémato-encéphalique (BHE). Celle-ci contrôle les échanges vasculaires entre le SNC et le reste du corps, et en fait un site immunitaire privilégié grâce à la régulation du passage des molécules et des cellules présentes dans le sang (56). Or, chez les gens atteints de MP, la fonction de ses transporteurs est altérée (57) et sa perméabilité est augmentée, notamment au site du putamen (58). Cela semble découler des altérations des cellules gliales lui étant associées et de la présence des cytokines pro-inflammatoires (59). Les chimiokines peuvent entre autres contribuer à la migration des leucocytes vers le SNC, et l'une d'entre elle, CXCL2, ainsi que son récepteur, CXCR4, sont présents

à haute concentration dans la région nigrostriatale des patients avec MP (60). Cette altération est la cause probable du phénomène d'infiltration du cerveau par des lymphocytes T CD4+ et CD8+ observé dans de nombreux modèles animaux de la MP (61–63) et dans la SN provenant de coupes de cerveaux de patients post-mortem (64,65). Une infiltration par les lymphocytes Th17, qui sont associés aux maladies auto-immunes (66), a notamment été rapportée (60,67). De plus, l'infiltration des lymphocytes T CD8+ dans la SN semble précéder l'apparition des amas d' α -syn et la neuro-dégénération de cette région, indiquant qu'il s'agit d'un évènement précoce dans le développement du Parkinson (65).

L'analyse de données transcriptomiques suggère en fait une infiltration de la SN par une grande variété de cellules immunitaires, dont les mastocytes (68). Ces cellules, naturellement présentes en faible quantité dans le SNC, peuvent s'y relocaliser, entre autres dans les contextes de stress, d'infections ou de traumatismes (69). Elles sont capables de réguler la sécrétion de cytokines et d'affecter la perméabilité de la BHE par le biais de la sécrétion de protéases dégradant les jonctions serrées faisant partie de la composition de cette barrière (69). Leur présence en excès, toutefois, n'a pas été confirmée lors d'études post-mortem de cerveaux (70). La teneur de leur contribution à la perméabilisation de la BHE et, plus généralement, au contexte de neuro-inflammation dans la MP, demeure donc incertaine.

1.2.3.2. En périphérie

La présence des marqueurs d'inflammation dans la MP ne se limite pas qu'au SNC. En effet, l'étude du sérum de patients a permis d'identifier des altérations dans les taux de cytokines circulantes. On y retrouve notamment une hausse de cytokines pro-inflammatoires, dont TNF α , IL-1 β et IL-6 (37,71,72), accompagnée d'une baisse de l'expression de la cytokine neuroprotectrice IL-9 (37,73). Les taux circulants de protéine C réactive (CRP), qui est produite en réponse aux stress inflammatoires aigües, sont non seulement augmentés chez les patients, mais ils corrént également avec la sévérité des symptômes (60). Bien qu'une hausse des niveaux circulants de cytokines pro-inflammatoire au court du vieillissement, ou *inflammaging*, soit normale, ce phénomène semble exacerbé dans la MP (74). L'expression de nombreuses chimiokines est également augmentée en périphérie, notamment CXCL2, son récepteur CXCR4,

IL-8, MCP1, RANTES et MIP1 α (60). Toutefois, la concentration sérique de certaines cytokines anti-inflammatoires, IL-4 et IL-10, est également augmentée chez les patients (60,75,76).

La concentration des cellules immunitaires circulantes dans le sang des gens atteints de MP est aussi affectée. Les lymphocytes T auxiliaires (CD4+) totaux sont moins fréquents dans le sérum des patients, mais la concentration des lymphocytes T activées (CD4+CD45+), elle, est augmentée (77). Cette baisse affecte particulièrement les cellules CD4+ naïves (77). De plus, les lymphocytes Th17, en lesquels les lymphocytes T CD4+ peuvent se différencier, semblent être présents en plus grande proportion dans le sang des patients avec la MP (60,67,78). Les lymphocytes T régulateurs (CD4+CD25+CD127-) des patients sont également moins efficaces pour contrer l'activité des cellules T effectrices activées (79). Comme mentionné dans la section précédente, certains des variants représentant un facteur de risque génétique de développer la MP affectent directement la fonction et l'activation des lymphocytes T, car ils se localisent dans la région HLA (46–50). De plus, une activité auto-immune est observée chez les patients atteints de MP, car certains épitopes de l' α -syn peuvent activer leur lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) (80). Globalement, les patients atteints de MP ont un nombre plus faible de lymphocytes T circulants et, accompagnés d'une tendance à la hausse du nombre de neutrophiles sanguins, cela résulte en une hausse significative du ratio neutrophile-lymphocyte, un marqueur de l'inflammation chronique (81).

Un autre signe d'auto-immunité dans la MP est la présence excessive d'anticorps de type immunoglobuline G (IgG) reconnaissant l' α -syn dans le sérum des patients en début de maladie (82). Les immunoglobulines reconnaissant la mélanine sont également surélevées pendant cette période (83). Les lymphocytes B, qui sécrètent ces anticorps, n'ont pas été observés dans le cerveau des patients en analyse post-mortem, mais des auto-anticorps de type IgG ont été retrouvés sur les ND de la SN et sur les corps de Lewy présents dans le SNC (84).

Le nombre et la distribution des types de monocytes circulant semblent également varier dans le contexte de la MP, bien que des résultats contradictoires ont parfois été rapportés sur la question (85). En effet, certaines anomalies ont été rapportées quant aux proportions de monocytes dits classiques, principalement impliqués dans la phagocytose, qui représentent typiquement 80 à

90% des monocytes, comparés aux intermédiaires et aux non-classiques, qui sont plutôt impliqués dans la relâche de cytokines pro-inflammatoires (86). Le nombre de monocytes classiques (CD14+CD16-) a parfois été rapporté comme étant plus élevé dans le sang des patients (87,88), alors que d'autres études n'observent aucune différence au niveau du sang (89,90). Dans l'une des études ayant observé une hausse des monocytes classiques, la molécule CCL2, qui exerce sur ceux-ci un effet chemo-attractant, était également plus concentrée (87). L'étude de ces monocytes par séquençage de nouvelle génération et de leur réponse inflammatoire à l'échelle protéique en réponse au LPS démontrait un pré-conditionnement favorisant une réponse pro-inflammatoire importante (87). Cette variation au niveau de la distribution des monocytes est également rapportée dans une cohorte de patients MP prodromiques avec TCSP, puis semble disparaître dans les cinq ans suivant le diagnostic, ce qui a mené à la suggestion que ce phénotype puisse être spécifique au début de la maladie (85,91). Une autre étude rapporte également que l'expression de certains gènes, soit *HLA-DQB1*, *MYD88*, *REL* et *TNF- α* , est altérée dans les monocytes provenant de patients avec MP en début de maladie, ce qui pourrait démontrer une signature transcriptomique spécifique (89). D'un point de vue fonctionnel, les monocytes provenant de patients avec MP paraissent avoir une perte d'efficacité de leur activité phagocytaire, qui se détériore davantage avec l'augmentation de leur niveau intracellulaire d' α -syn et avec la durée de la maladie (85,87,88,92).

En plus de présenter un profil distinct entre les individus sains et atteints de MP, les changements périphériques affectant le système immunitaire corrélerent aussi avec certaines variations de la présentation clinique. Notamment, les marqueurs associés à l'activité monocytaires sont plus fortement altérés dans les cas à risque élevé de développer une démence (88).

Finalement, un lien a également été établi entre la hausse de l'expression de marqueurs d'activation gliale et de cytokines pro-inflammatoires au colon et le risque de développer la MP (60,93).

1.2.4. Dysfonction mitochondriale

Une autre caractéristique ayant été identifiée dans les patients atteints de MP est la présence de signes témoignant d'une dysfonction mitochondriale, présente tant dans le SNC qu'en périphérie.

La première manifestation identifiée de cette anomalie fut la baisse de l'activité de composants essentiels à la génération de l'ATP (94), soit les complexes I, II et IV de la chaîne mitochondriale de transport d'électron, dans les cellules des patients (54,95). Ce défaut se retrouve dans les neurones des patients post-mortem, y compris au niveau de la *SN pars compacta* (95), mais aussi au niveau des plaquettes (96,97) et du muscle squelettique (98).

La réduction de l'efficacité de la chaîne de transport d'électron mène à une augmentation du stress oxydatif, notamment par l'augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des espèces réactives de l'azote (RNS), et à une dérégulation du maintien des niveaux de calcium (54). Une réduction du potentiel de membrane physiologique des mitochondries découle également de ce phénomène (54).

L'étude des ND de patients à l'aide de microdissections a par la suite permis l'observation d'une altération du transcriptome ayant trait à la régulation mitochondriale (99). Une sous-expression des gènes liés à la phosphorylation oxydative de la mitochondrie, ainsi qu'au système d'ubiquitination du protéasome, a notamment été rapportée (99). Ce dernier joue un rôle essentiel dans la protection des composants cellulaires contre l'effet des ROS (100).

Certains résultats suggèrent que des polymorphismes de l'acide désoxyribonucléique (ADN) mitochondrial (ADNmt) représentent également un facteur de risque ou de protection affectant la probabilité d'apparition de la MP (95), bien que ce phénomène n'ait pas toujours été observé de façon reproductible (54). L'accumulation de mutations affectant l'ADNmt est rapportée au cours du vieillissement au niveau de la SN, et celle-ci est plus importante dans les cas de MP, ce qui pourrait jouer un rôle majeur dans leur dégénération au cours de ces deux phénomènes (101). En effet, les ND de la *SN pars compacta* sont parmi les populations neuronales les plus affectées par la dégénération normale observée au cours du processus de vieillissement (102).

L'origine de cette dysfonction mitochondriale est incertaine, mais il est possible qu'elle soit médiée pas la présence d' α -syn. En effet, cette protéine peut s'accumuler à l'intérieur des mitochondries et altérer son fonctionnement suite à son interaction avec leur domaine N-terminal (54). L' α -syn sous forme d'oligomères, un stade existant entre la protéine normale et l'amas, peut également lier la protéine TOM20 et ainsi limiter le transport protéique

mitochondrial (54,103). À l'inverse, plusieurs modèles de MP découlant de l'imposition d'une altération au fonctionnement normal de la chaîne d'électron de la mitochondrie résulte en une accumulation d' α -syn; la relation entre ces deux phénomènes est donc probablement une forme de régulation réciproque (54).

De plus, l'association entre l'apparition de la MP et la dysfonction mitochondriale est fortement renchérie par l'étude de la fonction des gènes ayant été associés aux formes familiales de la maladie. En effet, la régulation de la mitochondrie, particulièrement dans un contexte de stress, est un rôle dans lequel plusieurs des gènes d'intérêt dans la maladie sont directement impliqués (95).

1.3. Étiologie

1.3.1. Pistes provenant des formes familiales

Bien que la majorité des cas de MP soit d'origine incertaine, un faible pourcentage des cas, estimé être entre 3 et 10 %, suivent un mode de transmission autosomale (5,6). On identifie ces cas comme étant des formes familiales de MP, à l'opposé des formes sporadiques qui ne semblent pas prendre leur origine dans un mode de transmission principalement génétique. Jusqu'à présent, une dizaine de gènes ont été identifiés comme cibles possibles de mutations pouvant être causatives de la MP (104).

Quelques gènes ont été identifiés comme étant impliqués dans des formes familiales de MP avec transmission autosomale dominante (104). Tout d'abord, le gène *SNCA*, qui encode pour l' α -syn, peut entraîner cette maladie lorsqu'il est porteur de mutations ponctuelles, de mutations faux-sens ou de duplications/triplications (104). Les mutations et répliquions identifiées semblent détenir leur pouvoir pathogène en raison d'une facilitation de l'agrégation de l' α -syn (100).

Le gène *LRRK2*, pour *Leucine-rich repeat kinase 2*, encode pour une protéine cytoplasmique, la Dardarine, qui est impliquée dans le maintien du cytosquelette, le transport vésiculaire, les interactions entre protéines et l'autophagie (104). De nombreuses mutations faux-sens ou non-sens de ce gène peuvent mener à des formes familiales de MP, et d'autres peuvent représenter un important facteur de risque pour le développement de formes idiopathiques (104). Dans les

modèles animaux et de progéniteurs neuronaux humains dérivés de cellules souches pluripotentes induites (iPSC), la mutation de *LRRK2* altère l'expression de certains transporteurs mitochondriaux du calcium, résultant en une dérégulation calcique (105), et favorisant l'accumulation de dommage à l'ADNmt (106).

Les gènes *GIGYF2* et *UCHL1*, respectivement impliqués dans la régulation de l'insuline et les mécanismes de contrôle de la qualité des protéines, sont également suspectés être impliqués dans quelques cas de transmission autosomale dominante de MP (104).

Le gène *PRKN* encode pour la protéine Parkine, une ubiquitine ligase de type E3, et peut être causatif de formes autosomales récessives de MP (104). Les cas de MP attribués à ces mutations se distinguent des cas sporadiques par le début précoce de la maladie, qui se manifeste typiquement vers l'âge de 30 ans (107), ainsi que l'absence, dans certains cas, d'inclusions d' α -syn (108). Les ubiquitines ligases E3 sont des enzymes permettant la facilitation du transfert d'une molécule d'ubiquitine entre une enzyme de type E1 vers E2, ou l'attachement d'une ubiquitine sur un résidu lysine d'une autre molécule d'ubiquitine (108). Les chaînes d'ubiquitine formées agissent comme un signal permettant de cibler une protéine pour l'élimination par le protéasome (108). Les mutations de *PRKN* associées au Parkinson mènent à la perte de la forme fonctionnelle de la protéine qu'il encode, et nuisent donc à ce processus (108).

Certains variants de *PRKN* semblent également agir comme facteur de risque facilitant le développement de la MP. Parallèlement, la protéine Parkine peut être inactivée par les ROS, les RNS et le stress dopaminergiques, qui sont tous exacerbés dans la MP (108). Ainsi, son activité pourrait également être affectée dans les cas sporadiques de MP.

La protéine Parkine est également impliquée dans un mécanisme de contrôle de la qualité des mitochondries. Cette fonction est particulièrement d'intérêt pour tenter d'expliquer comment les mutations de *PRKN* mènent à l'apparition d'une MP, car son fonctionnement requiert l'activité d'une autre protéine, *PTEN-induced putative kinase 1* (PINK1), elle-même encodée par un gène causatif de formes familiales récessives juvéniles de MP (109). Les mutations de *PINK1* menant à l'apparition de la MP sont, quant à elles, généralement liées à une perte de sa fonction de kinase (100).

La protéine PINK1 se relocalise à l'intérieur des mitochondries après sa traduction (109). La perte du potentiel de membrane de la mitochondrie, qui témoigne d'un endommagement de celle-ci, peut ensuite induire l'accumulation de PINK1 au site de dépolarisation (109). Dans ce cas, PINK1 phosphoryle ensuite Parkine, initiant en conséquence le processus de mitophagie (109). En effet, la présence de ces deux protéines à la surface de la mitochondrie peut permettre la formation de longues chaînes d'ubiquitine qui rendent possible la liaison de protéines médiatrices de l'autophagie (6). Ces protéines initient la formation des autophagosomes qui permettent l'élimination spécifique de la mitochondrie endommagée (6,110).

Le mécanisme de la mitophagie est généralement activé dans le cas de dommages sévères et généralisés à la mitochondrie, et mène à l'élimination entière de l'organelle. Toutefois, PINK1 et Parkine contribuent également au contrôle de la qualité des mitochondries par leur influence sur d'autres mécanismes. Elles peuvent contribuer à la dégradation de la Mitofusine, protéine de fusion des mitochondries, et le recrutement de Drp1, requise à la fission de cette organelle. Elles facilitent ainsi la génération d'un grand nombre de petites mitochondries indépendantes, ce qui facilite leur transport, l'apoptose et la mitophagie, au détriment de l'efficacité de la phosphorylation oxydative. De plus, la formation de certains types de vésicules dérivées de la mitochondrie (MDV) – qui permettent l'élimination ciblées de certains domaines mitochondriaux – peuvent dépendre de leur présence (6).

Ainsi, la formation de certaines MDV dirigées vers les lysosomes dépend de la présence de ces deux protéines (111). Au contraire, les protéines PINK1 et Parkine inhibent activement la formation de MDV dirigés vers les endosomes tardifs, un processus dépendant de la protéine *Sorting nexin-9* (SNX9) impliquée dans l'endocytose dépendante de la clathrine (112). Une implication de Parkine dans la dégradation de SNX9 est suggérée être impliquée dans la régulation de ce processus (112). Ces MDV peuvent permettre l'acheminement d'antigènes mitochondriaux vers les complexes de CMH, permettant la présentation d'antigènes mitochondriaux (MitAP), comme l'illustre la Figure 1 (112).

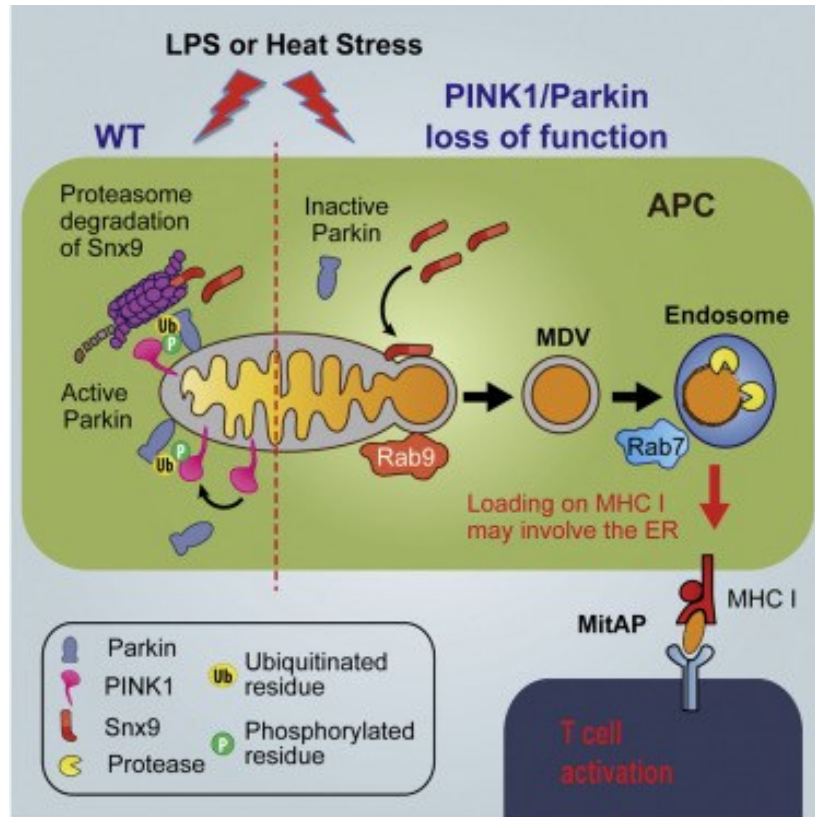


Figure 1. – Présentation des antigènes mitochondriaux (112)

En cas de stress mitochondrial, pouvant être induit par traitement au LPS ou par choc thermique (HC), PINK1 recrute Parkine à la surface des mitochondries endommagées pour induire le processus de la mitophagie. Ces protéines inhibent également la formation de MDV dirigés vers les endosomes tardifs. En l'absence de PINK1 et Parkine, les MDV se forment par un processus dépendant de SNX9, et permettent l'acheminement d'antigènes dérivés de la mitochondrie à la surface des CMH de classe I, où ils seront présentés.

PINK1 et Parkine contribuent également à la génération de certaines composantes mitochondriales. L'activité de PGC-1 α , un important régulateur de la biogénèse mitochondriale, peut être augmentée par la dégradation de son répresseur, PARIS, par PINK1 et Parkine. Elles peuvent aussi faciliter la traduction d'acides ribonucléiques (ARN) encodés au noyau et relocalisés à la mitochondrie en facilitant leur recrutement. Cela permet l'amélioration de la synthèse de différentes protéines mitochondriales. Enfin, PINK1/Parkine ubiquitinent le complexe TOM, qui joue un rôle clef dans l'acheminement de protéines mitochondriales nouvellement synthétisées

vers la mitochondrie (6). Un résumé de l'impact de PINK1 et Parkine sur le maintien de la qualité des mitochondries peut être retrouvé à la Figure 2.

Quatre autres gènes peuvent également porter des mutations menant à l'apparition de formes familiales récessives de la MP. Ceux-ci incluent *ATP13A2*, qui est associé à la régulation de la fonction mitochondriale et lysosomale, ainsi qu'à la formation d'agrégats d' α -syn. Ensuite, *DJ-1*, qui encode pour une protéine jouant le rôle d'un censeur du stress oxydatif, fait partie de ces gènes. Enfin, *FBXO7* est impliqué dans l'ubiquitination et la régulation du protéasome, alors que *PLA2G6* est principalement associé au maintien de l'intégrité des membranes cellulaires. (104) Les gènes associés avec la MP exercent donc des fonctions variées, mais certains mécanismes cellulaires communs sont également observés.

1.3.2. Hypothèses sur les mécanismes menant à la mort cellulaire

La grande majorité des cas de MP ne peut toutefois pas être expliquée par un modèle de transmission familiale. La MP semble généralement découler de l'addition des processus normaux associés au vieillissement, ainsi que d'altérations découlant de divers facteurs de risque génétiques et environnementaux (113). Toutefois, l'ordre exact des événements menant à la dégradation neuronale est difficile à identifier, particulièrement en considérant la variété des mécanismes pathologiques ayant été impliqués dans la maladie (114). Les anomalies affectant l'élimination des protéines et leur agrégation, la dysfonction mitochondriale et l'activation du système immunitaire sont fort probablement toutes impliquées, mais l'identification définitive d'un événement initiateur n'a pas encore été possible (114). Ces mécanismes convergent toutefois vers une fin identifiable : la mort neuronale.

Tout d'abord, il est possible que les anomalies prenant place à l'intérieur-même des neurones mènent à leur dégénération sous l'effet d'un mécanisme de mort cellulaire programmé (115). Notamment, le stress oxydatif présent dans la maladie est un activateur des voies de l'apoptose

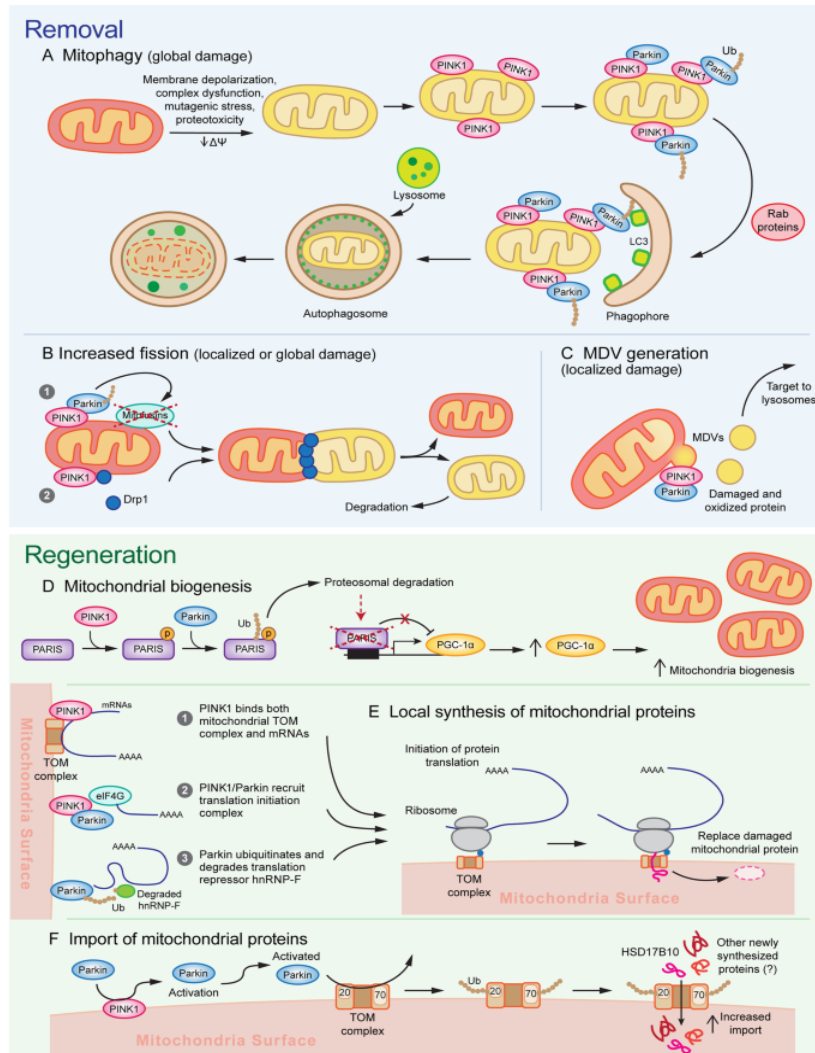


Figure 2. – Résumé de l'implication des protéines PINK1 et Parkine dans le contrôle de la qualité des mitochondries. (6)

PINK1 active Parkine, déclenchant le processus de la mitophagie (A) et permettant l'élimination des mitochondries endommagées. Elles y contribuent également en favorisant la fission mitochondriale (B). La génération de MDV est une voie alternative, régulée en part par PINK1 et Parkine, permettant l'élimination de régions de mitochondries endommagées (C). PINK1 et Parkine sont parallèlement impliquées dans la régénération des protéines mitochondriales, en favorisant leur biogénèse (D), la synthèse protéique (E) et le transport protéique (F). Ubiquitine, Ub.

Tirée de DOI : 10.1186/s13024-020-00367-7

Article publié sous la Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0) (163)

(115). Ainsi, cela soulève la possibilité que le stress mitochondrial mène, par sa production de ROS, à l'initiation de la maladie.

On retrouve, parmi les facteurs environnementaux associés à la MP, certains produits dont le mécanisme d'action implique la mitochondrie, ce qui supporte cette hypothèse. On peut penser aux cas de MP déclenchés par consommation de 1-Méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) qui furent rapportés en 1979 et en 1983, suite à des injections intraveineuse de drogues incorrectement synthétisées (54). La MPTP est un inhibiteur de la fonction mitochondriale, qui agit en inhibant le complexe I de la chaîne de transport d'électrons (CTE) (116). Le métabolite actif du MPTP, généré par l'oxydation de la molécule à l'intérieur des cellules gliales, accède aux ND en empruntant les transporteurs dopaminergiques et cause leur dégénération (117). Son effet neurotoxique semble découler de la perte d'efficacité qu'il induit à la CTE, qui elle-même résulte en la baisse de la production de l'ATP, ainsi qu'en une hausse de la production des ROS, des radicaux libres et du calcium intracellulaire (117). Il en découle la mort cellulaire des neurones, relativement spécifique au ND de la SN, tout comme dans la majorité des cas de MP (117). Toutefois, les modèles d'études de MP employant la MPTP ne résultent typiquement pas en l'accumulation d' α -syn, sauf dans les cas d'administration chronique (54).

Un autre facteur de risque environnemental associé à une toxicité mitochondriale est l'exposition à certains pesticides, dont le paraquat et la roténone (54). On rapporte notamment une hausse du risque de développer la MP de 200 % en lien avec l'exposition au paraquat (118). Ces deux produits sont capables d'induire une dégénération dopaminergique dans des modèles animaux, et celle-ci semble secondaire à l'induction d'une hausse du stress oxydatif (119). Selon des observations de neurones en culture dérivés d'iPSC, ces pesticides agiraient en inhibant la fonction mitochondriale (118). De plus, leur emploi dans des modèles animaux parvient à répliquer l'accumulation d' α -syn et la formation d'inclusions similaires aux corps de Lewy (54). Ces deux exemples soutiennent l'hypothèse selon laquelle la dysfonction mitochondriale pourrait agir comme événement non seulement précoce, mais également déclencheur de MP.

La relative spécificité de l'atteinte des ND de la SN pourrait alors être justifiée par leur importante demande énergétique. En effet, les ND ont tendance à être parmi les neurones les plus longs et

portant les arborisations axonales les plus complexes (21), et les neurones de la SN ont une activité quasi-constante à cause de leur mode d'activation *pacemaker* permettant d'inhiber les mouvements involontaires (21). Malgré leur importante demande énergétique, les dendrites et les somas des ND de la SN ont une plus faible masse mitochondriale que certains ND moins susceptibles à la MP, tels que ceux de l'aire ventrale tegmentale, ou encore de neurones produisant d'autres neurotransmetteurs (120), ce qui pourrait contribuer au stress oxydatif imposé à ce type de cellules. Les ND de la SN accumulent également de fortes quantités de fer, un produit de l'activité de la CTE, avec le vieillissement, alors que celui-ci peut entraîner la génération de ROS (21). Enfin, la production même de la dopamine par ces neurones constitue un facteur de risque, car son oxydation entraîne la formation de quinones pouvant s'avérer toxiques pour les complexes I, III et V de la mitochondrie (21).

Selon cette hypothèse, les corps de Lewy pourraient s'accumuler dans ces neurones lorsque l'efficacité de la production énergétique par les mitochondries est amoindrie, menant à une perte de l'énergie disponible pour le fonctionnement des processus d'élimination de protéines anormales (21). Cependant, ce modèle n'explique pas la distribution des corps de Lewy, ni leur absence dans certaines formes familiales de la maladie, particulièrement alors que l'on sait que ces exceptions sont typiquement rapportées dans les formes associées à PINK1/Parkine, des protéines régulatrices du dommage mitochondrial.

Les corps de Lewy sont généralement interprétés comme étant le résultat de l'échec de certains mécanismes intracellulaires au cours de la maladie (121). Toutefois, il est plus difficile de juger si leur présence est essentielle aux mécanismes de dégradations neuronales, ou si elle ne fait que les accompagner. Ainsi, une autre hypothèse suggère plutôt que les formes pathologiques de l' α -syn, particulièrement à l'état transitif de proto-fibrille atteint avant la formation des amas protéiques, interagissent avec des lipides ou protéines de façon à déclencher un mécanisme toxique, par exemple en activant directement des voies pro- ou anti-apoptotiques (122).

L'hypothèse de l'implication de l'axe intestin-cerveau soutient la possibilité que ces amas protéiques puissent prendre origine dans l'intestin (123). L'axe intestin-cerveau réfère à un ensemble de médiateurs neuraux, immunologiques et endocriniens en interaction (124). Les

anomalies du système digestif, par exemple dans la composition du microbiote ou l'état inflammatoire, peuvent se répercuter sur le cerveau via cet axe (124). Des changements dans cette voie de communication sont rapportés dans de nombreuses pathologie du système nerveux, y compris l'Alzheimer, le Parkinson et plusieurs maladies psychologiques comme la dépression (124). Dans le contexte du Parkinson, il a été suggéré que les anomalies du microbiote mènerait à la facilitation de repliements anormaux de l' α -syn et à la perméabilisation du passage de ces formes pathologiques de la protéines vers le SNC (123,124). En effet, l'accumulation de formes anormales de l' α -syn est également observée au niveau des intestins (36).

Ainsi, en prenant en compte cette hypothèses, l'association entre la MP et certains facteurs de risques associés au système digestif contribue à l'idée que l'accumulation de l' α -syn initie la maladie. Ces facteurs pourraient en effet agir en favorisant ou protégeant contre l'agrégation périphérique de l' α -syn. On peut notamment penser au risque découlant de la consommation d'eau ou de produits agricoles contaminés par certains métaux, pesticides et herbicides (36). Des variations de la composition du microbiome sont également observées chez les patients, bien qu'il soit difficile de déterminer s'il s'agit d'une cause ou d'une conséquence de la MP (36). De plus, des symptômes de constipation figurent comme étant parmi les plus fréquents chez les personnes affectées par la MP, y compris lors de la phase prodromique (36). La vagotomie, qui consiste en la rupture chirurgicale du nerf vague, qui associe le SNE au SNC, est aussi un facteur de protection contre la MP (125). Ces signes contribuent à l'idée qu'une implication de la pathologie dans le système digestif puisse être un des premiers évènements lors du développement de la MP, et donc, que cette pathologie puisse – du moins dans certains cas – prendre origine en périphérie (31).

Le passage des agrégats d' α -syn vers le SNC se ferait alors, comme le suggère les stades de Braak, par le bulbe olfactif et le SNE, et ce, particulièrement au court du vieillissement, alors que tous deux subissent une perte de l'efficacité de leurs barrières physiques et immunologiques (125). La vulnérabilité des ND pourrait alors également être renforcée par l'influence de la dopamine, qui inhibe la conversion de l' α -syn de forme proto-fibrillaire vers la forme des agrégats matures (122).

D'autres hypothèses supportent que la mort neuronale puisse être causée par des mécanismes non-autonomes. Par exemple, des études *in vitro* impliquent les astrocytes dans le mécanisme de neuro-dégénération des neurones de patients avec mutation de *LRRK2*. En effet, les neurones dopaminergiques dérivés d'iPSC d'individus sains subissent une neuro-dégénération lorsqu'accompagnés d'astrocytes dérivés d'iPSC de patients (126). Les modèles de souris portant une mutation de *LRRK2* ont permis d'identifier que les anomalies affectant le mécanisme d'autophagie des astrocytes contribuaient à leur pathogénicité, probablement car la réduction de l'élimination des protéines endommagées contribue à l'accumulation d' α -syn (126).

Ensuite, l'inflammation du SNC maintenue par l'expression de cytokines pro-inflammatoires par la microglie peut contribuer à la neuro-dégénération par divers mécanismes. Premièrement, l'activation inflammatoire de la microglie augmente la densité des récepteurs excitateurs du glutamate, soit les récepteurs NMDA et AMPA, au niveau des synapses (127). Ces modifications favorisent l'excitotoxicité, via l'entrée excessive de calcium par ces récepteurs (127). L'activation microgliale chronique a également été associée à l'expression de cytokines pro-inflammatoires résultante de l'action de l'inflammasome, notamment il-1 β et il-18, pouvant enclencher une mort neuronale programmée par la pyroptose (127,128). La régulation de l'activation de la cascade classique du complément, un processus immunitaire pouvant mener à l'apoptose, semble aussi affectée par les microglies (127).

Enfin, l'immunité adaptative pourrait également être impliquée dans le développement de la MP. L'expression du CMH de classe I par les neurones et la hausse de celle du CMH de classe II par la microglie permettent une attaque médiée par les lymphocytes T CD8⁺ ou CD4⁺, respectivement, si des auto-antigènes sont présentés sur ceux-ci (127). Étant donné que l'intrusion du SNC par les lymphocytes T au cours du développement de la pathologie a également été rapportée, cela signifie que l'identification d'auto-antigènes pouvant déclencher leur attaque suffirait à engendrer ce processus. Une expérience *ex vivo* démontre que la co-culture de lymphocytes T et de ND dérivés d'iPSC de patients avec MP résulte en une mort neuronale dépendante de l'expression du récepteur de l'activation des Th17 (67,127). Ce mécanisme est aussi supporté par le fait que, dans les modèles de souris MP traitées avec la MPTP, les souris sans lymphocyte T CD4⁺ fonctionnel étaient protégées contre la neuro-dégénération (129). Les lymphocytes T

auxiliaires et cytotoxiques anti- α -syn ont également été suggérés être à l'origine d'une attaque auto-immune, toutefois, ceux-ci n'ont pour l'instant été identifiés qu'en périphérie chez les patients (129). De plus, ils ne sont pas spécifiques aux gens affectés par cette maladie (127).

L'étude de rats injectés avec des immunoglobulines de patients avec MP a également démontré que ces anticorps peuvent mener à la dégénération des ND (127). On peut suspecter que leur effet toxique découle de leur influence sur le recrutement du complément, l'induction de l'internalisation de récepteurs par les neurones, l'induction de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps ou encore la neutralisation de certains facteurs neurotrophiques (127).

Plusieurs études d'association pangénomique (GWAS) portant sur la MP ont permis d'identifier un risque associé à la présence de variants au locus HLA, ainsi que dans des gènes impliqués dans la régulation de l'activité leucocytaire ou lymphocytaire, ainsi qu'à la signalisation médiée par les cytokines (130). Certains des polymorphismes hautement associés avec le développement de cas idiopathiques de MP a été jugée comme « hautement crédible » selon le critère HuGENet (131). Parmi ceux-ci quatre ont un rôle associé avec l'immunité. Ils ont été rapportés dans le Tableau 1.

De plus, les maladies auto-immunes représentent un facteur de risque augmentant les chances de développer la MP (60). Le risque de développer la MP chez une personne affectée par n'importe quelle maladie auto-immune est estimé être 33 % plus grand que chez les gens n'ayant aucune de ces pathologies, selon une étude portant sur la population suisse (132). Certaines pathologies auto-immunes ayant directement été associées avec une hausse du risque de MP inclues la sclérose latérale amyotrophique, la sclérose en plaques (SEP), la maladie de Graves, la thyroïdite d'Hashimoto, l'anémie pernicieuse et les maladies rhumatismales (60,132–134). Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin sont aussi associées à une hausse du risque de développer la MP, et leur risque est amoindri si une thérapie anti-TNF est employée (60,135,136). Cette dernière association renforce un second aspect de l'hypothèse intestin-cerveau, selon laquelle la dérégulation de l'équilibre du microbiome ou la présence de toxines ou d'agents infectieux dans l'intestin faciliteraient l'activation de la réponse immunitaire périphérique, menant au développement de l'inflammation et de dysfonctions mitochondriales observées dans la MP (123).

Tableau 1. – SNPs représentant un facteur de risque associé au développement de la MP et localisés sur un gène impliqué dans la fonction immunitaire

Gène (131,132)	SNP (132,133)	Fonction associée
HLA-DQB1	rs9275326 g.32666660C>T (Variant intergénique)	Reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T (130)
STK39	rs1474055 g.169110394C>T rs2102808 g.169117025G>T (Variants intergéniques)	Impliqué dans le stress cellulaire et la production de cytokines pro-inflammatoires (134)
BST1	rs11724635 g.15737101C>A (Variant intronique) rs4538475 g.15737937A>G c.*-195A>G (Variant en 3') rs4698412 g.15737348G>A c.852-328G>A (Variant en 3')	Facilite la croissance des lymphocytes B (135)
DDRKG1	rs8118008 g.3168166A>G (Variant en 3')	Régulateur de l'inflammation via la phosphorylation et la dégradation de NFKBIA, l'inhibiteur de NFκB (136) Régulateur de l'ufmylation en réponse au stress, qui contribue à l'inflammation et l'hématopoïèse (137)

SNP, *Single nucleotide polymorphism*; *, Correspond à un SNP en 3'-UTR. Positions génomiques basées sur le génome de référence humain version GRCh37.

Cette idée est renforcée par la relation entre l'inflammation et microbiote dans le contexte de la maladie. Les individus atteints de MP ont en effet une altération de leur microbiote qui favorise

l'expression de cytokines pro-inflammatoires en périphérie (60,137). De plus, les infections secondaires à plusieurs virus, bactéries et champignons sont associées à une hausse des risques de développer la MP (138,139). L'utilisation de certains immunosuppresseurs (140) et anti-inflammatoires (141) a au contraire un effet protecteur, et diminue le risque d'être diagnostiqué avec la maladie. Toutefois, les essais cliniques ayant jusqu'à présent testé des anti-inflammatoires pour ralentir la progression de la maladie n'ont pas porté fruit (142). Cela pourrait être lié au fait que les processus inflammatoires soient des événements précoces dans la MP, ou que les doses et durées employées dans les études étaient insuffisantes (142).

L'inflammation est donc un important facteur impliqué dans l'étiologie de la MP. Toutefois, l'ensemble des mécanismes menant à son apparition, tant au niveau du SNC que de la périphérie, est complexe, et peut être associé à certaines des autres modifications ayant été rapportés dans la MP. Le rôle de l' α -syn a plusieurs fois été soulevé, mais le dysfonctionnement mitochondrial est également un important facteur pouvant contribuer à son apparition.

2. La mitochondrie comme moteur des processus inflammatoires

2.1. Fonctionnement normal de la mitochondrie

Les mitochondries sont des organelles composées d'une membrane double qui comportent leur propre fragment d'ADN circulaire. La membrane externe de la mitochondrie régule le passage de métabolites et d'ions, notamment du Ca^{2+} , alors que la membrane interne forme des invaginations permettant le maintien d'un gradient électrochimique résultant en un potentiel de membrane négatif chez les mitochondries saines (143). L'ADN double-brins présent dans celles-ci encode pour 13 sous-unités protéiques de la CTE, ainsi que 22 ARN de transport et 2 ARN ribosomiaux. La théorie de l'origine endosymbiotique de la mitochondrie, selon laquelle les mitochondries proviendraient de bactéries procaryotes ayant été intégrées dans des cellules hôtes ancêtres des eucaryotes, expliquerait la présence de matériel génétique spécifique à ces organelles (144).

Les mitochondries sont des organelles dynamiques, en perpétuels cycles de fusion et de fission (145). Elles sont responsables de la production des réserves d'énergie de la cellule, sous la forme

d'adénosine triphosphate (ATP) (145). Elles se retrouvent ainsi en grande quantité aux sites cellulaires ayant de grandes demandes énergétiques, notamment dans les neurones (145). La formation de l'ATP à partir de l'adénosine diphosphate (ADP) est réalisée sous l'effet de la CTE de la mitochondrie (94), par un processus nommé phosphorylation oxydative.

La CTE se subdivise en cinq différents complexes (94). La phosphorylation oxydative peut être effectuée par la séquence d'action des complexes I/III/IV, ou II/III/IV (94). Le complexe I est composé de l'enzyme NADH-ubiquinone oxydoréductase, permettant le transfert d'électrons des NADH de la matrice mitochondriale vers l'ubiquinone (94). L'ubiquinone peut également être réduite par le complexe II, la succinate déshydrogénase, lors de l'oxydation du succinate en fumarate, dans le cadre du cycle de Krebs (94). Le complexe III assure le transfert de l'électron de la forme réduite de l'ubiquinone vers le cytochrome c (94). Ensuite le complexe IV, la cytochrome c oxydase, assure le transfert de l'électron du cytochrome c vers une molécule d'O₂, résultant en la formation d'H₂O (94). Enfin, le complexe V, une ATP synthase, permet la dissipation du gradient de proton créé, en générant un mouvement de protons (H⁺) vers la matrice mitochondriale. Ce mouvement est effectué parallèlement à l'ajout d'un groupement phosphate aux molécules d'ADP, permettant la formation de l'ATP (146). La Figure 3 illustre un résumé des mécanismes impliqués dans la phosphorylation oxydative au site de la CTE.

2.2. Stress oxydatif

Bien que la fonction de la CTE de la mitochondrie soit essentielle pour la production d'une réserve d'énergie cellulaire sous la forme d'ATP, le processus de phosphorylation oxydative est tout de même associé à la production délétère de ROS (146). Ce sont principalement les complexes I, II et III qui sont associés à leur production, car les ROS résultent généralement de la fuite prématurée des électrons acheminés dans la CTE (146). Les électrons s'échappant de la CTE peuvent induire la réduction de l'oxygène en superoxyde (O₂^{•-}), qui peut être converti par la superoxyde dismutase pour former du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (94,146). Des processus tels

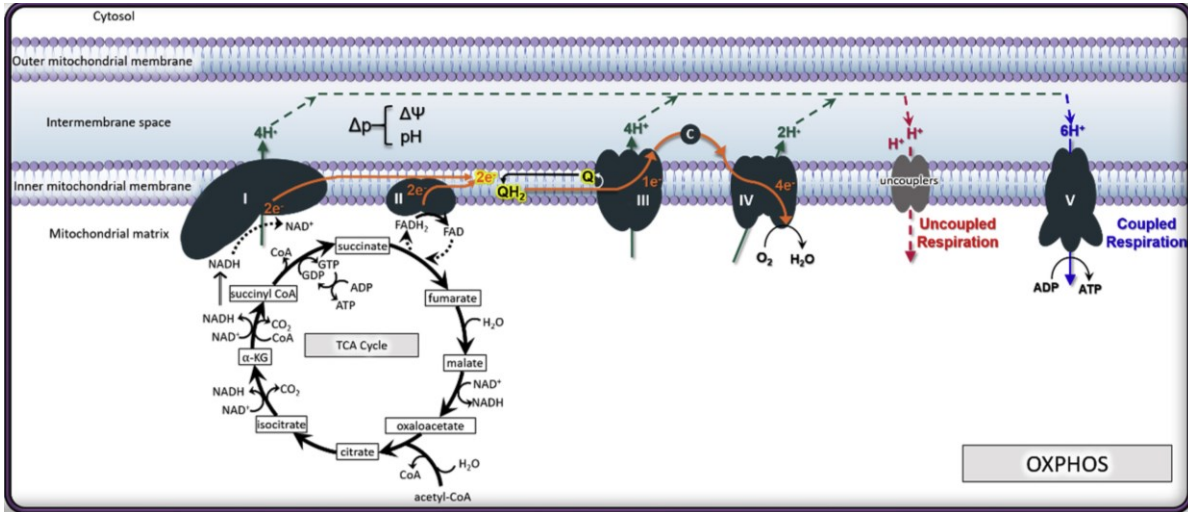


Figure 3. – Résumé de la fonction de la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie. (137)

Les cinq complexes composant la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie se situent dans la membrane interne de cette organelle, et effectuent la phosphorylation oxydative (OXPHOS), qui permet la génération de l'ATP. Force proton motrice, Δp ; acide α -cétoglutarique, α -KG; flavine adénine dinucléotide, FAD; glutaminase, GLS; carnitine O-palmitoyltransférase, CPT; carnitine-acylcarnitine translocase, CACT; protéine trifonctionnelle mitochondriale, MPT; cycle de Krebs (cycle de l'acide citrique), TCA; Coenzyme A, CoA.

Tirée de DOI : 10.1016/j.redox.2020.101674

Article publié sous la Creative Commons Attribution-NonCommercial-No Derivatives License (CC BY NC ND) (248)

que la réaction de Fenton peut enfin transformer l' H_2O_2 en radicaux libres avec des grands potentiels d'oxydations, tel que l' OH^\bullet (147). D'autres protéines mitochondriales peuvent générer des ROS et des RNS par leur activité oxydative (143).

La présence de ROS dans les cellules n'est toutefois pas uniquement néfaste. En effet, celles-ci jouent un important rôle de second messager dans de nombreux processus intracellulaires, tels que ceux liés à la régulation synaptique et à la formation de canaux et de récepteurs (94). Par exemple, au niveau des neurones, des taux physiologiques de ROS permettent de renforcer leur polarisation, ce qui contribue à la plasticité synaptique (94). Les mitochondries, qui emploient

environ 90 % de l'oxygène cellulaire, sont les organelles les plus impliquées dans la production de ces ROS (147). Leur quantité est, à l'état physiologique, tamponnée par les thiols intracellulaires, tels que le glutathion et la thiorédoxine (147).

En quantité excessive, les ROS sont en revanche associés à des modifications aberrantes et irréversibles de l'ADN, des lipides et des protéines. Il peut en résulter des dommages permanents aux mitochondries, associés à une baisse de l'efficacité de la production de l'ATP, et à la mort cellulaire (94). L'ADNmt, localisé à proximité de la membrane interne de la mitochondrie, et donc du site de production principal des ROS mitochondriaux, est particulièrement vulnérable au dommage engendré par les radicaux libres, qui peuvent mener à la baisse de son nombre de copies (143). Lorsque l'ADNmt est endommagé, la transcription des gènes y étant encodés est inhibée, pouvant à son tour nuire au renouvellement des protéines de la CTE et favoriser la production des ROS par celle-ci (143).

2.3. Contribution aux processus inflammatoires

Les niveaux cellulaires de ROS sont impliqués dans la régulation d'une variété de processus immuns et inflammatoires (147). L'un de ces mécanismes est la régulation de la formation des phagocytes inflammatoires. Celui-ci prend place dans certaines cellules immunitaires ayant une activité phagocytaire, telles que les neutrophiles et les macrophages. Ce processus, faisant partie de l'immunité innée, s'active en réponse à la détection de pathogènes bactériens, et mène à une hausse rapide de la production de ROS par la NADPH oxydase, une enzyme membranaire. Ces ROS activent alors des protéases responsables de la dégradation des bactéries repérées. Les ROS générés vont également réguler la présentation des antigènes par ces cellules, ainsi que la production des cytokines pro-inflammatoires (147)

Ensuite, les ROS sécrétés par les mitochondries (MtROS) sont impliqués dans certains processus régulateurs de l'inflammation. Tout d'abord, la production de MtROS en réponse à une accumulation excessive de Ca^{2+} par les mitochondries favorise l'activation de la voie inflammatoire de NF- κ B, ainsi que l'adhésion des leucocytes recrutés au site des cellules endothéliales lors de la réparation tissulaire (148). Les MtROS contrôlent également la transcription et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-18 en régulant l'activité

de NLRP3, impliqués dans l'activation de l'inflammasome (149,150). Ensuite, la présence de MtROS favorise la production de cytokines par les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) en réponse au LPS (149). Le mécanisme expliquant ce phénomène fut étudié dans les macrophages, où l'exposition au LPS favorise le métabolisme de l'ATP par glycolyse plutôt que par phosphorylation oxydative, ainsi qu'une hausse des niveaux de succinate (151). L'oxydation du succinate au niveau de la mitochondrie et la hausse de leur potentiel de membrane mènent à une importante augmentation de la production des MtROS. Ceux-ci affectent l'expression génique vers un profil d'expression pro-inflammatoire (151).

Il est également connu que l'activation des lymphocytes T mène à des modifications métaboliques associées à une contribution de la glycolyse plus importante que la phosphorylation oxydative (150). Les MtROS provenant du complexe III semblent être essentiels au cours de l'activation des lymphocytes CD4⁺ (150). Ceux-ci altèrent également l'activation des lymphocytes B par la régulation de la synthèse de l'hème (150).

Un autre procédé par lequel les mitochondries peuvent mener à l'initiation d'une réponse inflammatoire est par la relâche de l'ADNmt (150). En effet, la dysfonction mitochondriale, ainsi que l'activation de certains médiateurs de l'apoptose, sont associées avec la libération du matériel génétique de la mitochondrie dans le cytosol, où celui-ci peut activer l'inflammasome dépendant de NLRP3 (150) ou la voie cGAS/STING, responsable de l'initiation de la production de la cytokine inflammatoire interféron (IFN)- β (152). Le récepteur TLR9 des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), qui reconnaît les segments d'ADN non méthylés, reconnaît l'ADN de bactéries et de virus, mais également l'ADNmt (153). Les TLR9 induisent la production des cytokines pro-inflammatoires par l'activation de NF- κ B ou des IFN de type I dans les cellules dendritiques (DC) plasmacytoïdes (153).

De plus, les mitochondries sont une source importante de DAMPs, telles que l'ATP, le succinate, les cardiolipines, les peptides N-formyle et le facteur de transcription A (TFAM), pouvant être reconnus par les récepteurs de reconnaissance des pathogènes des cellules immunitaires et pouvant également induire l'activation de l'inflammasome (153,154). L'existence de ces DAMPs est généralement expliquée par l'origine bactérienne des mitochondries (86). Par exemple, les

cardiolipines, présentes à la membrane interne des mitochondries, sont susceptibles à l'oxydation par les MtROS qui permet leur relâche dans la circulation. Elles peuvent alors être reconnues par le récepteur TLR4, typiquement impliqués dans la reconnaissance de la toxine LPS des bactéries Gram-négatives (86).

Certains mécanismes visent le maintien de l'équilibre lors d'une hausse de l'expression des ROS. Les MtROS peuvent stabiliser la protéine HIF1 α , sécrétée en état d'hypoxie, pour favoriser le métabolisme de l'ATP par glycolyse anaérobie, ce qui a pour effet de réduire la respiration oxydative de la mitochondrie et, donc, diminuer la production de MtROS supplémentaires. HIF1 α favorise également la mitophagie. Les MtROS peuvent également activer l'autophagie par la voie de signalisation de AMPK. (155) De plus, ils peuvent réguler l'ouverture des pores de transition des mitochondries, impliqués dans le maintien de l'homéostasie mitochondriale (156). Cela résulte en la relâche de davantage de ROS, pouvant mener à l'activation de la mitophagie agissant ainsi comme un signal d'auto-élimination (149).

Ensuite, la fusion et la fission mitochondriales, qui régulent la fonction et l'élimination des mitochondries, sont également influencées par les MtROS. Les voies de signalisation activées par les MtROS pourraient en effet induire des modifications post-traductionnelles à l'enzyme Drp1, régulatrice de la fission mitochondriale, qui en favorisent l'activité (155,157). Cela aurait comme effet de faciliter la fission mitochondriale, elle-même un précurseur de la mitophagie (155). Parallèlement, les MtROS peuvent inactiver ROMO1, et ainsi prévenir l'activation de OPA1, qui favorise la fusion mitochondriale (155).

2.4. Régulation des mitochondries endommagées dans les pathologies humaines

Plusieurs infections mènent à la hausse des taux circulants d'ADNmt, ce qui a mené à l'hypothèse que la présence des DAMPs mitochondriaux sont un mécanisme de régulation de la réponse contre les pathogènes (86). Dans des conditions saines, la relâche de ces DAMPs peut en effet être régulée par l'induction de la mitophagie, qui permet l'élimination des mitochondries par les autophagosomes sans exposer le système immunitaire à ces DAMPs (86). Ainsi, à l'état physiologique, deux types de mécanismes permettant le maintien de la qualité des

mitochondries : les processus d'élimination des organelles et de ces composants endommagés, ainsi que la biogénèse mitochondriale (158). Pour maintenir un état d'équilibre, ces mécanismes opposés doivent s'effectuer au même rythme, permettant ainsi de maintenir un volume cellulaire constant de cette organelle (158).

Toutefois, dans les cas où l'inflammation induite par les mitochondries n'est pas correctement régulée, elle peut contribuer au tableau inflammatoire de plusieurs pathologies. Cela peut par exemple être le cas lors de dommages cellulaires graves, comme dans le cas des arrêts cardiaques ou de blessures majeures, notamment dans les cas de chocs septiques (86). Les processus inflammatoires découlant des mitochondries ont également été impliqués dans certaines maladies auto-immunes. Des dommages mitochondriaux ainsi que des taux anormalement élevés de ROS ont été identifiés chez les patients avec un diabète de type 1 et avec un lupus érythémateux, deux maladies dans lesquelles des lymphocytes T auto-réactifs sont anormalement activés (86). Une hausse des niveaux d'ADNmt circulant a été rapportée dans l'arthrite rhumatoïde (86). La dysfonction mitochondriale contribue également à la neuro-dégénération dans la SEP (159). La présence d'auto-antigènes dirigés contre les mitochondries est également un marqueur rapporté dans certaines de ces maladies où ils semblent jouer un rôle essentiel au développement de la pathologie (160,161). Ces anticorps anti-mitochondries (MMI) ont été catégorisés en neuf sous types (M-1 à M-9) selon leur cible moléculaire (160), comme rapporté dans le Tableau 2.

Le rôle attribué à ces anticorps est le mieux caractérisé dans la cholangite biliaire primitive (CBP), une maladie auto-immune menant à la destruction des cellules du foie en réponse à des antigènes mitochondriaux (162). On rapporte alors des AMA dans 90 à 95 % des individus affectés, et certains sous-types rapportés semblent spécifiques à cette pathologie (160,162). Toutefois, le mécanisme expliquant la spécificité de l'atteinte auto-immune au foie dans la CBP reste jusqu'à présent incomprise, démontrant que l'impact exact de ces AMA n'est pas encore modélisé (162).

Tableau 2. – Les différents types d’anticorps anti-mitochondries impliqués dans les maladies humaines (160)

Type d’AMA	Cible moléculaire	Localisation	Maladie associée
Anti-M1	Cardiolipine	MMI	SAP, LES, syphilis secondaire
Anti-M2	Complexe α -cétoglutarate déshydrogénase	MMI	CBP
Anti-M3	<i>Inconnue</i>	MME	LES induite par le Venocuran
Anti-M4	Sulfite oxydase	MME	CBP
Anti-M5	<i>Inconnue</i>	MME, MMI	SAP, LES, SS, anémie hémolytique
Anti-M6	Monoamine oxydase B	MME	Hépatite induite par l’Iproniazide
Anti-M7	Sarcosine déshydrogénase	MMI	Cardiomyopathies
Anti-M8	Inconnue	MME	CBP
Anti-M9	Glycogène phosphorylase	MME	CBP

AMA, Anticorps anti-mitochondries; MMI, Membrane mitochondriale interne; MME, Membrane mitochondriale externe; SAP, Syndrome anti-phospholipide; LES, lupus érythémateux systémique; CBP, Cholangite biliaire primitive; SS, Syndrome de Sjögren.

*Adaptée de DOI : 10.1038/s41598-019-40900-3 (Modifications : Traduction de l’anglais au français, retrait de certaines colonnes)
Article publié sous la Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0) (163)*

2.5. Le cas de la maladie de Parkinson

Étant donné l’association entre la MP et certains gènes régulateurs de la mitophagie, l’impact de la perte de l’efficacité de ce processus est d’un intérêt particulier lors de l’étude de cette pathologie. En effet, comme décrit à la section 1.3.1., PINK1 recrute normalement Parkine à la surface des mitochondries endommagées dans le but d’induire la mitophagie. Or, ce processus est prévenu dans les formes familiales récessives de MP caractérisées par la perte de fonction d’un des gènes encodant ces protéines. On identifie, dans les patients avec MP due à des mutations de PINK1/Parkine, des taux anormalement élevés d’ADNmt circulant, même lorsque comparé à des patients avec MP idiopathique, témoignant de cette anomalie (164).

L'importance de la dysfonction mitochondriale dans l'étiologie des forme familiale PINK1/Parkine de Parkinson est supportée par les modèles animaux la reproduisant. En effet, les modèles murins de double inactivation de *Pink1* (*Pink1*^{-/-}) et de *PRKN* (*Prkn*^{-/-}) ne présentent pas de phénotype de MP, ni même une hausse de cytokines inflammatoires circulantes (165). Toutefois, un profil inflammatoire, se présentant entre autres par la hausse des taux sériques d'IL-6 et d'IFN β , apparait en présence d'un stress mitochondrial induit par un exercice exhaustif (165). Le croisement de souris *Prkn*^{-/-} avec des souris *mutator*, qui accumulent des mutations de l'ADNmt, permettent de répliquer cette inflammation et d'induire l'apparition de symptômes moteurs médiés par la perte de ND de la SN (165). Ces deux phénotypes sont également dépendant de l'activité de STING, une protéine activée par la présence d'ADN double-brins dans le sérum (165).

Dans les souris *Pink1*^{-/-}, l'induction d'une infection intestinale par certaines bactéries Gram-négatives mène à l'apparition de déficits moteurs secondaires à la perte de ND de la SN, ainsi qu'au développement de lymphocytes T CD8⁺ spécifiques à la mitochondrie, retrouvés en périphérie et dans le cerveau des animaux (166). La présence de ces lymphocytes T cytotoxiques suggère ainsi une implication d'une réponse auto-immune contre la mitochondrie dans l'apparition de ces symptômes (166). Il est suggéré que l'exposition du système immunitaire à ces antigènes mitochondriaux dépendent de la voie de la MitAP, qui est inhibée par Pink1/Parkine (112,166). Ces résultats suggèrent l'existence d'une auto-immunité dirigée contre la mitochondrie dans la MP.

Des résultats *in vivo* et *in vitro* ont également récemment démontré qu'une forte réponse inflammatoire, induite par traitement au LPS ou au TNF, pouvait induire une baisse temporaire de l'expression de *PRKN*, suggérant que l'inflammation chronique présente dans les patients atteints de MP pourrait reproduire une perte de fonction de ce gène (167).

Objectifs et hypothèses

De nombreuses observations menées chez les patients atteints de MP ainsi que dans des modèles de la maladie convergent pour démontrer l'implication de processus immunitaires dans son étiologie. Des signes d'auto-immunité, entre autres contre la protéine α -syn, sont observés dans la pathologie, et pourraient permettre d'expliquer une partie des phénomènes inflammatoires rapportés. De plus, des résultats récents associent certains des gènes impliqués dans la MP avec une susceptibilité d'exposer le système immunitaire à des antigènes mitochondriaux et, ainsi, créer un risque de déclencher une réponse auto-immune. L'implication de ces mécanismes dans les formes sporadiques de la maladie reste toutefois incertaine, malgré (1) la présence de dysfonctions mitochondriales importantes, (2) les taux anormalement élevés de lymphocytes Th17 en périphérie et (3) l'association rapportée entre l'inflammation et l'expression de *PRKN*, l'un des gènes régulateurs de la MitAP.

Ainsi, le présent travail a pour objectif d'étudier la possibilité que certains mécanismes auto-immuns spécifiques à la mitochondrie puissent être impliqués dans les cas sporadiques de Parkinson. De plus, l'origine de l'inflammation périphérique chronique observée chez les patients et son influence sur les mécanismes pouvant mener à une réponse auto-immune sont également investiguées.

Les hypothèses de travail dirigeant ce mémoire de recherche sont les suivantes :

- 1- Dans la MP, l'inflammation périphérique cause une baisse de l'expression de *PRKN* dans les CPA, donnant l'opportunité à la voie MDV/MitAP de s'activer.
- 2- L'exposition du système immunitaire des patients avec MP à des antigènes mitochondriaux mène à la formation de lymphocytes T spécifiques à ces antigènes présents dans la circulation sanguine.
- 3- Dans la MP, certaines CPA présentent un profil d'expression cytokinique dérégulé pouvant affecter la polarisation des lymphocytes T vers un profil Th17, associé aux maladies auto-immunes.

Manuscrit #1

Le manuscrit suivant, nommé, « IDENTIFICATION OF AUTOREACTIVE, PRO-INFLAMMATORY MITOCHONDRIAL ANTIGEN-SPECIFIC T CELLS IN PARKINSON'S DISEASE PATIENTS' CIRCULATION », dont je suis la première auteure, est présentement en préparation.

La liste des auteurs est la suivante : Camille Michaud, Camberly Paredes Hernandez, Lovatiana Andriamboavonjy, Renaud Balthazard, Sébastien Audet, Annie Laplante, Michel Panisset, Martine Tétreault et Diana Matheoud.

Contributions: D.M. et M.T. ont assuré la supervision du projet et ont conçus les expériences avec C.M. C.M., L.A., R.B., A.L. et S.A. ont participé à l'extraction des PBMC à partir du sang des patients, qui furent recrutés grâce à la contribution de M.P. L.A. et C.M. furent responsables d'examiner les dossiers cliniques des patients. C.M. assura la différenciation et l'activation des MDDC. C.M. et L.A. ont réalisé l'extraction de l'ARN et les expériences de RT-qPCR. C.M. et C.H.P. ont performé les expériences de cytométrie en flux. L'analyse des données fut réalisée par C.M., avec l'aide de D.M. et M.T. C.M., D.M. et M.T. ont rédigé le manuscrit.

IDENTIFICATION OF AUTOREACTIVE, PRO-INFLAMMATORY MITOCHONDRIAL ANTIGEN-SPECIFIC T CELLS IN PARKINSON'S DISEASE PATIENTS' CIRCULATION

Camille Michaud^{1,2}, Camberly Paredes Hernandez^{1,2}, Lovatiana Andriamboavonjy^{1,2}, Renaud Balthazard^{1,2}, Sébastien Audet^{1,2}, Annie Laplante¹, Michel Panisset^{3,4}, Martine Tétreault^{1,2}, Diana Matheoud^{1,2}

1. Department of Neurosciences, Université de Montréal Hospital Centre – Research Centre, Montreal, Quebec, Canada

2. Department of Neurosciences, Faculty of Medicine, Université de Montréal.

3. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Université de Montréal.

4. André-Barbeau Movement Disorder Unit, Université de Montréal Hospital Centre – Research Centre, Montreal, Quebec, Canada

Corresponding author:

Diana Matheoud, PhD

CRCHUM, Department of Neurosciences

900, rue Saint-Denis, Montréal (Québec) H2X 0A9

1. Abstract

PINK1 and *PRKN*, two genes causative of familial forms of Parkinson's disease (PD), inhibit mitochondrial-antigen presentation. However, the mechanisms regulating their expression in antigen-presenting cells and their impact in sporadic PD are still unclear. Hence, we investigated the impact of aging and inflammation in PD patients' PBMC and monocyte-derived dendritic cells (MDDC). We also studied, using flow cytometry, the impact of mitochondrial antigens on the specific activation of T cells from these patients' periphery. We found that acute inflammation leads to the reduced expression of both *PINK1* and *PRKN* in PD patients' MDDCs. An age-associated reduction of the levels of *PRKN* in PBMC was also discovered. Finally, auto-immunity associated Tc17 cells from PD patients seems to be activated through the presentation of mitochondrial antigens. Together, our results support the role of autoimmune processes implicating the mitochondria in PD etiology.

2. Introduction

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder that leads to motor deficits. It is mainly characterized by the degradation of dopaminergic neurons and the formation of α -synuclein (α -syn) aggregates within the central nervous system (CNS) (168). Inflammation (169) and mitochondrial dysfunction (170) have also been identified as other hallmarks of the disease.

Increased levels of pro-inflammatory cytokines have been detected in PD patients' blood, cerebrospinal fluid, and central nervous system (71,72,169,171). Activation of the microglia has also been detected *post-mortem* in PD patients (39) and is believed to be an early event in the progression of the disease (142). However, whether this inflammation is secondary to the progression of PD or plays an active role in its etiology remains heavily debated.

A growing body of work has established a link between immune processes and the development of PD. Various viral, bacterial and fungal infections have been correlated with PD risk (138). The use of some immunosuppressants (140) and anti-inflammatory drugs (141) also appears to have protective effects. In addition, many PD-associated genetic variations have an impact on immune processes (5). Notably, a relation between variations within the *HLA* region (46–48), as well as the

frequency of specific *HLA* antigens (49,50), with the risk of developing sporadic PD has been reported. Recent genome-wide association study (GWAS) data have also identified shared pathways between autoimmune diseases and PD (172).

An autoimmune component of the disease is further supported by the presence of diverse α -syn-specific T cells in the periphery of PD (80,173). Some α -syn epitopes can trigger helper and cytotoxic T cell response in patients (80). Interestingly, the activity level of this T cell subset correlates with disease progression, as it is greatest during preclinical and early PD, and lowered as the disease progresses (174). Similarly, T effector/memory activation and Treg dysfunction are also associated with disease severity (79). It has also been shown that both CD4+ and CD8+ T cells infiltrate the central nervous system in PD (175). In a mouse model of the disease, MHCII knock-out was sufficient to prevent both CD4+ T cells infiltration of the CNS, and dopaminergic neurodegeneration (176). The implication of the adaptive immune system in PD can also be observed by the presence of high levels of α -syn-specific immunoglobulin G (IgG) in the patients' serum during the early stages of the disease (82), and through an abnormal distribution of each subtype of naturally occurring autoantibodies with high-affinity/avidity for α -syn (177).

The connection between mitochondrial dysfunction and PD stems in part from the presence of PD-causing mutations on genes relevant to mitochondrial regulation (170). Notably, *PINK1* and *PRKN*, which can be responsible for recessive familial forms of the disease, are both regulator of mitophagy, a process which allows for the elimination of damaged mitochondria (178). In mice, in the absence of PINK1 or Parkin proteins, mitochondrial stress, such as Gram-negative intestinal infections, induces the formation of SNX9-dependant mitochondrial-derived vesicles (MDVs), which can carry mitochondrial antigens to the cell surface, exposing them to the host's immune system and generating autoreactive T cells specific to the mitochondria (112,166). In the same model, this process also led to the infiltration of T cells in the brain, the degradation of dopaminergic neurons and the apparition of PD-like motor symptoms (166). Furthermore, mitochondrial dysfunction is not exclusive to familial forms of PD, as deficiency of the mitochondrial respiratory electron transport chain complex NADH dehydrogenase is commonly observed in the *substantia nigra* of patients (179).

Given the association of PD and autoimmune processes, we aimed to investigate whether the mitochondrial dysfunction witnessed in PD leads to the recognition of mitochondrial antigens by the immune system. To do so, we measured by flow cytometry T cells response to the presentation of mitochondrial antigens in a group of idiopathic PD patients and compared it to the results in healthy age-and-sex-matched controls.

3. Methods

PBMC isolation

Blood samples were collected from PD patients, age-matched healthy controls (A-HC) and young healthy controls (Y-HC) at the Centre de Recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), where all patients were diagnosed by a neurologist and signed an informed consent approved by CRCHUM ethics committee. Chronic inflammatory and auto-immune diseases were used as exclusion criteria, as well as any treatments that could impact immune function. PBMC were isolated using Ficoll-Paque PLUS™ density gradient centrifugation protocol.

MDDC differentiation and activation

Circulating blood monocytes were isolated using a negative magnetic selection protocol (Miltenyi Biotec, 130-096-537). Isolated monocytes were maintained in RPMI + 10 % FBS culture media enriched with 40 ng/mL IL-4 (Miltenyi Biotec 130-093-921) and 100 ng/mL GM-CSF (Miltenyi Biotec 170-076-112) for five days at a concentration of 1×10^6 cells/mL. IL-4 and GM-CSF were replenished on day 3. Resulting monocyte-derived dendritic cells (MDDC) were treated with either LPS (50 ng/mL) (InvivoGen tlrl-ebmps) or enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) (1×10^6 bacteria/mL) (strain E2348/69) for 6 hours on the fifth day, while control cells were kept in RPMI + 10 % FBS media only. Cell pellets were preserved at - 80 °C.

RNA extraction and RT-qPCR

PBMC and MDDC dry pellets were used for RNA extraction (kit: Norgen Biotek Corporation Product # 47700) according to the manufacturer's instruction. The cDNA was generated through the SuperScript™ VILO™ cDNA Synthesis Kit, and RT-qPCR was performed using the following Taqman™ Gene Expression assays: 18S rRNA (Hs99999901_s1), PINK1 (Hs00260868_m1), PRKN2

(Hs01038322_m1) and SNX9 (Hs00974600_m1). Changes in expression after treatment within a single group could be confirmed by one sample T test. Significance between the average results of the healthy controls and the Parkinson's disease patients was determined by one-way ANOVA.

Beads preparation

A volume of 50 μ L of latex beads were washed in 1mL of PBS under sonication. After centrifugation, the supernatant was removed and resuspended in 50 μ L purified protein mix at a concentration of 1 mg/mL. The protein mixes were composed of BSA (BioShop, 9048-46-8), OGDH (BioSource, MBS969587), PDH (BioSource MBS952066) or mitochondrial proteins extracted (Miltenyi 130-094-532) from human placenta, in PBS. After a 10 minutes-sonication, the beads were left to rotate over-night at 4 °C. Resulting beads were used within 14 days and kept at 4 °C between each use.

T cell activation and flow cytometry

PBMCs isolated from patients were kept 5 days at 37 °C in culture in RPMI + 10% FBS media with 1:1 beads coated with BSA, OGDH, PDH or a mitochondrial proteins (Mito-P) mix (1 μ L), or with CD3/CD28 human T cell activating beads (Thermofisher 11131D) as a positive control for T cell activation (1 bead: 2 cells). For a million cells, a final volume of 500 μ L was obtained, with recombinant human IL-2 (20 U/mL). On day 5, the PBMCs were exposed to pm/ionomycin and protein inhibitors containing brefeldin A (BD GolgiPlug, Fisher scientific BD 555029) and monensin (BD GolgiStop, Fisher scientific BD 554724) as recommended by the manufacturer, in RPMI + 10% FBS media, for 5 hours. Afterward, the PBMCs were stained with the antibodies listed in Table 3, accompanied with a FC receptor inhibitor (Human BD Fc Block, BD biosciences 564219) and analyzed the following day by flow cytometry, with FMO controls. Cells were fixed before intracellular staining with BD Cytofix/Cytoperm™ and permeabilization was conducted using BD Perm/Wash™, as per the manufacturer's instruction. Results were analyzed and illustrated in FlowJo. The Fold induction (FI) of the number of helper (CD3+CD4+) and cytotoxic (CD3+CD8+) T cells expressing each studied cytokine was determined by comparing the percentage of the population with a positive staining when exposed to Mito-P, OGDH or PDH, relative to the corresponding percentage with the BSA beads. A cytoscore was determined for all cytokine by

adding together the z-score (calculated from FI) for each cytokine for the same individual, where $z - score = \frac{FI_{individual} - (Average FI_{A-HC})}{St.Dev_{A-HC}}$. The value was calculated for both CD4+ and CD8+ cells, for all individuals. Average FI and cytoscores were compared for the A-HC and PD patients two-tailed T test.

Table 3. – Antibodies used to stain human PBMC for flow cytometry

Target	Fluorochrome	Conditions	Product information
Dead cells	Alexa 700	15 min at RT	Biotium 32011
CD3 (human)	Percp/cy5.5	20 min at 4 °C	BD 560835
CD4 (human)	BUV737	20 min at 4 °C	BD 612748
CD8 (human)	APC H7	20 min at 4 °C	BD 560179
IFN- γ (human)	PE	O/N at 4 °C	Biolegend 506507
TNF- α (human)	Alexa 488	O/N at 4 °C	Biolegend 502915
IL-17 (human)	Brilliant Violet 421	O/N at 4 °C	Biolegend 512322
GM-SCF (human)	APC	O/N at 4 °C	Biolegend 502310

RT, Room temperature; O/N, Over-night.

4. Results

4.1. MitAP inhibitors' expression is repressed in PD and aging

Given the reported association between acute inflammation and reduced *PRKN* expression in microglia, macrophages and neurons (167), we first aimed to determine whether similar conditions could influence the expression of this gene in dendritic cells, due to their major role as antigen-presenting cells (APCs). To study this relation, MDDCs were generated from monocytes isolated from the blood of sporadic PD (sPD) patients and healthy age-matched controls (A-HC), as reported in Table 4. When activated by LPS or gram-negative bacteria EPEC, the MDDCs' expression of *PRKN2* mRNA was decreased significantly only in the PD patients' group (see Fig. 4B).

Table 4. – Participants' characteristics by group and experiment

	MDDC activation		PBMC expression			T cell activation			
	A-HC (n = 8)	PD (n = 16)	Y-HC (n = 9)	A-HC (n = 14)	PD (n = 19)	Mito-p/OGDH		PDH	
						A-HC (n = 12)	PD (n = 11)	A-HC (n = 5)	PD (n = 4)
Sex (M/F) (%)	55,6/ 44,4	68,8/ 31,2	44,4/55,6	57,1/ 42,9	73,7/ 26,3	58,3/ 41,7	72,7/27,3	60,0/ 40,0	100/0
Age at sample collection (years)	64,1 ± 6,5	66,9 ± 8,3	26,8 ± 5,7	66,8 ± 7,4	67,3 ± 7,7	64,1 ± 7,7	63,8 ± 9,2	68,6 ± 6,8	60,5 ± 11
Age at PD diagnosis (years)		61,3 ± 8,9			61,4 ± 5,5		56,5 ± 7,4		55,3 ± 10
Duration of PD (years)		5,2 ± 3,7			5,5 ± 3,3		11,4 ± 5,5		5,3 ± 2,3

A-HC, Age-matched healthy controls; PD, Parkinson's disease; Y-HC, Young healthy controls; M, Male; F, Female.

To establish if this inflammatory response could influence other MitAP modulators, the expression of *PINK1* and *SNX9* mRNAs were also measured in the cells treated with LPS or EPEC and compared to the levels in non-treated (NT) MDDCs from the same individual. The levels of *PINK1* from the PD group was decreased when the cells were exposed to either LPS or EPEC, while only the EPEC treatment led to a significant decrease of *PINK1* in the A-HC group (Fig. 4A). On the other hand, *SNX9* expression was unaffected in all groups and conditions (Fig. 4C). Together, these results suggest that acute inflammatory conditions could regulate the MitAP and mitophagy pathways in dendritic cells, as at least one of their major inhibitors was under-expressed in

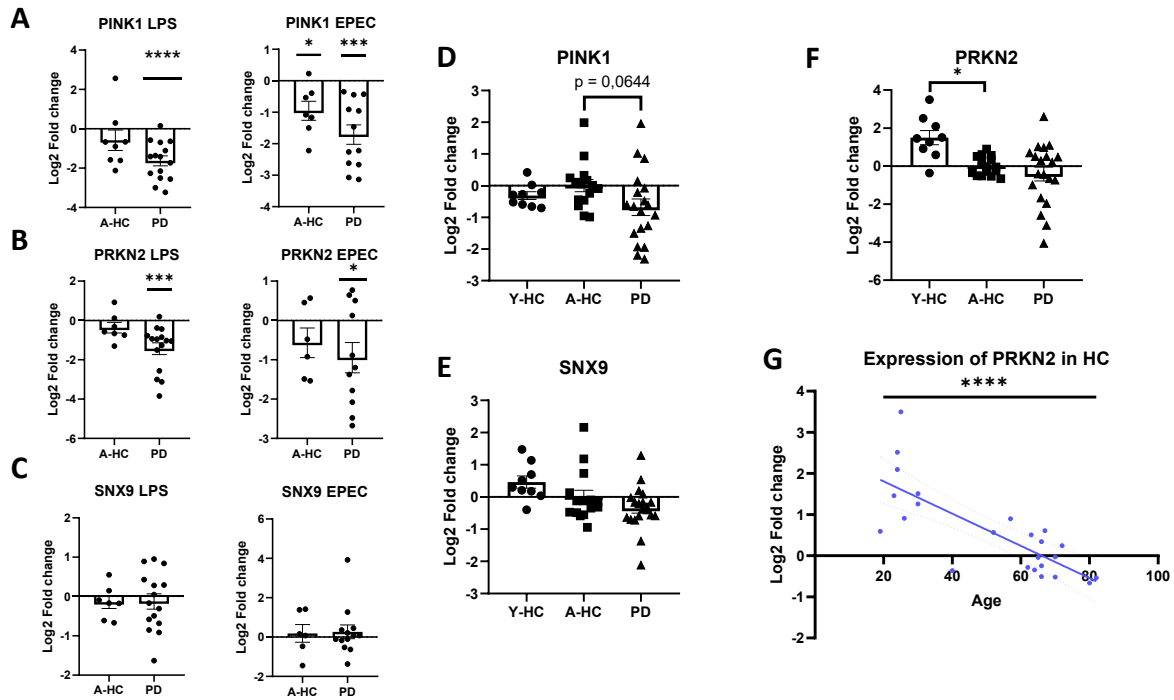


Figure 4. – Inflammatory conditions such as LPS and EPEC treatments, as well as aging, can lower the expression of MitAP inhibitors *PINK1* and *Parkin*

The expression of *PINK1* is lowered in MDDCs from *spD* patients exposed to lipopolysaccharide (LPS) or the Gram-negative bacteria *EPEC*, while only *EPEC* significantly lowered its expression in the A-HC group (A). The expression of *PRKN2* was also lowered in the PD patients' MDDCs in both conditions (B). *SNX9*, which is required for MitAP-implicated MDV formation, was unaffected (C). Reported values indicate \log_2 of the expression of each gene relative to the non-treated cells from the same individual, using *S18 rRNA* as a housekeeping gene. Results were analyzed by one sample *T* test compared to a null value. Inflammaging did not significantly affect the expression of *PINK1* (D) or *SNX9* (E) but led to a decreased expression of *PRKN2* (F). This decreased expression of *PRKN2* was shown to directly correlate with age in HC based on a linear regression (G). The expression of *PINK1* tended to be lower in PD patients' PBMCs than in A-HC (D). Expression within the PBMC is relative to the average of the A-HC, using *S18 rRNA* as a housekeeping gene, and compared to this group by one-way ANOVA. *, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$. Error bars represent standard error of the mean.

response to the pro-inflammatory treatments. This association appears strongest in sPD patients' cells, given that both *PINK1* and *PRKN2* expression were significantly affected.

As the association between aging and increased circulating levels of pro-inflammatory cytokines, or *inflammaging* (74), has been well established, we inquired whether the changes in resting cytokine levels would impact the expression of circulating immune cells. We compared the mRNA expression levels of *PINK1*, *SNX9* and *PRKN2* in PBMC from young healthy controls (Y-HC) (≤ 40 y.o.), the A-HC and the sPD patients (Fig. 4D,E,F). We found that the A-HC had a significantly lower expression of *PRKN2* when compared to the Y-HC, while no difference was found when compared to PD patients (Fig. 4F). Additionally, a statistically significant association between age and decreased *PRKN2* expression was confirmed by linear regression (Fig. 4G). An association between aging and a vulnerability to the induction of the MitAP pathway can be suspected given this result. An impact on the regulation of mitophagy can also be suspected. Furthermore, the expression of *PINK1* tended to be abnormally low in PD patients' PBMCs when compared to the A-HC, suggesting that this effect may be greater in the patients.

4.2. PD patients' cytotoxic T cells are activated by mitochondrial proteins

In the absence of either *PINK1* or Parkin, a mitochondrial stress, such as an infection, can stimulate the production of *SNX9*-dependant MDV (112,166). These MDV can carry mitochondrial antigens to the cell surface and represent a risk of exposure of auto-antigens to the immune system (166). To verify whether the reduced levels of *PINK1* and *PRKN* associated with aging or exposure to other inflammatory conditions led to the generation of an anti-mitochondrial specific immune response, we exposed PBMCs from PD patients and A-HC to mitochondrial proteins (Mito-p)-coated beads for five days, in the presence of IL-2, expecting the APCs to process the peptides and prime the T cells present in the mix.

We also hypothesized that the use of a full mitochondrial protein extract could be impeding the chances of having a specific recognition between T cells and their antigen, due to low relative abundance of relevant epitopes (180). Hence, we also generated beads coated with the proteins OGDH and PDH, which we considered to be at high risk of MDV inclusion given the important levels of oxidative stress generated by their respective complexes (181) and numerous previous

reports of their presence in such vesicles (166,182,183). After re-activation with ionomycin and pma, the cells were stained and studied by flow cytometry. Amongst the viable lymphocytes, the CD4+ T cells and CD8+ T cells populations were studied (Fig. 5A).

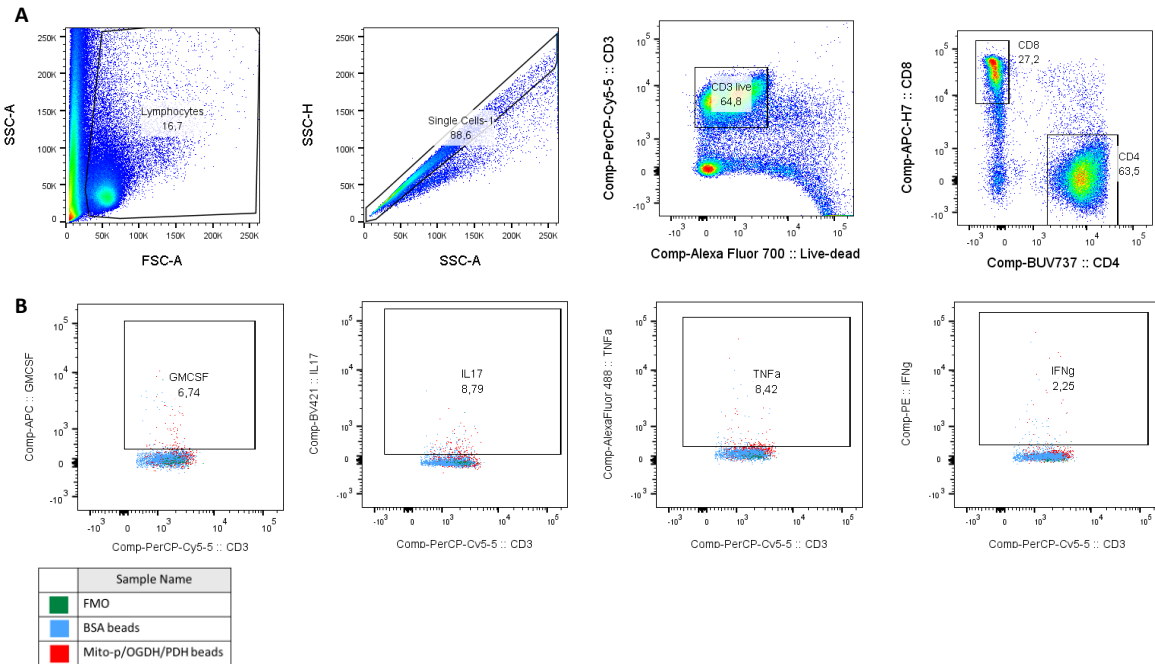


Figure 5. – Flow cytometry gating to study PD patients’ T cells pro-inflammatory cytokines expression when exposed to mitochondrial proteins

CD4+ and CD8+ T lymphocytes were studied by flow cytometry after exposure to a mitochondrial proteins extract (Mito-p) or mitochondrial proteins OGDH and PDH (A). For all conditions and cell subtypes, the intracellular levels of pro-inflammatory cytokines GM-CSF, IL-17, TNF α and IFN γ were quantified and compared to those of cells exposed to BSA, using a FMO staining as a staining control. Results for CD8+ lymphocytes from a single PD patient after exposure to OGDH was used to illustrate this quantification (B). Percentage of cytokine-positive cells for the OGDH condition is reported (B).

The intracellular levels of four different cytokines, GM-CSF, IL-17, TNF α and IFN γ , were quantified and compared to the ones of cells exposed to BSA-coated beads (Fig. 5B). The global

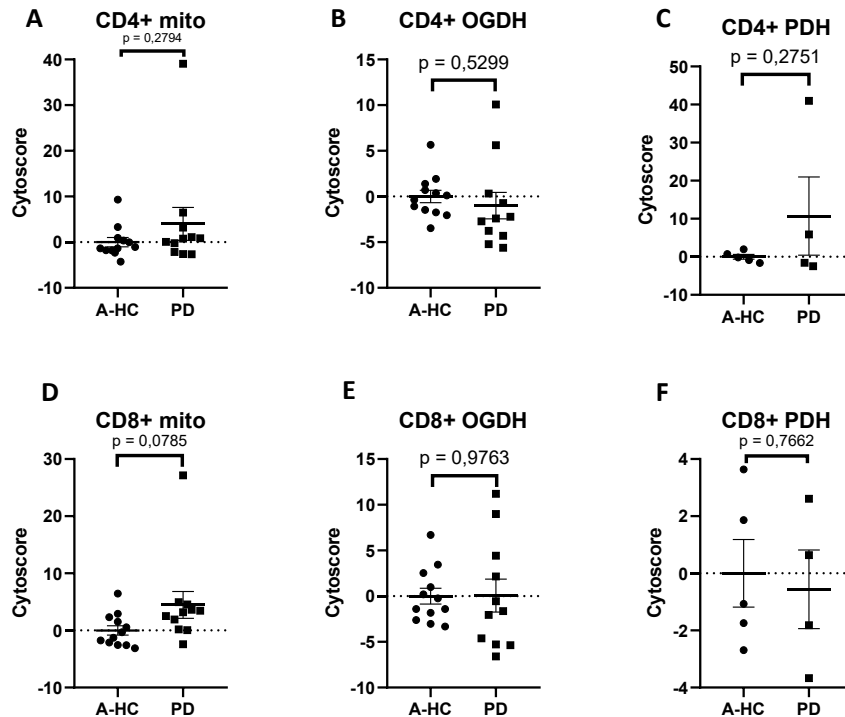


Figure 6. – PD patients’ CD8+ T cells seem to express more cytokines upon activation by mitochondrial proteins

CD4+ and CD8+ T lymphocytes were studied by flow cytometry after exposure to mitochondrial proteins (A,D), OGDH (B,E) and PDH (C,F). For all conditions, the intracellular levels of pro-inflammatory cytokines IL-17, GM-CSF, TNF α and IFN γ were quantified and compared to those of cells exposed to BSA. A cytoscore, corresponding to the adjusted sum of the z-score for each individual, was calculated and used to represent cytokine induction. The increase in cytokine-expressing T cells in PD and A-HC was compared using two-tailed T test. A tendency toward greater cytokine expression was observed in PD patients’ CD8+ T cells exposed to the mix of mitochondrial proteins. Error bars represent standard error of the mean.

increase in cytokine expression was quantified in a cytoscore, corresponding to the sum of the z-score for each cytokine, within the same condition (Mito-p, OGDH or PDH), for both cell types (Fig. 6A-F). No noticeable difference could be observed in the cytokine induction by the CD4+ T cells from patients or controls (Fig. 6A-C). On the other hand, a marked tendency (p = 0,0785) toward stronger cytokine expression in the CD8+ T cells exposed to Mito-p was observed (6D),

while the same tendency didn't show through the OGDH and PDH results (6E,F). The observation of the expression of each cytokine taken individually, in the Mito-p condition, allowed us to determine that the increased response was driven by the levels of IL-17 in both the CD4+ (7A) and CD8+ cells (7B). This effect was most noticeable in the CD8+ cells, where the difference between the controls' and PD patients' cells' response was sufficient to reach significance (7B). This

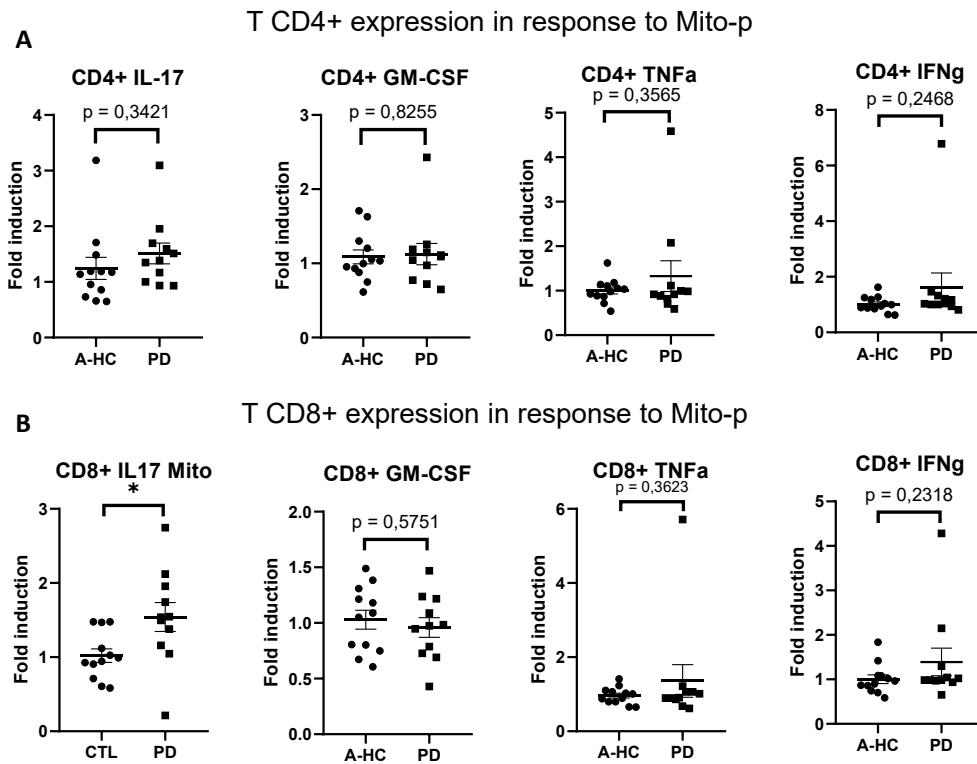


Figure 7. – PD patients' CD8+ T cells' express IL-17 upon activation by mitochondrial proteins

CD4+ **(A)** and CD8+ **(B)** T lymphocytes were studied by flow cytometry after exposure to mitochondrial proteins, OGDH and PDH. For all conditions, the intracellular levels of pro-inflammatory cytokines GM-CSF, IL-17, TNFα and IFNγ were quantified and compared to those of cells exposed to BSA. The increase in cytokine-expressing T cells in PD and A-HC was compared using two-tailed T test. A specific induction of IL-17 was observed in PD patients' CD8+ T cells, which corresponds to a Tc17 cells activation profile. *, $p < 0,05$. Error bars represent standard error of the mean.

response was quite specific, as no change in the induction of GM-CSF, TNF α or IFN γ was detected (Fig. 7B).

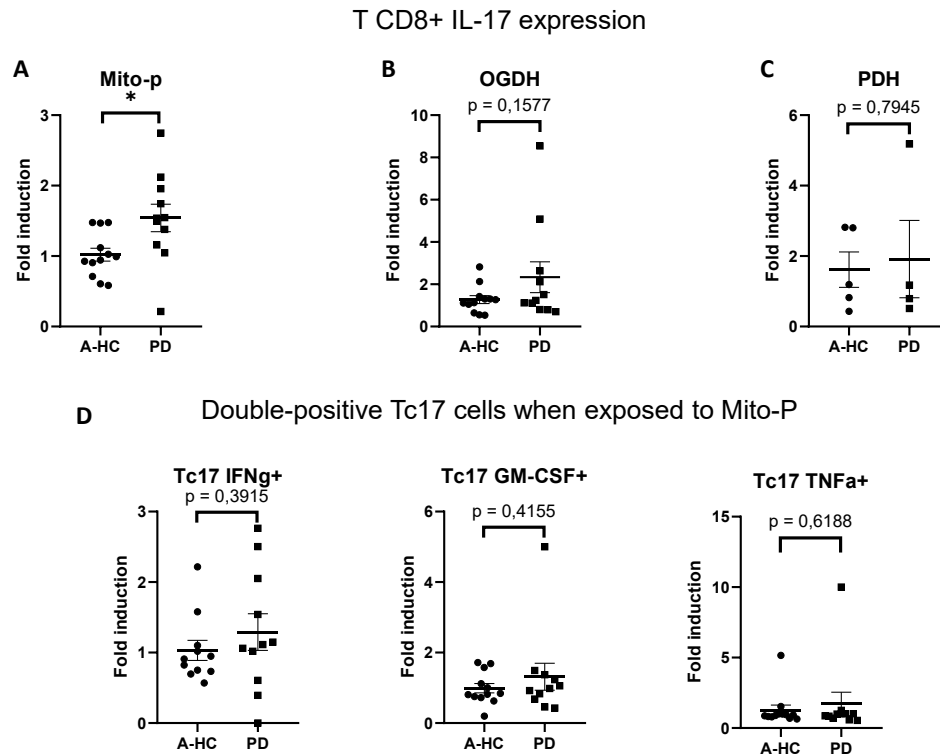


Figure 8. – PD patients' Tc17 can be activated by OGDH and PDH, as well as Mito-p

*CD8+ T lymphocytes were studied by flow cytometry after exposure to mitochondrial proteins, OGDH (B) and PDH (C), or the Mito-p mix (A). For all conditions, the intracellular levels of pro-inflammatory cytokines IL-17 were quantified and compared to those of cells exposed to BSA. A cytoscore, corresponding to the adjusted sum of the z-score for each condition for the same individual, was calculated and used to represent cytokine induction. The increase in cytokine-expressing T cells in PD and A-HC was compared using two-tailed T test. A specific induction of IL-17 was observed in PD patients' CD8+ T cells exposed to the mitochondrial proteins, which corresponds to a Tc17 cells activation profile. The levels of co-expression of IFN γ , GM-CSF and TNF α by the Tc17 cells was reported (D). *, $p < 0,05$. Error bars represent standard error of the mean.*

When observing IL-17 cytokine induction for each individual condition, a stronger and more frequent induction was observed for the Mito-p mix (Fig. 8A) than for OGDH (Fig. 8B) or PDH (Fig. 8C) alone. However, both selected mitochondrial proteins could induce a strong induction of IL-17 in some PD patients. Hence, two specific mitochondrial autoantigens present in PD patients were identified. It also appears that more mitochondrial autoantigens could be identified, given that the vast majority of PD patients responded to the Mito-p mix.

IL-17-expressing T CD8⁺ cells correspond to Tc17 lymphocytes, a subtype associated with autoimmune diseases (184). These cells are highly plastic, and gain a cytotoxic activity when exposed to specific inflammatory conditions, which also results the induction of IFN γ production (184). Tc17 have also been reported to be possible sources of GM-CSF and TNF α (185). To confirm whether the Tc17 cells activated by the mitochondrial proteins also presented a simultaneous production of the other studied cytokine, we measured the amount of double-positive Tc17 cells in response to the Mito-p beads. These results were also analyzed by comparison to the BSA beads (Fig. 8D). However, neither IL-17+/IFN γ +, IL-17+/GM-CSF+, nor IL-17+/TNF α + were found to be more frequent in the PD group.

5. Discussion

PINK1 and *PRKN* variants can cause familial forms of PD, or act as risk factor in sporadic cases (186,187). They also inhibit the MitAP pathway through the prevention of MDV formation and the initiation of mitophagy (112). Given the recent discovery linking robust inflammation with the inhibition of *PRKN* in cells (167), we investigated the regulatory responses influencing the expression of these two genes and their impact in different PD-relevant conditions.

First, we tested the impact of acute inflammation in MDDCs from A-HC and sPD patients on the expression of these two genes and found a clear reduction in the expression of both *PINK1* and *PRKN* in the PD group. Only one of the tested conditions, the activation by EPEC, also led to a significant reduction of *PINK1* in the control group. This could be due to the bacteria's ability to trigger a variety of intracellular inflammatory pathways, compared to the LPS which it carries. Similarly, it could be theorized that the greater decrease in *PRKN* and *PINK1* expression in the PD patients may be a result of an enhanced inflammatory response in DCs in this condition. No

compensatory mechanisms were observed in the expression of *SNX9*, which is required for MitAP-associated MDV formation (112). Since excessive inflammation and mitochondrial dysfunction are known hallmarks of PD cases (188), our results suggest that PINK1 and Parkin may be chronically under-expressed in PD, thus leading to MitAP induction.

Aging is the principal risk factor for PD and has been associated with increased levels of circulating pro-inflammatory cytokines (189). Hence, we investigated the impact of age on *PINK1* and *PRKN* expression and found that the expression of *PRKN* was negatively regulated in PBMC during aging. This change was replicated in PD patients' cells. A lower *PINK1* expression in PBMC from PD patients, which would have been exposed to greater levels of pro-inflammatory cytokine within the circulation than the A-HC's, also reinforces this association.

These results strengthen the link between inflammation and PD via the inhibition of *PRKN* and modulation of *PINK1* expression. Although *PRKN* inhibition has been demonstrated in other cell types, our results provide the first evidence of this phenomenon in DCs. We have shown that *PINK1* expression is also modulated in this cell type, which had so far only been reported in zebrafish (193). The association between PD and various infections (138) may be associated to their impact on *PINK1/PRKN* expression in the periphery, and the induction of autoimmune pathways. This information may help explain the association between PD and two of its major risk factors, aging and infections.

As both PINK1 and Parkin are implicated in a common MitAP-inhibiting pathway (112), we also asked ourselves whether their reduced expression in PD patients might have led to the exposure of the patients' immune system to mitochondrial autoantigens. Indeed, in a previous study, our group has reported that a Gram-negative bacteria intestinal infection could trigger MitAP in antigen-presenting cells and allowed for the formation of mitochondrial-specific CD8+ T cells in *Pink1*^{-/-} mice (166). Our results showed a significant and specific activation of Tc17 cells from PD patients when presented with mitochondrial proteins. This suggests that the processes previously observed in mice may also be taking place in humans affected by PD. However, the Tc17 cells did not show a high expression of IFN γ , the profile which would be expected upon gain of cytotoxic activity (184).

Tc17 lymphocytes have been associated with various autoimmune diseases, such as multiple sclerosis (MS), rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis (184). Memory Tc17 are often correlated with chronic and persistent inflammation (184). A recent study also demonstrated an abnormal increase in circulating Tc17 levels within the two-years period following the initiation of PD treatment, which was also accompanied with decreased levels of Tc1 and Tc2 lymphocytes (190). IL-17A can contribute to the neuroinflammation and neuronal death in PD models (191), and its expression by Tc17 cells has been shown to facilitate the polarization of CD4+ T cells toward the autoimmune disease-associated Th17 profile in a MS model (192). Interestingly, Th17 cells have also been reported to be over-represented in PD patients' circulation and were observed in high amount in post-mortem brains (67).

Considering the presence of infiltrating CD8+ T lymphocytes in the *substantia nigra* of PD patients (65), our results suggests that an attack of the adaptative immune system against dopaminergic neurons may be taking place, as was observed in the *Pink1*^{-/-} mice model (166). Indeed, inflammatory conditions such as infections can lead to MHC class I expression by neurons, rendering them potential target for the cytotoxic activity of CD8+ T cells (193). This is more-so true as Tc17 cells differentiated from naïve CD8+ T cells do not exhibit any cytotoxic activity until stimulated with pro-inflammatory cytokines, such as IL-12 (184).

MHC-I has been shown to be expressed by dopaminergic neurons of the substantia nigra, as well as by the norepinephrinergic neurons of the locus ceruleus, in both healthy individuals and PD patients (194). MHC-I expression by dopaminergic neurons was found to be increased in PD models, a phenomenon which can be exacerbated by PINK1 silencing (195). In the same study, CD8+ infiltration in the CNS and neurodegeneration was found to be reduced when preventing MHC-I expression (195).

Our results support a role for mitochondrial-antigen-specific Tc17 cells in the neuroinflammation and neurodegeneration witnessed in PD and reinforces the hypothesis that autoimmune processes may be implicated in its etiology.

However, some limitations remain in the current study, which would need to be addressed in future research. First, we have yet to confirm to presence of APCs which would display evidence

of MitAP. Hence, it remains unconfirmed whether the generation of the mitochondrial-specific T cells were indeed consequent to the under-expression of PINK1/PRKN. Furthermore, the inflammatory triggers that would result in MitAP within the periphery are only hypothesized. Since all older individuals displayed reduced levels of PRKN, at least another factor needs to be identified to distinguish those who will or won't develop PD. Finally, a bigger sample size would be required to investigate the exact proportion of PD patients which respond to the OGDH and PDH proteins, and to verify if higher levels of IL-17+/IFN γ + may be present in the PD group's samples.

In sum, our study further highlights the contribution of autoimmunity and the MitAP pathway in sporadic cases of PD.

6. Contributions

D.M. and M.T. supervised the project, and conceived the experiments with C.M. C.M., L.A., R.B., A.L. and S.A. participated the PBMC extraction from the patient's blood samples, which were recruited through M.P.'s help. L.A. and C.M. gathered the patient's clinical information. C.M. was responsible for the differentiation and activation of the MDDCs. C.M. and L.A. realized the RNA extractions and Rt-qPCR experiments. C.M. and C.H.P. performed the cytometry experiments. Data analysis was performed by C.M., with D.M. and M.T.'s guidance. C.M., D.M. and M.T. wrote the manuscript.

Manuscrit #2

Le manuscrit suivant, nommé, « LES CELLULES DENDRITIQUES DE PATIENTS AVEC MALADIE DE PARKINSON PRÉSENTENT UN PROFIL D'EXPRESSION CYTOKINIQUE DISTINCT », dont je suis la première auteure, est présentement en préparation.

La liste des auteurs est la suivante : Camille Michaud, Lovatiana Andriamboavonjy, Camberly Paredes Hernandez, Renaud Balthazard, Sébastien Audet, Annie Laplante, Diana Matheoud, Michel Panisset et Martine Tétreault.

Contributions: D.M. et M.T. ont assuré la supervision du projet et ont conçus les expériences avec C.M. C.M., L.A., R.B., A.L. et S.A. ont participé à l'extraction des PBMC à partir du sang des patients, qui furent recrutés grâce à la contribution de M.P. L.A. et C.M. furent responsables d'examiner les dossiers cliniques des patients. C.M. assura la différenciation et l'activation des MDDC. C.M. et L.A. ont réalisé l'extraction de l'ARN et les expériences de RT-qPCR. C.M. et C.H.P. ont performé les expériences d'ELISA. L'analyse des données fut réalisée par C.M., avec l'aide de D.M. et M.T. C.M., D.M. et M.T. ont rédigé le manuscrit.

LES CELLULES DENDRITIQUES DE PATIENTS AVEC MALADIE DE PARKINSON PRÉSENTENT UN PROFIL D'EXPRESSION CYTOKINIQUE DISTINCT

Camille Michaud^{1,2}, Lovatiana Andriamboavonjy^{1,2}, Camberly Paredes Hernandez^{1,2}, Renaud Balthazard^{1,2}, Sébastien Audet^{1,2}, Annie Laplante¹, Diana Matheoud^{1,2}, Michel Panisset^{3,4}, Martine Tétreault^{1,2}

1. Département de Neurosciences, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montreal, Québec, Canada

2. Département de Neurosciences, Faculté de Médecine, Université de Montréal.

3. Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal.

4. Unité des troubles du mouvement André-Barbeau, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montreal, Québec, Canada

Auteur de correspondance:

Martine Tétreault, PhD

CRCHUM, Department of Neurosciences

900, rue Saint-Denis, Montréal (Québec) H2X 0A9

1. Introduction

Comme mentionné dans les sections précédentes, l'inflammation est une composante majeure de la MP. Les phénomènes inflammatoires centraux, particulièrement ceux secondaires à l'activation de la microglie, semblent contribuer à la progression de la pathologie par leur effets toxiques sur les neurones, et la facilitation de la progression de l' α -synucléinopathie (196–198). La SN étant la zone cérébrale ayant la plus grande densité de cellules microgliales, l'impact de la neuro-inflammation qu'elles mitigent est particulièrement d'intérêt dans la MP (199). Cette inflammation contribue également à la perméabilisation de la BHE, permettant aux cellules immunitaires périphériques d'infiltrer le SNC (199).

Les processus inflammatoires périphériques sont également altérés dans la MP, ce qui est, entre autres, reflétés par la variation des concentrations cytokiniques en périphérie. Notamment, les taux circulants des cytokines pro-inflammatoires TNF α , IL-1 β et IL-6 sont augmentés (37,71,72). Une pareille inflammation périphérique peut contribuer à la perméabilisation de la BHE, permettant ainsi d'inciter la neuro-inflammation et la neuro-dégénération, y compris au site de la SN (199,200). Elle influence également l'activation et la polarisation des cellules du système immunitaire (199), tout en facilitant leur infiltration au SNC. Les signaux périphériques influencés par l'activité immunitaire peuvent également contribuer au déclenchement de la neuro-inflammation, entre autres via le nerf vague, dont l'ablation confère un effet protecteur contre la neuro-inflammation et l'apparition de la MP (125,201).

En plus de représenter un facteur de risque dans le développement de la MP, les infections sont aussi la principale cause de décès chez les gens affectés par cette pathologie (201), et elles peuvent en accélérer la progression (202). Elles ont été suggérées d'agir comme facteur initiateur de la MP, dû à leur capacité à induire une réponse immunitaire systémique et transmissible au SNC via l'axe intestin-cerveau (202).

La contribution de l'inflammation périphérique dans la MP semble ainsi majeure, mais les mécanismes par lesquels elle peut influencer l'apparition et la progression de la maladie sont multiples. Ainsi, notre piètre compréhension de la suite des événements inflammatoires rend difficile d'identifier les marqueurs et cibles thérapeutiques les plus prometteurs.

Des résultats contradictoires ont été rapportés tant qu'à la réponse inflammatoire de plusieurs des types cellulaires pouvant être responsable de la production des cytokines aperçues en excès dans le sang des patients avec MP. En effet, l'expression de TNF α , IL-1 β et IL-6 a été rapportée être plus faible dans les PBMC, qui inclus des monocytes et des lymphocytes T et B, de patients avec MP que dans les contrôles sains de même âge lors d'une activation par LPS (203). L'expression de TNF α par la fraction isolée de monocytes et de macrophages était également plus faible après traitement au LPS (203). Cette hypo-fonction du système immunitaire a été proposée comme étant une source potentielle d'une vulnérabilité des patients aux complications secondaires à des infections (203). Toutefois, le résultat inverse, soit une surexpression de ces cytokines inflammatoires par les monocytes de patients avec MP, fut rapportée dans deux autres études (87,204). Ces résultats laissent planer un doute quant à l'origine des cytokines pro-inflammatoires observées dans le sérum des patients avec MP.

Les DC sont des CPA et d'importantes régulatrices de la réponse inflammatoire (205). Elles contribuent à la régulation de l'inflammation générée tant par le système immunitaire inné qu'acquis, notamment au niveau de la polarisation des lymphocytes T (205). De plus, leur niveau sanguins est anormalement faible dans la MP (205). Ceci pourrait être un signe de migration vers les tissus, un processus déclenché lors d'une réponse inflammatoire, suggérant qu'elles pourraient s'être dirigées vers le SNC (205). Toutefois, la contribution de l'expression cytokinique des DC au profil inflammatoire périphérique de la MP n'a pas jusqu'à présent été caractérisée.

Ainsi, pour déterminer si l'expression cytokinique des DC étaient affectées dans la MP, nous avons générés des MDDC et étudié leur réponse lors d'une activation par deux différents traitements, soit l'exposition à la toxine LPS ou à la bactérie EPEC.

2. Méthodes

Recrutement des patients et isolation des PBMC

Les patients atteints de MP, ainsi qu'un groupe d'individus contrôles de même âge (CTL) furent recrutés pour participer à l'étude au Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM). Le diagnostic de MP fut posé par un neurologue et le consentement libre

et éclairé fut obtenu selon un protocole approuvé par le comité d'éthique du CRCHUM. Les maladies et traitements affectant le système immunitaire étaient un critère d'exclusion de l'étude. Les PBMC furent extraits à partir d'un prélèvement sanguin par séparation avec Ficoll-Paque PLUS™, en employant la méthode de centrifugation suggérée par le manufacturier.

Isolation des monocytes et différenciation en MDDC

L'isolation des monocytes totaux fut réalisée en employant un protocole de séparation magnétique à sélection négative (Miltenyi Biotec, 130-096-537) à partir des PBMC frais. Ensuite, les monocytes furent conservés cinq jours dans un milieu RPMI + 10 % FBS, supplémentés avec 40 ng/mL d'IL-4 (Miltenyi Biotec 130-093-921) et 100 ng/mL de GM-CSF (Miltenyi Biotec 170-076-112), à une concentration de 1×10^6 cellules/mL. Les cytokines IL-4 et GM-CSF furent ajoutées de nouveau au jour 3, en employant les mêmes quantités qu'au premier jour. Les MDDC obtenues au jour 5 furent traitées avec la toxine LPS (50 ng/mL) (InvivoGen tlr1-eblps) ou la bactérie EPEC (1×10^6 bactéries/mL) (souche E2348/69) pendant 6 heures, alors que des cellules contrôles furent maintenues dans du milieu RPMI + 10 % FBS. Les surnageants de réaction et les culots de cellules, séparés par centrifugation, furent préservés à - 80 °C.

ELISA

La quantité de cytokine IL-6 exprimée dans le surnageant par les MDDC non-traitées (NT), traitées au LPS et traitées à l'EPEC fut déterminée à partir d'un kit d'ELISA détectant l'IL-6 humaine (R&D Systems, DY206), en employant une dilution 1/40 du surnageant de réaction. Les manipulations furent effectuées selon les recommandations du manufacturier, en employant le kit de réactif de la même compagnie (R&D Systems, DY008).

Extraction de l'ARN et RT-qPCR

L'ARN fut extrait des culots secs de MDDC (kit : Norgen Biotek Corporation Product # 47700) selon le protocole recommandé. L'ADN complémentaire fut généré à l'aide du *SuperScript™ VILO™ cDNA Synthesis Kit*. Des RT-qPCR furent exécutées en employant les *Taqman™ Gene Expression assays* suivant: *ARN ribosomal 18S* (Hs99999901_s1), *IL-6* (Hs00174131_m1), *IL-23A*

(Hs00372324_m1), *IL-1β* (Hs01555410_m1), *IL-12A* (Hs01073447_m1), *IL-12B* (Hs01011518_m1), *TGF-β1* (Hs00998133_m1) et *IL-27* (Hs00377366_m1).

Analyse statistique

L'augmentation de la sécrétion de l'IL-6 protéique dans le surnageant de réaction après l'un des traitements (LPS ou EPEC) fut déterminée à partir du rapport de la concentration rapportée dans les surnageants des cellules traitées par rapport aux cellules non traitées du même individu. Ces *Fold induction* furent comparés, entre les individus CTL et les patients, par Test de t unidirectionnel à l'aide du logiciel *Graphpad Prism* (ver. 8.0.1).

Pour les RT-qPCR, les valeurs de ΔCt furent toujours déterminées en employant l'ARN ribosomal 18S comme gène « ménager ». Les logarithmes en base 2 des *Fold changes* de l'expression des ARNm quantifiés dans les MDDC non traitées furent déterminées à partir de l'équation suivante :

$$\log_2(\text{Fold change}) = \log_2\left(2^{\left(-\frac{\Delta Ct_{DC-\text{non traitée}}}{\text{Moyenne } \Delta Ct_{DC-\text{non traitée des CTL}}}\right)}\right) \quad \text{Équation 1}$$

Ces valeurs furent comparées entre patients et contrôles par Test de t bidirectionnel. Les logarithmes en base 2 des *Fold changes* de l'expression des ARNm quantifiés après l'un des traitements furent déterminés à partir de l'équation suivante, qui compare les valeurs d'expression des MDDC NT et traitées provenant d'un même individu :

$$\log_2(\text{Fold change}) = \log_2\left(2^{\left(-\frac{\Delta Ct_{DC-\text{traitée}}}{\Delta Ct_{DC-\text{non traitée}}}\right)}\right) \quad \text{Équation 2}$$

Les logarithmes en base 2 de ces *Fold change* furent également comparés, entre les individus contrôles et les patients, par Test de t unidirectionnel, choisie car seule une hausse des niveaux d'ARN cytokinique était attendue, ou par ANOVA unidirectionnelle, dans le but de comparer les sous-groupes de contrôles subdivisés en fonction de l'âge, et ce, à l'aide du logiciel *Graphpad Prism* (ver. 8.0.1). Le même logiciel fut employé pour effectuer les régressions linéaires entre deux variables, pour lesquelles les R^2 furent rapportés.

Un cytoscore, correspondant à la somme du score z calculé à partir des logarithmes en base 2 des *Fold change* de chaque cytokine, fut déterminé pour le groupe CTL et les patients, et comparés par Test de T bidirectionnel dans *Graphpad Prism* (ver. 8.0.1).

3. Résultats

Étant donnée la rareté de DC dans la circulation sanguine, particulièrement dans le cas de la MP (205), nous n'avons pas directement isolé ce type de cellule à partir des échantillons sanguins récoltés de patients avec MP ou des CTL de même âge. Nous avons plutôt employé un modèle bien caractérisé de MDDC (205,206), différenciées à partir de la fraction monocytaire du sang périphérique. En effet, les monocytes ont la capacité de se différencier en DC lorsque soumises à des conditions inflammatoires et les MDDC en résultant peuvent être retrouvés dans les organes non-lymphoïdes et dans les population de DC migrantes (207).

Ainsi, des MDDC furent générés, puis exposées à un traitement de 6 heures en présence de LPS ou de bactérie EPEC. Pour chaque individu inclus dans l'étude, une fraction des MDDC fut maintenue dans leur milieu de culture uniquement, nous procurant ainsi avec des taux initiaux d'expression des cytokines d'intérêt. La composition du groupe de patients et de CTL sains est rapportée dans le Tableau 5.

Pour déterminer si les cellules provenant de patients avec MP semblaient avoir une plus forte réponse inflammatoire que les MDDC des individus sains, l'induction de la sécrétion d'IL-6 par le traitement au LPS ou à l'EPEC, mesurée dans les surnageants de réaction, furent quantifiés par ELISA (Fig. 9A,B). Une surexpression de l'IL-6 dans le groupe avec MP fut notée uniquement lors du traitement avec la LPS (Fig. 9A). Ce résultat confirme une tendance des DC provenant d'individus avec la MP de présenter une réponse inflammatoire plus importante, du moins lors de l'activation médiée par TLR4, qui détecte le LPS (208).

L'augmentation de la synthèse protéique secondaire à l'activation des MDDC a été rapportée n'être augmentée significativement qu'après un délai situé entre 6 heures et 14 heures après traitement au LPS (208). Ainsi, nous avons recherché à confirmer si une différence était visible au niveau de l'expression des cytokines au niveau de l'expression l'ARNm, qui s'avère être fortement modifiée après 6 heures d'activation (208).

Tableau 5. – Caractéristiques cliniques des patients avec MP et des CTL de même âge selon l'expérience impliquant leur MDDC

	ELISA		RT-qPCR	
	CTL (n = 7)	MP (n = 6)	CTL (n = 8)	MP (n = 16)
Sexe (M/F) (%)	42,9/57,1	83,3/16,7	57,1/42,9	68,8/31,2
Âge lors du prélèvement sanguin (années)	63,9 ± 6,9	67,5 ± 8,5	66,8 ± 7,4	66,9 ± 8,3
Âge au diagnostic de MP (années)		59,8 ± 8,3		61,3 ± 8,9
Durée de la MP (années)		6,8 ± 4,2		5,2 ± 3,7

MDDC, Cellules dendritiques dérivées de monocytes; CTL, Individus contrôles sains; MP, Maladie de Parkinson; M, Mâle; F, Femelle.

L'augmentation de l'expression de six cytokines après l'activation des MDDC en présence de LPS ou d'EPEC fut mesurée par RT-qPCR (Fig. 10A-F). L'expression des cytokines pro-inflammatoires *IL-1β*, *IL-12A* et *IL-12B* étaient significativement plus élevées dans les MDDC des patients avec MP traités avec l'EPEC (Fig. 10C,D,E), tout comme la cytokine *IL-27* (Fig. 10F), qui peut favoriser ou calmer les réponses immunitaires, selon le contexte immunitaire (209). Les cytokines pro-inflammatoires *IL-6* et *IL-23A* (Fig. 10A,B), quant à elles, étaient exprimées similairement dans les deux groupes.

Le traitement au LPS mena uniquement à la surexpression d'*IL-12A* dans les MDDC des patients (Fig. 10D). Toutefois, l'ensemble des cytokines démontrèrent une tendance à être plus fortement exprimées par les MDDC des patients, tant lors de l'activation par LPS que par l'EPEC. Cette tendance fut confirmée être significative, dans les deux conditions, en employant un calcul

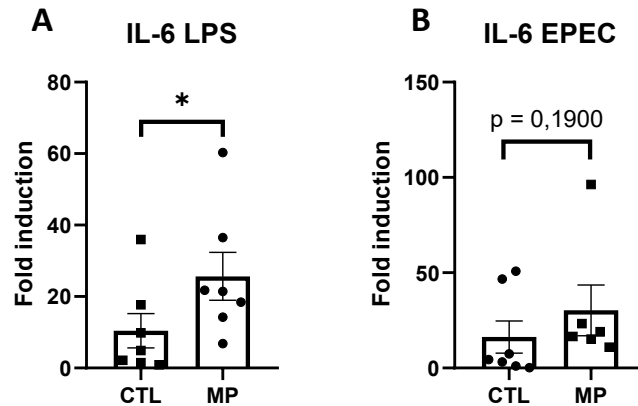


Figure 9. – Les MDDC des patients avec MP sécrètent plus d’IL-6 en réponse à la toxine LPS

La concentration d’IL-6 dans les surnageants des cellules *in vitro* fut déterminée par ELISA. Après 6 heures d’exposition à la toxine LPS, les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC) provenant de patients avec maladie de Parkinson (MP) sécrétaient davantage d’IL-6 que les cellules des individus sains contrôles (CTL) **(A)**. La sécrétion d’IL-6 en réponse au traitement de 6 heures avec la bactérie *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC), quant à elle, était similaire entre les groupes CTL et MP **(B)**. La comparaison entre l’induction de l’expression de l’IL-6 dans les deux groupes fut effectuée par Test de t unidirectionnel. *, $p < 0,05$ L’erreur standard de la moyenne est représentée par des barres d’erreur.

de cytoscore (Figure 11A,B). De plus, l’ensemble de ces effets ne découlaient pas d’une différence au niveau de l’expression de ces gènes au niveau des cellules non traitées (Figure 12A-F), ces effets n’ayant été observables qu’après l’activation des MDDC.

En observant l’impact de l’activation des MDDC sur l’expression de certaines cytokines, soit l’IL-6, l’IL-1 β et l’IL-12A, une tendance fut observée selon laquelle l’âge des individus affectait fortement la réponse, et ce, uniquement dans le groupe avec MP. Ainsi, une distinction fut effectuée entre les individus ayant plus ou moins de 65 ans, afin de mettre en évidence l’effet observé. La composition des individus de ces sous-groupes est rapportée au Tableau 6. Il fut de

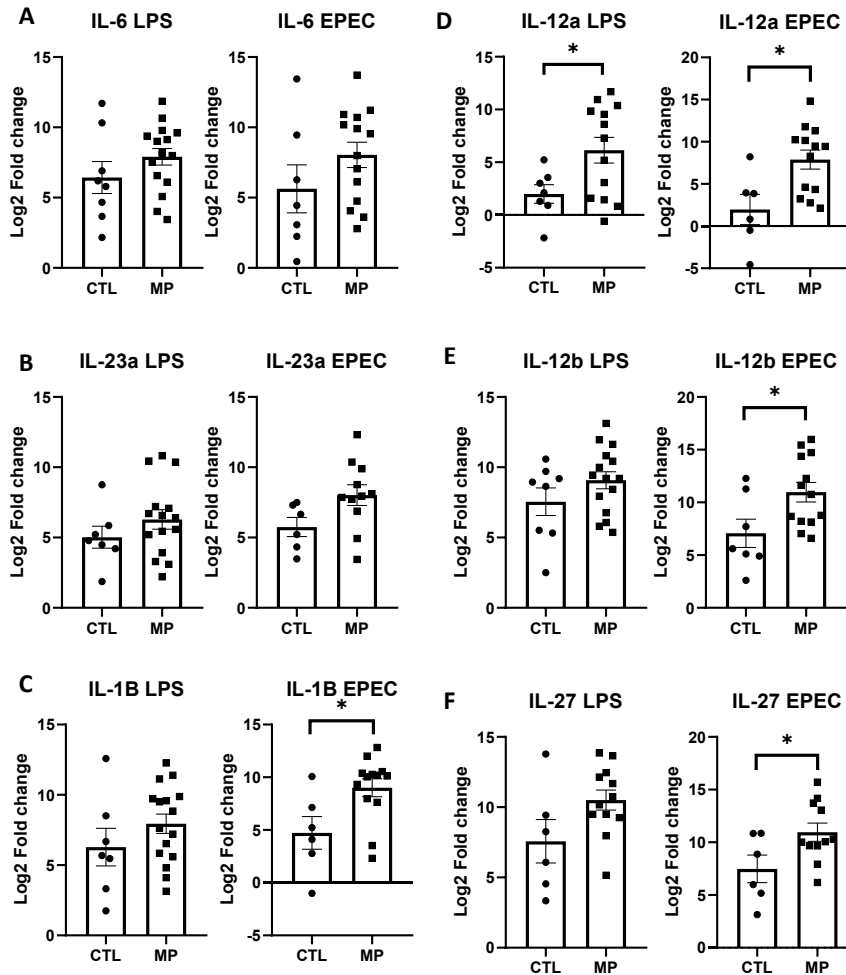


Figure 10. – Les MDDC des patients avec MP expriment davantage certaines cytokines pro-inflammatoires lors de leur activation

Après 6 heures d'exposition à la toxine LPS ou aux bactéries EPEC, les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC) furent récoltées et leur ARN fut extrait, puis analysé par RT-qPCR. L'expression des cytokines IL-6 et IL-23A étaient similaire entre les cellules des patients avec maladie de Parkinson (MP) et les contrôles sains (CTL) (A, B). L'expression de l'IL-1β, de l'IL-12A, de l'IL-12B et de l'IL-27, quant à elle, était plus forte chez les patients lorsque les cellules étaient activées par l'EPEC (D, E, F, G), et une tendance similaire était répliquée lors du traitement au LPS. La comparaison entre l'expression des cytokines dans les deux groupes fut effectuée par Test de t unidirectionnel. *, $p < 0,05$ L'erreur standard de la moyenne est représentée par des barres d'erreur.

plus confirmé que l'impact sur l'expression d'*IL-6* et d'*IL-1β* ne découlait pas principalement de la durée de la maladie (Figure 13A-D), qui elle-même devrait corrélée avec la durée de traitement. Au contraire, la baisse de l'expression d'*IL-12A* corrèle avec la durée de la MP (Fig. 13E-F).

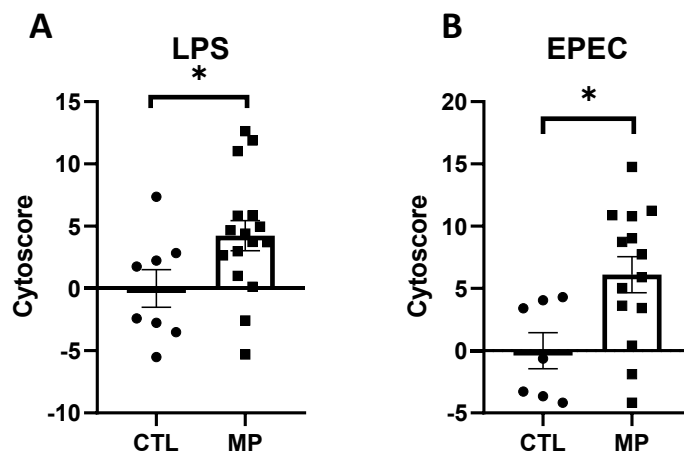


Figure 11. – Les MDDC des patients avec MP expriment globalement davantage de cytokines inflammatoires lors de leur activation que les cellules contrôles

*Après 6 heures d'exposition à la toxine LPS ou aux bactéries EPEC, les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC) furent récoltées et leur ARN fut extrait, puis analysé par RT-qPCR. Le cytoscore représentant l'excès de l'expression de six différentes cytokines, soit IL-6, IL-1β, IL-23, IL-12A, IL-12B et IL-27, fut calculé pour les patients MP et les CTL sains. La comparaison entre les cytoscores des deux groupes fut effectuée par Test de t bidirectionnel. *, $p < 0,05$. L'erreur standard de la moyenne est représentée par des barres d'erreur.*

Analysées ainsi, l'expression d'*IL-6* et d'*IL-1β* est significativement plus importante dans le groupe MP que CTL chez les individus âgés de 65 ans et plus, alors qu'aucune différence n'était observée en deçà de cet âge (Fig. 14A,B). L'expression d'*IL-12A*, elle, est sujette à l'effet inverse, alors qu'elle n'est surexprimée par les MDDC des patients que dans le groupe de moins de 65 ans (Fig. 14C). Le taux d'expression chez les contrôles, eux, ne différait pas entre les groupes pour l'ensemble des cytokines. Ces résultats démontrent que les DC des patients avec le Parkinson

présentent une expression cytokinique distincte et régulée par le vieillissement, tant lors de l'activation par LPS que EPEC.

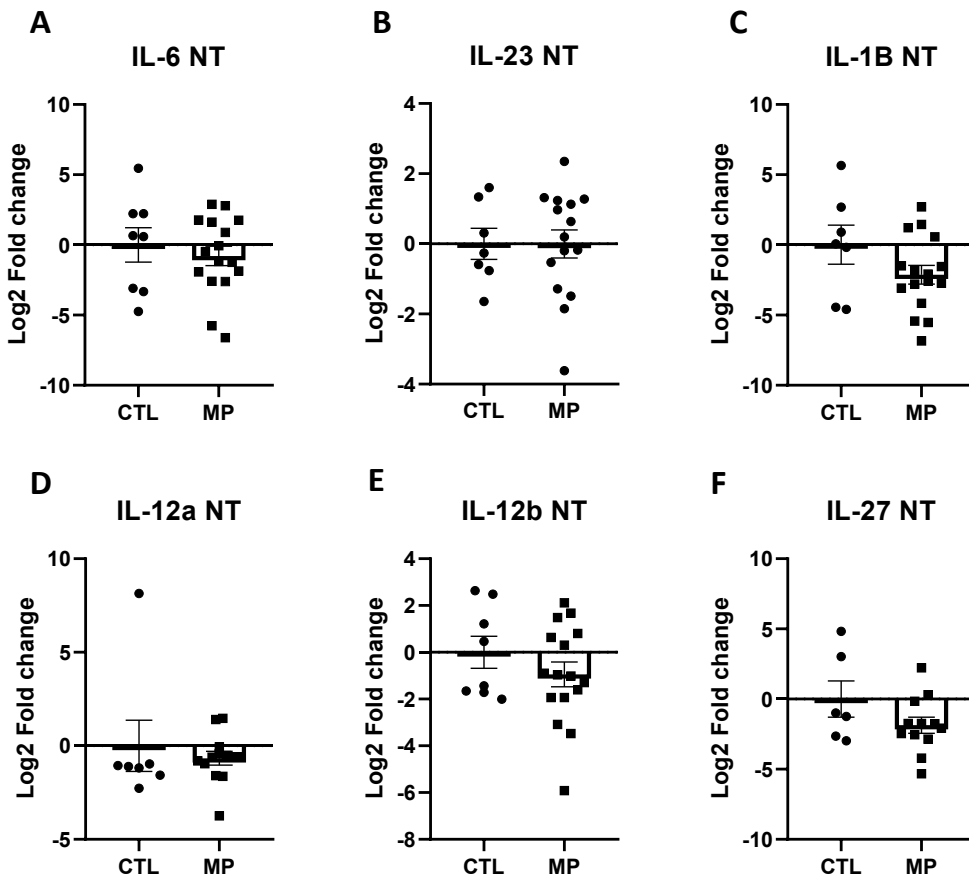


Figure 12. – L'expression des cytokines pro-inflammatoires par les MDDC non traitées ne diffère pas entre les patients avec MP et les contrôles sains

Les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC) furent générées après 5 jours en culture avec de l'IL-4 et du GM-CSF. Leur ARN fut extrait, puis analysé par RT-qPCR. L'expression des cytokines d'intérêt, soit l'IL-6 (A), l'IL-23 (B), l'IL-1B (C), l'IL-12A (D), l'IL-12B (E) et l'IL-27 (F), était similaire entre les cellules des patients avec maladie de Parkinson (MP) et les contrôles sains (CTL). La comparaison entre l'expression des cytokines dans les deux groupes fut effectuée par Test de t bidirectionnel. L'erreur standard de la moyenne est représentée par des barres d'erreur.

Tableau 6. – Caractéristiques cliniques des patients avec MP et des CTL de même âge avec division des groupes à l'âge de 65 ans

	< 65 ans		≥ 65 ans	
	CTL (n = 4)	MP (n = 6)	CTL (n = 4)	MP (n = 10)
Sexe (M/F) (%)	50,0/50,0	83,3/16,7	75,0/25,0	68,8/31,2
Âge lors du prélèvement sanguin (années)	58,8 ± 4,7	58,8 ± 6,4	69,5 ± 2,2	71,7 ± 4,8
Âge au diagnostic de MP (années)		55,0 ± 6,7		65,5 ± 7,7
Durée de la MP (années)		3,8 ± 1,7		6,1 ± 4,5

MDDC, Cellules dendritiques dérivées de monocytes; CTL, Individus contrôles sains; MP, Maladie de Parkinson; M, Mâle; F, Femelle.

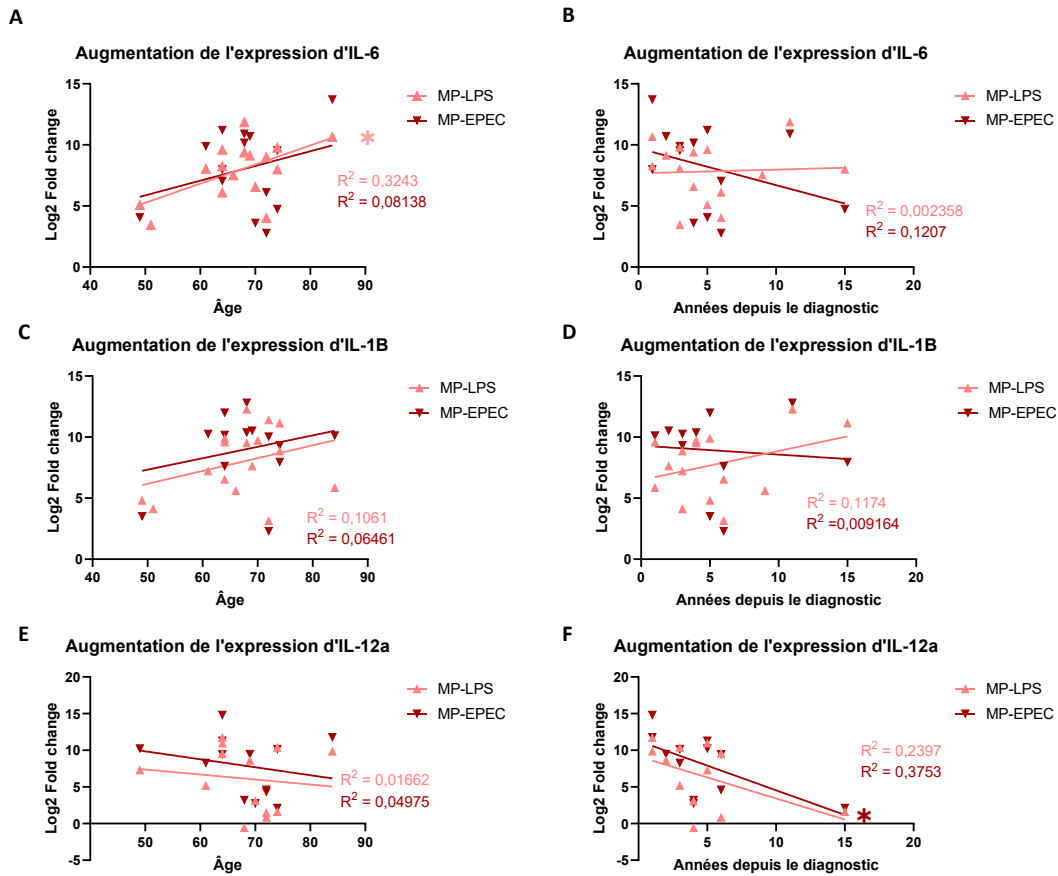


Figure 13. – L'expression de l'IL-6 et de l'IL-1β par les MDDC de patients avec MP semblent affectés par le vieillissement, alors que l'IL-12a diffère avec la durée de la maladie

Les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC) furent traités pendant 6 heures avec du LPS ou de la bactérie EPEC. Leur ARN fut extrait, puis analysé par RT-qPCR. La hausse de l'expression de l'IL-6 et de l'IL-1β lors de l'activation des MDDC était plus importante pour les individus plus âgés (A,C), alors que la durée de la maladie avait peu d'effet (B,D). La sous-expression de l'IL-12A dans les patients plus âgés, elle, semble être secondaire à la durée de la maladie (F), plutôt que le vieillissement (E). Les droites représentent la régression linéaire. Une relation significative fut notée entre l'âge et la hausse de l'expression d'IL-6 en réponse au LPS (A), et entre la baisse de l'expression d'IL-12A lors du traitement par EPEC et la durée de la maladie (F). *, $p < 0,05$.

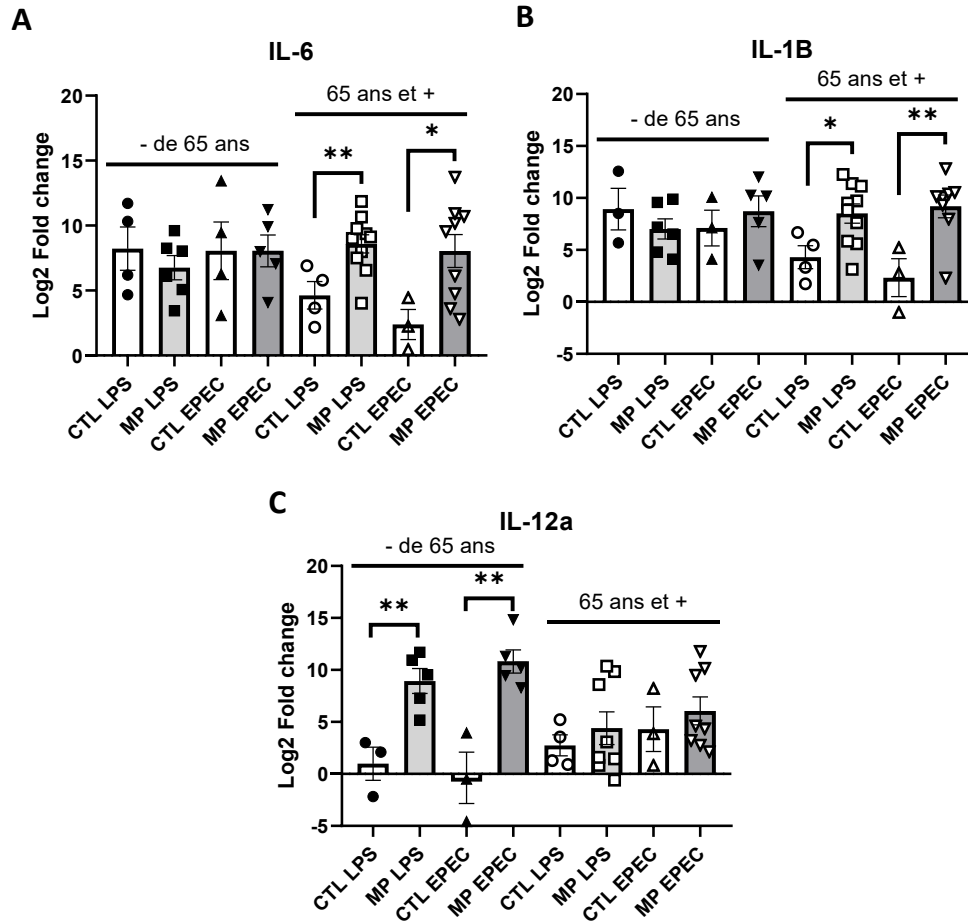


Figure 14. – Impact de l'âge sur l'expression des cytokines par les MDDC de patients avec MP expriment lors de leur activation

Après 6 heures d'exposition à la toxine LPS ou aux bactéries EPEC, les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MDDC) furent récoltées et leur ARN fut extrait, puis analysé par RT-qPCR. L'expression des cytokines IL-6 et IL-1B étaient significativement plus élevée dans les cellules des patients avec maladie de Parkinson (MP) que dans les contrôles sains (CTL) au-delà de l'âge de 65 ans (A, B). Au contraire, l'IL-12A était plus fortement exprimée dans les MDDC des patients qui avaient moins de 65 ans uniquement (C). La comparaison entre l'expression des cytokines dans les deux groupes fut effectuée par Test de t unidirectionnel. Aucune différence significative n'a été observée entre les sous-groupes contrôles pour les trois cytokines lorsque comparés par ANOVA unidirectionnelle *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$. L'erreur standard de la moyenne est représentée par des barres d'erreur.

4. Discussion

La présence d'une inflammation périphérique, mesurable par la hausse des taux sériques de cytokines pro-inflammatoires, est l'une des caractéristiques de la MP. Un modèle de MDDC fut donc employé afin d'étudier la réponse inflammatoire des DC humaines dans le contexte de cette maladie, dans le but de déterminer l'influence de ces cellules sur ce phénotype.

L'activation des MDDC par traitement au LPS ou par l'EPEC nous a permis d'identifier plusieurs cytokines dont la sécrétion ou l'expression était surélevée chez les patients. Tout d'abord, les cytokines *IL-12B* et *IL-27* étaient surexprimées lors de l'activation par l'EPEC, et une tendance similaire, mais non significative, fut observée lorsque le LPS était employé.

Le gène *IL-12B* encode pour la sous-unité protéique IL-12p40, qui entre dans la composition des cytokines IL-12 et IL-23 lorsqu'elle forme un dimère avec l'IL-12p35 (encodée par *IL-12A*) ou l'IL-23p19 (encodée par *IL-23A*) (210,211). En cas d'un déséquilibre dans l'expression de l'*IL-12A* et de l'*IL-12B*, il est également possible que des homodimères d'IL-12p40 se forment et agissent comme un antagoniste de l'IL-12 active (210). L'un des rôles le plus important des cytokines IL-12 et IL-23 dans l'immunité est leur capacité à influencer la polarisation des lymphocytes T CD4+ (212). En effet, ces cytokines peuvent favoriser la polarisation vers les profils Th1 et Th17, respectivement (212). Ces deux profils sont pro-inflammatoires, mais les lymphocytes Th17 ont particulièrement été associés aux maladies auto-immunes, telles que le psoriasis, la maladie de Crohn et la SEP (212). Plusieurs études ont également suggérées qu'un excès de Th17 et de sa principale cytokine exprimée, l'IL-17, se présenteraient dans la MP (78).

Ainsi, l'impact de la surexpression d'*IL-12B* dépendra également des niveaux d'*IL-23A* et d'*IL-12A*. Selon nos données, l'expression d'*IL-23A* par les MDDC ne différait pas entre les groupes avec Parkinson et CTL. L'*IL-12A*, quant à elle, était surexprimée dans les patients plus jeunes, ce qui dépendait du fait qu'ils se situaient en début de maladie. Cette perte de la surexpression de l'*IL-12A* pourrait être associée au traitement de patients, qui commençait typiquement simultanément avec l'année du diagnostic dans notre cohorte. En effet, les agonistes dopaminergiques et la L-dopa, utilisés comme traitement contre les symptômes moteurs de la MP, semblent avoir un impact sur l'inflammation (213). Toutefois, son impact semble

principalement affecter le SNC, car il semble découler d'une hausse de la production de ROS par les neurones (213), ce qui n'irait pas dans le même sens que le résultat trouvé pour l'IL-12. Ainsi, il pourrait plutôt s'agir d'un élément normal de la progression de la MP. Il serait toutefois idéal de pouvoir confirmer cette distinction avec un groupe de patient n'ayant pas été traités durant plusieurs années de leur maladie et, ainsi, voir si le temps affecte ou non de la même façon les niveaux d'IL-12A.

Dans ces débuts, la MP serait associée donc à une forte expression d'IL-12A et d'IL-12B par les MDDC, qui pourrait permettre à la cytokine fonctionnelle de se former et d'induire son activité pro-Th1. Au contraire, plus tard lors du développement de la pathologie, les MDDC ne maintiennent qu'un excès de l'expression de l'IL-12B, favorisant la formation de l'IL-23, qui a une activité pro-Th17, ou de dimères d'IL-12p40, qui sont anti-Th1. Ce profil correspond également à celui rapporté au niveau protéique lors de l'étude du sérum des patients, alors que l'IL-12p40 est surélevée, mais pas l'IL-12p70 (214).

L'IL-27 est une cytokine qui peut promouvoir ou inhiber différents processus inflammatoires (215,216). Elle est un inhibiteur de la polarisation des Th17 (216), bien que son effet puisse être compensé par la présence d'autres cytokines favorisant leur polarisation, comme l'IL-6 (217). Nos résultats démontrent une hausse de l'expression de cette cytokine par les MDDC des patients avec MP, suggérant un effet anti-Th17. Ce résultat semble surprenant, car l'IL-27 a été rapportée être présente en plus faible concentration dans le sérum des individus avec MP que dans les contrôles sains (218). Il est possible que certains des autres types de cellules pouvant exprimer cette cytokine, notamment les monocytes ou les macrophages, présentent un effet compensatoire (219). Sinon, il est également possible que la cytokine IL-27 ne soit tout simplement pas relâchée par les DC, particulièrement parce qu'elle requière la formation d'un dimère avec la sous-unité Ebi3 avant d'être sécrétée (219). Ainsi, il faudrait confirmer quels taux d'IL-27 sont relâchés par nos MDDC pour confirmer ce résultat.

L'IL-6 était globalement sécrétée plus fortement par les MDDC de patients avec MP lors de l'activation avec LPS, alors que l'expression de son ARNm était plus marquée chez les patients d'au moins 65 ans. L'IL-1 β démontra une expression similaire, celle-ci étant plus élevée chez les

patients avec MP les plus âgés. Ces deux cytokines sont fortement pro-inflammatoires et sont toutes les deux bien connues comme étant surreprésentées dans le sérum des patients (37,71,72). Elles favorisent toutes deux la polarisation des lymphocytes T CD4+ vers un profil Th17 (220).

Au cours du vieillissement, il est normal de voir une augmentation de la sécrétion des cytokines IL-6 et IL-1 β par les MDDC associée aux processus de *l'inflammaging* (221). Ce changement est associé à une diminution de l'activation de la voie PI3kinase/Akt, qui inhibe l'effet des récepteurs TLR – qui médient la réponse au LPS – et à la perte de l'expression de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (221). Ainsi, il est possible que l'augmentation de la réponse inflammatoire dans les cas de MP proviennent d'anomalies de ces mêmes voies, qui pourraient être davantage marquées que lors d'un vieillissement normal. Pour tester cette hypothèse, l'étude plus globale de l'ARN transcrit, par exemple par séquençage, pourrait nous permettre de rechercher des modifications présentes uniquement dans les MDDC des patients dans ce type de voies immunitaires.

Une autre étape importante à venir serait de confirmer le profil cytokinique identifié chez les patients à l'échelle protéique. De plus, il faudrait confirmer l'impact attendu sur la polarisation des lymphocytes T, par exemple, en mesurant les taux des cellules de types Th1 et Th17 dans les échantillons de PBMC prélevés.

Les différentes proportions des sous-types de monocytes parfois rapportées dans la MP pourraient également aider à expliquer les modifications au niveau du profil inflammatoire des MDDC. En effet, certaines différences ont été observées quant à l'expression cytokinique des MDDC dérivées des monocytes classiques et non-classiques (207). Toutefois, les résultats actuels rapportent des taux plus importants de monocytes classiques en début de MP (86), ce qui devrait être associée avec une plus faible transcription de l'*IL-12B* (207), soit l'inverse du profil observé chez les MDDC des patients de notre cohorte.

Considérant l'importance du rôle de l'inflammation dans la MP, notamment dans la fragilisation de la BHE (222), et sa corrélation avec la sévérité des symptômes moteurs et cognitifs (223),

l'identification des DC comme source importante de cytokines inflammatoires dans la pathologie pourrait permettre d'identifier des cibles thérapeutiques nouvelles.

Ainsi, nos résultats actuels nous permettent de rapporter un profil d'expression cytokinique pro-inflammatoire distinct chez les MDDC des patients avec MP, qui est influencé par l'âge et la durée de la maladie. Initialement, le profil présenté, riche en IL-12, devrait favoriser la polarisation des Th1. Dans les années qui suivront, toutefois, l'expression importante de l'IL-6 et de l'IL-1 β favoriserait plutôt le profil Th17, lui-même associé à un risque d'activation de processus auto-immuns.

Discussion globale

Dans leur ensemble, les résultats recueillis supportent une implication de processus auto-immuns dans la maladie de Parkinson. En effet, l'analyse de l'expression de gènes encodant pour des cytokines pro-inflammatoires dans les MDDC de patients avec MP révèle un profil pro-Th17 se développant au cours de la maladie. De plus, nous observons la présence de lymphocytes Tc17 auto-réactifs activés par des antigènes mitochondriaux chez les patients, ainsi qu'une sous-expression, dans des CPA activées, de deux gènes inhibant la MitAP, soit *PINK1* et *PRKN*.

De plus, les données récoltées tendent à soutenir un rôle majeur de la régulation mitochondriale dans ces processus immunitaires anormaux. Le fait que la baisse de l'expression de *PINK1* et *PRKN* soit exacerbée lors de l'activation des MDDC, alors que leur production de cytokines pro-inflammatoires est également augmentée, soulève la possibilité que les deux processus soient directement associés par une voie commune. La régulation du dommage mitochondrial pourrait être le mécanisme associant ces deux phénomènes.

En effet, en absence des protéines PINK1 ou Parkine, le processus de la mitophagie est inhibé, même sous l'effet d'un stress mitochondrial (112,224). Dans ce contexte, les ROS produits au site de la mitochondrie mènent à la formation de MDV (111) pouvant activer la MitAP (112). La baisse de l'expression de PINK1 est associée avec une dysfonction mitochondriale et une plus grande accumulation de ROS dans plusieurs modèles cellulaires (224,225). Ce stress oxydatif favorise en lui-même le maintien de la réponse inflammatoire, en contribuant à l'activation de la voie NF- κ B et de l'inflammasome, ainsi qu'à la sécrétion de cytokines (155). Les ROS sont également associés à l'activation et la hausse de l'activité de certaines CPA, particulièrement des macrophages (155), alors que la voie NF- κ B semble être à l'origine de la baisse de l'expression de *PRKN* lors de la réponse inflammatoire (167). Les défauts de la voie PINK1/Parkine pourrait donc enclencher un cercle vicieux de stress mitochondrial et d'inflammation. Les mécanismes régulant *PINK1* et *PRKN*, et donc la MitAP, pourrait donc indirectement contribuer à l'état inflammatoire excessif vu dans les CPA des patients avec MP. De plus, il a récemment été démontré que l'activité kinase de PINK1 joue un important rôle dans le métabolisme des DC, plus particulièrement au niveau de

l'oxydation des acides gras, et affecte leur réponse immunitaire (226). Ceci représente une autre voie par laquelle la régulation de *PINK1* pourrait modifier la réponse inflammatoire.

De plus, dans les DC, le maintien d'une activité inflammatoire est associé à une perte de la tolérance aux auto-antigènes (221). En effet, en temps normal, les DC sont exposés à une variété d'auto-antigènes, rendus accessibles suite aux dommages tissulaires et cellulaires (221). Même si ces antigènes sont phagocytés par les DC, ils ne devraient pas être associés à des facteurs d'activation, favorisant également une tolérance par les lymphocytes T (221). Au contraire, si les DC se situent déjà dans un état activé, ces auto-antigènes pourront mener à une réponse immunitaire par les cellules T (221). Ce phénomène est entre autres favorisés au cours du vieillissement, alors que l'expression de cytokines pro-inflammatoires par les DC tend à augmenter (221).

Ainsi, l'inflammation périphérique médiée par les DC, dans la MP, pourrait être une cause de sensibilisation aux antigènes mitochondriaux. Le profil d'expression cytokinique mesuré chez les MDDC des patients plus âgés, incluant un excès de l'expression de l'IL-6 et de l'IL-1 β , favorise également la polarisation et les stabilisation des lymphocytes T vers les profils Th17 et Tc17, fréquents dans les maladies auto-immunes et inflammatoires (227).

L'activation spécifiques de lymphocytes T de type Tc17 lors de l'exposition aux antigènes mitochondriaux est d'intérêt considérant la capacité de ce sous-type à former des cellules mémoires IL-17+ pouvant perdurer en périphérie sur de longues périodes (227). Ces cellules, très plastiques, peuvent ensuite être converties en cellules IFN γ + ou Tc2 selon le contexte inflammatoire, ce qui permet de leur conférer une activité cytotoxique ou l'une de sécrétion permettant la défense tissulaire locale, respectivement (227). Des cellules Th17 mémoires ont également été rapportées en périphérie dans plusieurs maladies auto-immunes leur étant associées, telle que la SEP, et s'associent typiquement à une phase active de progression de la maladie (228). Ainsi, la réponse des lymphocytes Tc17, peut-être accompagnée de Th17, lors de l'exposition aux antigènes mitochondriaux démontre l'apprentissage par le système immunitaire des patients avec MP d'une réponse auto-immune spécifique contre cette organelle. La présence

de Tc17 spécifiques à ces antigènes pourrait être confirmée *in vitro*, en employant des marqueurs de proliférations (229).

La présence de lymphocytes Tc17 activés et formant également de l'IFN γ suggèrerait que ces cellules se retrouvent dans un contexte inflammatoire favorisant le gain d'une activité cytotoxique. Il demeure donc important de vérifier si un pareil sous type pourrait être identifié chez les patients avec MP. Si présentes, ces lymphocytes pourraient s'attaquer directement à des cellules présentant des antigènes mitochondriaux sur leur CMH de classe I (227). Or, il est connu que, dans la MP, la perméabilisation de la BHE permet le passage de lymphocytes T CD8+ vers le SNC (65). De plus, l'intrusion de ces cellules vers la SN prend place de manière précoce, avant sa dégénération (65). Comme les neurones sont porteurs du CMH de classe I (127), ces données suggèrent que les Tc17 auto-immuns pourraient, via leur activité cytotoxique, mener directement à la mort neuronale observée dans la MP. Il serait également intéressant de vérifier si un contexte d'inflammation pourrait renforcer la prépondérance des Tc17 IFN γ +, par exemple à l'aide d'un traitement au LPS chez les PBMC exposées aux billes porteuses des antigènes mitochondriaux. Cela nous informerait davantage sur la plasticité de ces Tc17 et leur capacité à développer une activité cytotoxique.

Cette explication s'alignerait parfaitement avec les résultats ayant été observés chez les souris *Pink1*^{-/-}, chez qui l'induction d'un stress mitochondrial récapitule les symptômes moteurs de la MP en initiant la MitAP, menant à l'apparition de cellules T CD8+ anti-mitochondries et à la dégénérescence des ND (166). De façon intéressante, le stress mitochondrial employé avec ce modèle animal pour initier cette chaîne d'évènement était une infection intestinale par une bactérie Gram-négative (166). Cette méthodologie offre une potentielle explication de l'association entre les maladies de l'intestin, qui contribuent au risque de développer la MP (60,135,136), et l'auto-immunité. Elle suggère également que l'évènement initiateur des phénomènes immunitaires périphériques que nous observons puissent prendre la forme d'un évènement inflammatoire localisé aux intestins et initiant un stress mitochondrial en périphérie. La composition du microbiote (230) et l'activation de messages impliqués dans l'axe intestin-cerveau (231) pourraient ensuite contribuer à la vulnérabilité des individus au développement de la MP, car ils influencent la perméabilité de la BHE et la réponse immunitaire (232). Notamment,

l'intensité de la réponse cytokinique en périphérie (230) pourrait initialement déterminer la réactivité des DC et leur tolérance aux auto-antigènes.

Toutefois, pour que les DC effectuent la MitAP, un échec de l'inhibition par PINK1/Parkine doit également prendre place. Cela aurait évidemment lieu dans les cas familiaux de MP secondaire à une mutation de l'un des gènes encodant pour ces protéines. Pour ce qui est des cas sporadiques, nos résultats suggèrent qu'une réduction de l'expression de *PRKN* se produirait naturellement au cours du vieillissement dans les PBMC, qui contiennent certaines CPA. Bien que ce phénomène ne se soit pas avéré spécifique aux individus avec la MP, il offre une explication justifiant le facteur de risque le plus important lors du développement de la MP : le vieillissement (233). Si cette sous-expression de *PRKN* en périphérie contribue effectivement à l'apparition de la MP, cela expliquerait également pourquoi les formes familiales provenant de sa mutation, ou de celle de *PINK1*, se présente à un plus jeune âge (224). Bien que nous n'en avons pas observé l'expression dans le SNC, il est aussi connu que la protéine Parkine devient en grande partie insoluble, et donc inactive, dans le cerveau et la SN après l'âge de 40 ans (234,235). La perte de solubilité de Parkine semble alors découler de son exposition au stress oxydatif (234). Ces deux informations supportent l'idée que la perte de fonction de Parkine soit présente au cours du vieillissement, et puisse contribuer au développement de la MP.

Une autre contribution du vieillissement dans la MP relève des anomalies rapportées en lien avec l'immunosénescence, soit le phénomène par lequel le système nerveux accumule des dysrégulations au cours du vieillissement (236). Au niveau des lymphocytes T, les changements associés à l'âge mènent typiquement à la réduction des cellules naïves, particulièrement de type CD8+, diminuant ainsi la capacité du système immunitaire à réagir à de nouveaux antigènes via l'immunité acquise (236). Ceci est associé au déclin de la réponse immunitaire contre les tumeurs et les infections au fil du vieillissement (236). Toutefois, les patients avec MP ont une moindre sénescence réplivative que les individus contrôles, et ce, spécifiquement au niveau des lymphocytes T CD8+ (236). Ce résultat indique que ces individus pourraient être à plus grand risque d'une reconnaissance de nouveaux antigènes au cours du vieillissement, y compris d'auto-antigènes. Cette information pourrait expliquer que les cellules T auto-réactives que nous avons identifiées étaient également de type CD8+.

En périphérie, l'inhibition de *PRKN* au cours du vieillissement n'a pour l'instant pas été confirmé au niveau des MDDC, ce qui représente une donnée à confirmer. Toutefois, dans ces cellules, l'activation de la réponse inflammatoire menait à une sous-expression de *PINK1* et *PRKN* dans les cellules des patients avec MP, démontrant que, chez ceux-ci, certaines infections permettraient de retrouver les conditions requises à l'initiation de la MitAP (112). Pour confirmer que ce phénomène est bel et bien activé dans ce contexte, il nous resterait toutefois à observer si des MDV se forment au sein des MDDC des patients, avec et sans la stimulation par LPS ou EPEC. Pour ce faire, nous pourrions employer la microscopie confocale. En effet, les MDV ont précédemment pu être repérées en marquant certains composants des membranes mitochondriales internes et externes, et en mesurant la baisse de leur colocalisation (237), un protocole qui pourrait être adapté pour être employé dans les MDDC. L'identification de MDV dans les MDDC des patients avec MP renforcerait l'implication des DC dans la génération et l'activation des lymphocytes T auto-réactifs. Ces structures pourraient également être recherchées dans d'autres maladies associées à une réponse auto-immune anti-mitochondries, notamment dans la CBP (162). Ensuite, une expérience de co-culture pourrait permettre de confirmer que les MDDC activées, et qui génèrent des MDV, effectuent la MitAP si elles parviennent à entraîner l'activation des lymphocytes T provenant du même patient.

Les mitochondries représentent une source importante de DAMP avec un important potentiel immunogène. En effet, de par leur similarité avec les bactéries, dont elles ont l'origine selon la théorie de l'endosymbiose, les mitochondries peuvent être reconnues par une grande variété de récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (238). L'ADNmt, lui-même, peut avoir une forte activité pro-inflammatoire via l'activation de la voie NF- κ B (238). Dans les modèles murins *PRKN*^{-/-} ; *mutator*, qui accumulent des mutations dans le génome mitochondrial, l'ADNmt pouvait induire un stress suffisant par la voie cGAS/STING pour induire la perte des neurones dopaminergiques (165). Ainsi, on peut supposer que l'activité des antigènes mitochondriaux dans la MP peut provenir d'un ensemble de processus impliquant l'immunité innée et acquise.

Chez les souris *Pink1*^{-/-}, l'atteinte aux ND de la SN menant à l'apparition des problèmes moteurs était spécifique à cette population neuronale, répliquant ainsi le phénotype observé dans la MP (166). Si leur dégénérescence est bel et bien secondaire à la présentation d'antigènes

mitochondriaux sur leur CMH, cela signifierait que ceux-ci sont générés préférentiellement chez ces ND. La présence du CMH de classe I n'est en effet pas spécifique à cette population neuronale (239). On peut suggérer que cette spécificité est secondaire à l'important stress mitochondrial auquel sont soumis les ND de la SN, due à leur importante demande énergétique associée à leur taille et leur activité *pacemaker* (21). Ainsi, ces neurones seraient plus à risques de former des MDV pour réguler leurs mitochondries endommagées. De plus, dans un modèle *in vivo* de la MP, le stress mitochondrial généré par traitement au MPTP a été démontré mener à la surexpression du CMH de classe I par les ND de la SN, une hausse de l'infiltration des T CD8+ dans le SNC et une plus grande neuro-dégénération (195). De plus, les lymphocytes T des patients avec MP sont capables d'induire la mort neuronales de neurones dérivées d'iPSC provenant de patients de façon plus importantes que dans les neurones contrôles, bien que cette activité semble médiée par l'activité des Th17 (67).

De plus, la composition des MDV dans les neurones des souris *Pink1*^{-/-} et *Prkn*^{-/-} a pour l'instant été étudiée en protéomique, mais portait peu de différence avec celle des souris de type sauvage (240). Toutefois, comme le stress mitochondrial est requis pour induire des symptômes de type parkinsonien dans ces modèles (165,166), il serait intéressant de l'induire pour identifier les antigènes mitochondriaux ayant le plus de chances d'être impliqués dans la pathogénèse de la MP.

Le passage des lymphocytes T CD8+ vers le cerveau tend à être effectué préférentiellement par des cellules activées, au site auquel leur antigène est localisé (241). Ce phénomène est secondaire à la présentation de l'antigène sur les CMH de classe I de l'endothélium cérébral (241). Ainsi, l'induction de la MitAP chez les neurones – même de façon transitoire – pourrait permettre l'intrusion du SNC par les lymphocytes T CD8+ et initier une phase d'attaque.

L'emploi des billes porteuses de l'OGDH et de PDH nous a permis d'identifier deux protéines mitochondriales spécifiques capables d'induire une réponse Tc17 chez certains des patients. Toutefois, la fraction des patients ayant répondu au mélange total de protéines mitochondriales était bien plus grande que celle répondant à ces antigènes spécifiques. Il est donc possible qu'il reste d'autres auto-antigènes à identifier. Les protéines OGDH et PDH ont en communs leur

implication dans la CTE de la mitochondrie, leur localisation à risque pour l'exposition au ROS et le fait qu'elles aient précédemment été repérées dans des MDV (166,181–183). Ces critères pourraient de nouveau être employés pour identifier d'autres potentiels auto-antigènes dans la MP. Toutefois, il n'est pas entièrement possible d'exclure qu'un contaminant présent dans le mélange de protéines mitochondriales soit responsable de cette activation.

Il serait également essentiel de caractériser davantage la population de lymphocytes Tc17 auto-réactifs présents dans la circulation des individus souffrant de MP. En effet, l'étude de leur profil d'expression, tant au niveau de l'ARN que protéique, pourrait nous informer davantage sur leur implication dans la pathologie. Cela permettrait, tout d'abord, de confirmer les niveaux de cellules IFN γ +. Les taux d'expression d'autres protéines associées à la capacité cytotoxiques pourrait être investigués, par exemple ceux des granzymes et des perforines (229), et ce, dans des contexte de repos et d'inflammations. Ensuite, comme la polarisation et l'induction de l'activité cytotoxiques des lymphocytes T CD8+ est grandement dépendante d'une hausse spécifique de leur activité métabolique (242), nous pourrions tenter d'étudier l'impact de sa modulation. L'effet du diméthyle fumarate, un inhibiteur de l'expression de l'IL-17 diminuant l'activité des Tc17 dans les modèles de SEP (243), pourrait être employé comme modulateur potentiel de la réponse de ces cellules. Enfin, certains marqueurs associés à la capacité de passer la BHE vers le cerveau pourraient être recherchés chez ces cellules, tel que CD69 et CD103 (244,245).

Il serait également important d'éclaircir la relation entre les caractéristiques cliniques des patients et la présentation des signes d'anomalies affectant l'inflammation et l'immunité. En effet, les résultats rapportés illustrent une importante relation entre l'âge et la sécrétion de cytokines par les MDDC. Similairement, la présence de certaines populations de cellules immunitaires, en périphérie, semble être affectée au cours du temps, chez les individus avec MP (85,91,190). L'emploi d'une plus grande cohorte de patients pourrait aider à confirmer la distinction entre les effets liés à l'âge et ceux qui découlent plutôt de la progression de la maladie. Par exemple, s'il est vrai qu'une baisse transitoire de la proportion de monocytes classiques à lieu en début de MP (85,91), cela pourrait également expliquer certaines des différences dans l'expression cytokinique des MDDC qui en découlent. Ainsi, il serait aussi possible d'isoler certains sous-types de monocytes (notamment les classiques et non-classiques) avant d'effectuer leur

division en MDDC pour voir si l'une des populations semblent principalement responsable des changements observés dans l'expression des cytokines.

De manière plus générale, il sera pertinent de vérifier la relation entre les changements d'expression cytokinique par les MDDC et les taux circulants de ces molécules. En effet, basé sur nos résultats, il serait possible de croire que les taux circulants d'IL-12 pourraient être plus élevés en début de MP. Ensuite, il serait possible de penser que la sur-représentation des cytokines IL-6 et l'IL-1 β dans la maladie puissent empirer au cours du vieillissement, bien que la distinction des effets liés à la MP et à l'*inflammaging* typique puisse alors être plus complexe. De plus, il faudrait être à l'affût d'un impact de ces cytokines sur les processus immunitaires pathologiques étudiés, notamment sur la polarisation des lymphocytes T. L'investigation de ces processus pourrait permettre d'éclaircir la relation séquentielle entre les différentes anomalies du système immunitaire rapportées dans la MP, et aider à clarifier les mécanismes en cause.

Ensuite, la relation entre divers phénomènes cliniques et les variables étudiées dans le cadre de ce projet pourrait être approfondie. Par exemple, si les lymphocytes Tc17 anti-mitochondriaux sont bel et bien associés avec une attaque auto-immune des ND, on pourrait supposer que leur taux puisse corrélérer avec la sévérité des symptômes, ou encore avec la vitesse de leur progression. De plus, il est possible que l'implication immunitaire puisse varier selon les sous-types de MP. Ainsi, une comparaison avec des cohortes affectées par certaines formes familiales de MP pourrait permettre de vérifier si les phénomènes observés semblent communs à l'ensemble des patients. Comme de nombreuses mutations associées à la MP affecte l'inflammation et l'immunité (246), il serait important d'effectuer cette vérification. Par exemple, il serait intéressant de confirmer si la présence des Tc17 auto-immuns est identifiable chez des individus ayant des mutations pathologiques de *PINK1* ou *PRKN*, chez lesquels les anomalies de la MitAP sont les plus probables. Une distinction pourrait également être effectuée entre les patients qui développeront certains symptômes, tels que les atteintes cognitives, qui sont associés avec une plus grande anomalie de l'activité monocytaire (88). Similairement, il serait possible que certaines distinctions dans le profil inflammatoire et l'activité immunitaire soit identifiable entre les patients affectés de façon plus marquée par des symptômes de tremblements ou de rigidité, correspondant respectivement aux formes tremblante et akinéto-rigide (247). En effet, certains

marqueurs de l'inflammation, tel que la hausse des taux circulants d'IL-6 et d'IL-4, semblent davantage affectés dans la forme tremblante (248,249), alors que les taux d'IFN γ semblent abaissés dans les cas de tremblement sévères (249), ce qui pourrait être associé à une différence dans la polarisation, l'activité ou le nombre des lymphocytes T. Il est également intéressant de noter que des cas de MP de type tremblant à progression lente semble particulièrement associés avec une étiologie fortement génétique, suggérant un lien entre ce sous-type et une implication avec les voies fréquemment affectées dans les formes héréditaires (250).

Globalement, les résultats présentés dans ce travail supportent l'hypothèse d'une implication de l'auto-immunité dans le développement de la MP. Nos résultats offrent donc de nouvelles données permettant de mieux comprendre l'étiologie complexe de cette pathologie. L'identification d'une contribution des MDDC à l'inflammation périphérique et la découverte de lymphocytes T auto-réactifs spécifiques à la mitochondrie chez les patients pourraient permettre l'investigation de nouvelles avenues thérapeutiques. À plus court terme, la présence de Tc17 anti-mitochondries dans la circulation sanguine semble être un phénomène assez spécifique aux patients étudiés, et ces cellules pourraient s'avérer être un biomarqueur de la MP. Il sera toutefois nécessaire d'évaluer si ces cellules sont présentes avant ou dès les débuts de l'apparition des symptômes. L'investigation d'une cohorte à haut risque de développer la MP, telle qu'une l'une de patients avec TCSP (251), pourrait être employée pour évaluer le moment où cette population cellulaire fait son apparition.

Conclusion

Le présent travail avait pour but d'examiner le rôle de l'auto-immunité, particulièrement celle médiée par la mitochondrie, dans le contexte de la MP. Notre première hypothèse était que l'inflammation périphérique dans la MP induirait une baisse de l'expression de *PRKN* dans les CPA. Nos résultats ont démontré qu'une pareille baisse de l'expression de l'ARN encodant pour ce gène était non seulement présente dans les PBMC des patients, mais également dans l'ensemble de la population âgée. Toutefois, une baisse supplémentaire de son expression, ainsi que de celle de *PINK1*, encodant pour protéine interagissant avec Parkine, fut documentée dans les MDDC lors de leur activation. Ainsi, nos résultats confirment que l'expression de *PRKN* et de *PINK1* est moindre dans les CPA de patients avec MP que dans les individus en santé, confirmant leur probable vulnérabilité à l'induction du phénomène de la MitAP.

Par la suite, il était attendu que cette vulnérabilité mènerait à l'apparition de lymphocytes T spécifique aux antigènes mitochondriaux dans le sang des patients. Tel qu'attendu, nous sommes parvenus à identifier une population de lymphocytes T auto-réactifs activés par la présentation d'antigènes dérivés de la mitochondrie. Ces cellules se sont avérées appartenir spécifiquement au sous-type Tc17, caractérisé par l'expression de l'IL-17 et par son implication dans les maladies auto-immunes (184).

Enfin, nous nous attendions à pouvoir identifier une population de CPA présentant un profil pro-Th17 et spécifique aux patients avec MP. L'étude de l'expression cytokinique des MDDC traitées au LPS ou à l'EPEC nous a permis d'identifier cette population cellulaire comme étant probablement impliquée dans la polarisation de ce sous-type cellulaire. En effet, les MDDC des patients âgés de 65 ans et plus présentaient une hausse de l'expression de l'*IL-6* et l'*IL-1 β* , ce qui correspond au profil pro-Th17 attendu (252). Au contraire, chez les patients plus jeunes, le profil d'expression, riche en IL-12, ressemblait davantage à un profil pro-Th1 (212), allant à l'encontre de l'hypothèse initiale.

Dans leur ensemble, ces résultats renforcent l'idée d'une implication de phénomènes auto-immuns dans le développement de la MP. Plus particulièrement, les données rapportées

suggèrent que l'inflammation et la dérégulation de la voie d'inhibition des MDV par PINK1/Parkine en périphérie permettent au CPA en périphérie d'effectuer la MitAP. Cela mènerait à la génération de lymphocytes Tc17 anti-mitochondries qui, eux-mêmes, sont à risques de médiées directement une attaque contre les ND, et peut-être de déclencher l'apparition de la MP.

Références bibliographiques

1. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TDL. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 2014;29(13):1583-90.
2. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *Eur J Neurol*. 2020;27(1):27-42.
3. Public Health Agency of Canada, National Population Health Study of Neurological Conditions (Canada). Mapping connections: an understanding of neurological conditions in Canada. [Internet]. 2014 [cité 22 nov 2019]. Disponible à: <https://central.bac-lac.gc.ca/.item?id=HP35-45-2014-eng&op=pdf&app=Library>
4. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *The Lancet*. 29 août 2015;386(9996):896-912.
5. Kline EM, Houser MC, Herrick MK, Seibler P, Klein C, West A, et al. Genetic and Environmental Factors in Parkinson's Disease Converge on Immune Function and Inflammation. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. janv 2021;36(1):25-36.
6. Ge P, Dawson VL, Dawson TM. PINK1 and Parkin mitochondrial quality control: a source of regional vulnerability in Parkinson's disease. *Mol Neurodegener*. 13 mars 2020;15(1):20.
7. Bologna M, Paparella G, Fasano A, Hallett M, Berardelli A. Evolving concepts on bradykinesia. *Brain*. 1 mars 2020;143(3):727-50.
8. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *The Lancet*. 12 juin 2021;397(10291):2284-303.
9. Heim B, Krismer F, Seppi K. Differentiating PSP from MSA using MR planimetric measurements: a systematic review and meta-analysis. *J Neural Transm Vienna Austria* 1996. 8 juin 2021;
10. McKay JH, Cheshire WP. First symptoms in multiple system atrophy. *Clin Auton Res*. 1 avr 2018;28(2):215-21.

11. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA*. 23 avr 2014;311(16):1670-83.
12. Dijk JM, Espay AJ, Katzenschlager R, de Bie RMA. The Choice Between Advanced Therapies for Parkinson's Disease Patients: Why, What, and When? *J Park Dis*. 1 janv 2020;10(s1):S65-73.
13. Berg D, Borghammer P, Fereshtehnejad S-M, Heinzl S, Horsager J, Schaeffer E, et al. Prodromal Parkinson disease subtypes - key to understanding heterogeneity. *Nat Rev Neurol*. juin 2021;17(6):349-61.
14. Meissner WG. When does Parkinson's disease begin? From prodromal disease to motor signs. *Rev Neurol (Paris)*. 1 nov 2012;168(11):809-14.
15. Rees RN, Noyce AJ, Schrag A. The prodromes of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*. 2019;49(3):320-7.
16. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci*. juill 2017;18(7):435-50.
17. Simuni T, Caspell-Garcia C, Coffey CS, Weintraub D, Mollenhauer B, Lasch S, et al. Baseline prevalence and longitudinal evolution of non-motor symptoms in early Parkinson's disease: the PPMI cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1 janv 2018;89(1):78-88.
18. Wang J, Zhang J-R, Zang Y-F, Wu T. Consistent decreased activity in the putamen in Parkinson's disease: a meta-analysis and an independent validation of resting-state fMRI. *GigaScience* [Internet]. 1 juin 2018 [cité 12 août 2021];7(6). Disponible à: <https://doi.org/10.1093/gigascience/giy071>
19. Alexander GE. Biology of Parkinson's disease: pathogenesis and pathophysiology of a multisystem neurodegenerative disorder. *Dialogues Clin Neurosci*. sept 2004;6(3):259-80.
20. Barzilai A, Melamed E. Molecular mechanisms of selective dopaminergic neuronal death in Parkinson's disease. *Trends Mol Med*. 1 mars 2003;9(3):126-32.

21. Giguère N, Burke Nanni S, Trudeau L-E. On Cell Loss and Selective Vulnerability of Neuronal Populations in Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2018;9:455.
22. Qi J, Li B-Z, Zhang Y, Pan B, Gao Y-H, Zhan H, et al. Altered functional connectivity between the nucleus basalis of Meynert and anterior cingulate cortex is associated with declined attentional performance after total sleep deprivation. *Behav Brain Res.* 9 juill 2021;409:113321.
23. Jenkinson N, Nandi D, Muthusamy K, Ray NJ, Gregory R, Stein JF, et al. Anatomy, physiology, and pathophysiology of the pedunculo-pontine nucleus. *Mov Disord.* 2009;24(3):319-28.
24. Liu AKL, Chang RC-C, Pearce RKB, Gentleman SM. Nucleus basalis of Meynert revisited: anatomy, history and differential involvement in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol (Berl).* 2015;129(4):527-40.
25. Morales M, Margolis EB. Ventral tegmental area: cellular heterogeneity, connectivity and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* févr 2017;18(2):73-85.
26. Mahul-Mellier A-L, Burtscher J, Maharjan N, Weerens L, Croisier M, Kuttler F, et al. The process of Lewy body formation, rather than simply α -synuclein fibrillization, is one of the major drivers of neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci.* 3 mars 2020;117(9):4971-82.
27. Logan T, Bendor J, Toupin C, Thorn K, Edwards RH. α -Synuclein promotes dilation of the exocytotic fusion pore. *Nat Neurosci.* mai 2017;20(5):681-9.
28. Butler B, Saha K, Rana T, Becker JP, Sambo D, Davari P, et al. Dopamine Transporter Activity Is Modulated by α -Synuclein. *J Biol Chem.* 4 déc 2015;290(49):29542-54.
29. Vascellari S, Manzin A. Parkinson's Disease: A Prionopathy? *Int J Mol Sci.* janv 2021;22(15):8022.
30. Araki K, Yagi N, Aoyama K, Choong C-J, Hayakawa H, Fujimura H, et al. Parkinson's disease is a type of amyloidosis featuring accumulation of amyloid fibrils of α -synuclein. *Proc Natl Acad Sci.* 3 sept 2019;116(36):17963-9.

31. Horsager J, Andersen KB, Knudsen K, Skjærbæk C, Fedorova TD, Okkels N, et al. Brain-first versus body-first Parkinson's disease: a multimodal imaging case-control study. *Brain*. 1 oct 2020;143(10):3077-88.
32. Hardenberg MC, Sinnige T, Casford S, Dada ST, Poudel C, Robinson EA, et al. Observation of an α -synuclein liquid droplet state and its maturation into Lewy body-like assemblies. *J Mol Cell Biol*. 1 avr 2021;13(4):282-94.
33. Coughlin DG, Hurtig HI, Irwin DJ. Pathological Influences on Clinical Heterogeneity in Lewy Body Diseases. *Mov Disord*. 2020;35(1):5-19.
34. Engelen S. Ubiquitination of α -synuclein and autophagy in Parkinson's disease. *Autophagy*. 1 avr 2008;4(3):372-4.
35. Dagher A, Zeighami Y. Testing the Protein Propagation Hypothesis of Parkinson Disease. *J Exp Neurosci*. 1 janv 2018;12:1179069518786715.
36. Klingelhoefer L, Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease—the gut–brain axis and environmental factors. *Nat Rev Neurol*. nov 2015;11(11):625-36.
37. Marogianni C, Sokratous M, Dardiotis E, Hadjigeorgiou GM, Bogdanos D, Xiromerisiou G. Neurodegeneration and Inflammation—An Interesting Interplay in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci*. janv 2020;21(22):8421.
38. Subramaniam SR, Federoff HJ. Targeting Microglial Activation States as a Therapeutic Avenue in Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:176.
39. McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*. 1988;38(8):1285-91.
40. Hendrickx DAE, van Eden CG, Schuurman KG, Hamann J, Huitinga I. Staining of HLA-DR, Iba1 and CD68 in human microglia reveals partially overlapping expression depending on cellular morphology and pathology. *J Neuroimmunol*. 15 août 2017;309:12-22.

41. Ho MS. Microglia in Parkinson's Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1175:335-53.
42. Tanaka S, Ishii A, Ohtaki H, Shioda S, Yoshida T, Numazawa S. Activation of microglia induces symptoms of Parkinson's disease in wild-type, but not in IL-1 knockout mice. *J Neuroinflammation.* 1 déc 2013;10(1):907.
43. Rydbirk R, Elfving B, Andersen MD, Langbøl MA, Folke J, Winge K, et al. Cytokine profiling in the prefrontal cortex of Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy patients. *Neurobiol Dis.* 1 oct 2017;106:269-78.
44. Yan Y-Q, Fang Y, Zheng R, Pu J-L, Zhang B-R. NLRP3 Inflammasomes in Parkinson's disease and their Regulation by Parkin. *Neuroscience.* 15 oct 2020;446:323-34.
45. Choo SY. The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. *Yonsei Med J.* 28 févr 2007;48(1):11-23.
46. Lampe JB, Gossrau G, Herting B, Kempe A, Sommer U, Füssel M, et al. HLA typing and Parkinson's disease. *Eur Neurol.* 2003;50(2):64-8.
47. Hamza TH, Zabetian CP, Tenesa A, Laederach A, Montimurro J, Yearout D, et al. Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet.* sept 2010;42(9):781-5.
48. Simón-Sánchez J, van Hilten JJ, van de Warrenburg B, Post B, Berendse HW, Arepalli S, et al. Genome-wide association study confirms extant PD risk loci among the Dutch. *Eur J Hum Genet.* juin 2011;19(6):655-61.
49. Emile J, Truelle JL, Pouplard A, Hurez D. [Association of Parkinson's disease with HLA-B17 and B18 antigens]. *Nouv Presse Med.* 24 déc 1977;6(44):4144.
50. Elizan TS, Terasaki PI, Yahr MD. HLA-B14 Antigen and Postencephalitic Parkinson's Disease: Their Association in an American-Jewish Ethnic Group. *Arch Neurol.* 1 sept 1980;37(9):542-4.

51. Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R. The Role of Astrocyte Dysfunction in Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci.* juin 2017;40(6):358-70.
52. Sathe K, Maetzler W, Lang JD, Mounsey RB, Fleckenstein C, Martin HL, et al. S100B is increased in Parkinson's disease and ablation protects against MPTP-induced toxicity through the RAGE and TNF- α pathway. *Brain.* 1 nov 2012;135(11):3336-47.
53. Bryois J, Skene NG, Hansen TF, Kogelman LJA, Watson HJ, Liu Z, et al. Genetic identification of cell types underlying brain complex traits yields insights into the etiology of Parkinson's disease. *Nat Genet.* mai 2020;52(5):482-93.
54. Grünewald A, Kumar KR, Sue CM. New insights into the complex role of mitochondria in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 1 juin 2019;177:73-93.
55. Loeffler DA, Camp DM, Conant SB. Complement activation in the Parkinson's disease substantia nigra: an immunocytochemical study. *J Neuroinflammation.* 19 oct 2006;3:29.
56. Pachter JS, de Vries HE, Fabry Z. The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol.* juin 2003;62(6):593-604.
57. Kortekaas R, Leenders KL, van Oostrom JCH, Vaalburg W, Bart J, Willemsen ATM, et al. Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo. *Ann Neurol.* févr 2005;57(2):176-9.
58. Gray MT, Woulfe JM. Striatal blood-brain barrier permeability in Parkinson's disease. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* mai 2015;35(5):747-50.
59. Al-Bachari S, Naish JH, Parker GJM, Emsley HCA, Parkes LM. Blood-Brain Barrier Leakage Is Increased in Parkinson's Disease. *Front Physiol.* 2020;11:1636.
60. Tan E-K, Chao Y-X, West A, Chan L-L, Poewe W, Jankovic J. Parkinson disease and the immune system - associations, mechanisms and therapeutics. *Nat Rev Neurol.* juin 2020;16(6):303-18.

61. Subbarayan MS, Hudson C, Moss LD, Nash KR, Bickford PC. T cell infiltration and upregulation of MHCII in microglia leads to accelerated neuronal loss in an α -synuclein rat model of Parkinson's disease. *J Neuroinflammation*. 15 août 2020;17(1):242.
62. Iba M, Kim C, Sallin M, Kwon S, Verma A, Overk C, et al. Neuroinflammation is associated with infiltration of T cells in Lewy body disease and α -synuclein transgenic models. *J Neuroinflammation*. 17 juill 2020;17(1):214.
63. Seo J, Park J, Kim K, Won J, Yeo H-G, Jin YB, et al. Chronic Infiltration of T Lymphocytes into the Brain in a Non-human Primate Model of Parkinson's Disease. *Neuroscience*. 1 avr 2020;431:73-85.
64. Brochard V, Combadière B, Prigent A, Laouar Y, Perrin A, Beray-Berthat V, et al. Infiltration of CD4⁺ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. *J Clin Invest* [Internet]. 22 déc 2008 [cité 26 août 2021];119(1). Disponible à: <https://www.jci.org/articles/26647>
65. Galiano-Landeira J, Torra A, Vila M, Bové J. CD8 T cell nigral infiltration precedes synucleinopathy in early stages of Parkinson's disease. *Brain J Neurol*. 1 déc 2020;143(12):3717-33.
66. Yasuda K, Takeuchi Y, Hirota K. The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases. *Semin Immunopathol*. mai 2019;41(3):283-97.
67. Sommer A, Marxreiter F, Krach F, Fadler T, Grosch J, Maroni M, et al. Th17 Lymphocytes Induce Neuronal Cell Death in a Human iPSC-Based Model of Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell*. 6 juin 2019;24(6):1006.
68. Zhang X, Shao Z, Xu S, Liu Q, Liu C, Luo Y, et al. Immune Profiling of Parkinson's Disease Revealed Its Association With a Subset of Infiltrating Cells and Signature Genes. *Front Aging Neurosci*. 2021;13:30.

69. Jones MK, Nair A, Gupta M. Mast Cells in Neurodegenerative Disease. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:171.
70. Hurley MJ, Durrenberger PF, Gentleman SM, Walls AF, Dexter DT. Altered Expression of Brain Proteinase-Activated Receptor-2, Trypsin-2 and Serpin Proteinase Inhibitors in Parkinson's Disease. *J Mol Neurosci MN.* sept 2015;57(1):48-62.
71. Dobbs RJ, Charlett A, Purkiss AG, Dobbs SM, Weller C, Peterson DW. Association of circulating TNF-alpha and IL-6 with ageing and parkinsonism. *Acta Neurol Scand.* juill 1999;100(1):34-41.
72. Qin X-Y, Zhang S-P, Cao C, Loh YP, Cheng Y. Aberrations in Peripheral Inflammatory Cytokine Levels in Parkinson Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol.* 1 nov 2016;73(11):1316-24.
73. Deleidi M, Gasser T. The role of inflammation in sporadic and familial Parkinson's disease. *Cell Mol Life Sci.* 1 nov 2013;70(22):4259-73.
74. Calabrese V, Santoro A, Monti D, Crupi R, Di Paola R, Latteri S, et al. Aging and Parkinson's Disease: Inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1 févr 2018;115:80-91.
75. Brodacki B, Staszewski J, Toczyłowska B, Kozłowska E, Drela N, Chalimoniuk M, et al. Serum interleukin (IL-2, IL-10, IL-6, IL-4), TNF α , and INF γ concentrations are elevated in patients with atypical and idiopathic parkinsonism. *Neurosci Lett.* 22 août 2008;441(2):158-62.
76. Reale M, Iarlori C, Thomas A, Gambi D, Perfetti B, Di Nicola M, et al. Peripheral cytokines profile in Parkinson's disease. *Brain Behav Immun.* 1 janv 2009;23(1):55-63.
77. Bas J, Calopa M, Mestre M, Molleví DG, Cutillas B, Ambrosio S, et al. Lymphocyte populations in Parkinson's disease and in rat models of parkinsonism. *J Neuroimmunol.* 1 févr 2001;113(1):146-52.

78. Storelli E, Cassina N, Rasini E, Marino F, Cosentino M. Do Th17 Lymphocytes and IL-17 Contribute to Parkinson's Disease? A Systematic Review of Available Evidence. *Front Neurol.* 24 janv 2019;10:13.
79. Saunders JAH, Estes KA, Kosloski LM, Allen HE, Dempsey KM, Torres-Russotto DR, et al. CD4+ regulatory and effector/memory T cell subsets profile motor dysfunction in Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol Off J Soc NeuroImmune Pharmacol.* déc 2012;7(4):927-38.
80. Sulzer D, Alcalay RN, Garretti F, Cote L, Kanter E, Agin-Liebes J, et al. T cells from patients with Parkinson's disease recognize α -synuclein peptides. *Nature.* 29 juin 2017;546(7660):656-61.
81. Muñoz-Delgado L, Macías-García D, Jesús S, Martín-Rodríguez JF, Labrador-Espinosa MÁ, Jiménez-Jaraba MV, et al. Peripheral Immune Profile and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Parkinson's Disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 8 juin 2021;
82. Yanamandra K, Gruden MA, Casaitte V, Meskys R, Forsgren L, Morozova-Roche LA. α -Synuclein Reactive Antibodies as Diagnostic Biomarkers in Blood Sera of Parkinson's Disease Patients. *PLOS ONE.* 25 avr 2011;6(4):e18513.
83. Double KL, Rowe DB, Carew-Jones FM, Hayes M, Chan DKY, Blackie J, et al. Anti-melanin antibodies are increased in sera in Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 1 juin 2009;217(2):297-301.
84. Orr CF, Rowe DB, Mizuno Y, Mori H, Halliday GM. A possible role for humoral immunity in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Brain.* 1 nov 2005;128(11):2665-74.
85. Harms AS, Ferreira SA, Romero-Ramos M. Periphery and brain, innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol (Berl).* 1 avr 2021;141(4):527-45.
86. Faas MM, de Vos P. Mitochondrial function in immune cells in health and disease. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* 1 oct 2020;1866(10):165845.

87. Grozdanov V, Bliederaeuser C, Ruf WP, Roth V, Fundel-Clemens K, Zondler L, et al. Inflammatory dysregulation of blood monocytes in Parkinson's disease patients. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 nov 2014;128(5):651-63.
88. Wijeyekoon RS, Kronenberg-Versteeg D, Scott KM, Hayat S, Kuan W-L, Evans JR, et al. Peripheral innate immune and bacterial signals relate to clinical heterogeneity in Parkinson's disease. *Brain Behav Immun*. 29 janv 2020;
89. Schlachetzki JCM, Prots I, Tao J, Chun HB, Saijo K, Gosselin D, et al. A monocyte gene expression signature in the early clinical course of Parkinson's disease. *Sci Rep*. 17 juill 2018;8(1):10757.
90. Schröder JB, Pawlowski M, Meyer zu Hörste G, Gross CC, Wiendl H, Meuth SG, et al. Immune Cell Activation in the Cerebrospinal Fluid of Patients With Parkinson's Disease. *Front Neurol*. 2018;9:1081.
91. Farmen K, Nissen SK, Stokholm MG, Iranzo A, Østergaard K, Serradell M, et al. Monocyte markers correlate with immune and neuronal brain changes in REM sleep behavior disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 9 mars 2021;118(10):e2020858118.
92. Gardai SJ, Mao W, Schüle B, Babcock M, Schoebel S, Lorenzana C, et al. Elevated Alpha-Synuclein Impairs Innate Immune Cell Function and Provides a Potential Peripheral Biomarker for Parkinson's Disease. *PLOS ONE*. 23 août 2013;8(8):e71634.
93. Devos D, Lebouvier T, Lardeux B, Biraud M, Rouaud T, Pouclet H, et al. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 1 févr 2013;50:42-8.
94. Zhao R-Z, Jiang S, Zhang L, Yu Z-B. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int J Mol Med*. 1 juill 2019;44(1):3-15.
95. Franco-Iborra S, Vila M, Perier C. Mitochondrial Quality Control in Neurodegenerative Diseases: Focus on Parkinson's Disease and Huntington's Disease. *Front Neurosci*. 2018;12:342.

96. Parker WD, Boyson SJ, Parks JK. Abnormalities of the electron transport chain in idiopathic parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1989;26(6):719-23.
97. Krige D, Carroll MT, Cooper JM, Marsden CD, Schapira AHV. Platelet mitochondria function in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1992;32(6):782-8.
98. Blin O, Desnuelle C, Rascol O, Borg M, Paul HPS, Azulay JP, et al. Mitochondrial respiratory failure in skeletal muscle from patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *J Neurol Sci*. 1 août 1994;125(1):95-101.
99. Elstner M, Morris CM, Heim K, Bender A, Mehta D, Jaros E, et al. Expression analysis of dopaminergic neurons in Parkinson's disease and aging links transcriptional dysregulation of energy metabolism to cell death. *Acta Neuropathol (Berl)*. 4 mai 2011;122(1):75.
100. Dias V, Junn E, Mouradian MM. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *J Park Dis*. 1 janv 2013;3(4):461-91.
101. Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, Taylor GA, Reeve AK, Perry RH, et al. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet*. mai 2006;38(5):515-7.
102. Costa KM. The Effects of Aging on Substantia Nigra Dopamine Neurons. *J Neurosci*. 12 nov 2014;34(46):15133-4.
103. α -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease [Internet]. [cité 7 sept 2021]. Disponible à: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/scitranslmed.aaf3634>
104. Selvaraj S, Piramanayagam S. Impact of gene mutation in the development of Parkinson's disease. *Genes Dis*. 1 juin 2019;6(2):120-8.
105. Verma M, Callio J, Otero PA, Sekler I, Wills ZP, Chu CT. Mitochondrial Calcium Dysregulation Contributes to Dendrite Degeneration Mediated by PD/LBD-Associated LRRK2 Mutants. *J Neurosci*. 15 nov 2017;37(46):11151-65.

106. Howlett EH, Jensen N, Belmonte F, Zafar F, Hu X, Kluss J, et al. LRRK2 G2019S-induced mitochondrial DNA damage is LRRK2 kinase dependent and inhibition restores mtDNA integrity in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 15 nov 2017;26(22):4340-51.
107. Periquet M, Latouche M, Lohmann E, Rawal N, De Michele G, Ricard S, et al. Parkin mutations are frequent in patients with isolated early-onset parkinsonism. *Brain.* 1 juin 2003;126(6):1271-8.
108. Dawson TM, Dawson VL. The Role of Parkin in Familial and Sporadic Parkinson's Disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 2010;25(0 1):S32-9.
109. Bayne AN, Trempe J-F. Mechanisms of PINK1, ubiquitin and Parkin interactions in mitochondrial quality control and beyond. *Cell Mol Life Sci.* 1 déc 2019;76(23):4589-611.
110. Chen G, Kroemer G, Kepp O. Mitophagy: An Emerging Role in Aging and Age-Associated Diseases. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:200.
111. McLelland G-L, Soubannier V, Chen CX, McBride HM, Fon EA. Parkin and PINK1 function in a vesicular trafficking pathway regulating mitochondrial quality control. *EMBO J.* 18 févr 2014;33(4):282-95.
112. Matheoud D, Sugiura A, Bellemare-Pelletier A, Laplante A, Rondeau C, Chemali M, et al. Parkinson's Disease-Related Proteins PINK1 and Parkin Repress Mitochondrial Antigen Presentation. *Cell.* 14 juill 2016;166(2):314-27.
113. Cabezudo D, Baekelandt V, Lobbestael E. Multiple-Hit Hypothesis in Parkinson's Disease: LRRK2 and Inflammation. *Front Neurosci.* 2020;14:376.
114. Kouli A, Torsney KM, Kuan W-L. Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. Dans: Stoker TB, Greenland JC, éditeurs. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2018 [cité 9 sept 2021]. Disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536722/>

115. Moujalled D, Strasser A, Liddell JR. Molecular mechanisms of cell death in neurological diseases. *Cell Death Differ.* juill 2021;28(7):2029-44.
116. Prasuhn J, Davis RL, Kumar KR. Targeting Mitochondrial Impairment in Parkinson's Disease: Challenges and Opportunities. *Front Cell Dev Biol.* 2021;8:1704.
117. Watanabe Y, Himeda T, Araki T. Mechanisms of MPTP toxicity and their implications for therapy of Parkinson's disease. *Med Sci Monit.* 1 janv 2005;11(1):RA17-23.
118. Stykel MG, Humphries K, Kirby MP, Czaniecki C, Wang T, Ryan T, et al. Nitration of microtubules blocks axonal mitochondrial transport in a human pluripotent stem cell model of Parkinson's disease. *FASEB J.* 2018;32(10):5350-64.
119. Konnova EA, Swanberg M. Animal Models of Parkinson's Disease. Dans: Stoker TB, Greenland JC, éditeurs. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2018 [cité 11 sept 2021]. Disponible à: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536725/>
120. Haddad D, Nakamura K. Understanding the susceptibility of dopamine neurons to mitochondrial stressors in Parkinson's disease. *FEBS Lett.* 21 déc 2015;589(24 0 0):3702-13.
121. Halliday GM, Del Tredici K, Braak H. Critical appraisal of brain pathology staging related to presymptomatic and symptomatic cases of sporadic Parkinson's disease. Dans: Riederer P, Reichmann H, Youdim MBH, Gerlach M, éditeurs. *Parkinson's Disease and Related Disorders*. Vienna: Springer; 2006. p. 99-103. (*Journal of Neural Transmission. Supplementa*).
122. Stefanis L. α -Synuclein in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* févr 2012;2(2):a009399.
123. Chao Y-X, Gulam MY, Chia NSJ, Feng L, Rotzschke O, Tan E-K. Gut–Brain Axis: Potential Factors Involved in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 25 août 2020;11:849.

124. Ambrosini YM, Borchering D, Kanthasamy A, Kim HJ, Willette AA, Jergens A, et al. The Gut-Brain Axis in Neurodegenerative Diseases and Relevance of the Canine Model: A Review. *Front Aging Neurosci.* 18 juin 2019;11:130.
125. Santos SF, de Oliveira HL, Yamada ES, Neves BC, Pereira A. The Gut and Parkinson's Disease—A Bidirectional Pathway. *Front Neurol.* 2019;10:574.
126. Chai M, Kohyama J. Non-Cell-Autonomous Neurotoxicity in Parkinson's Disease Mediated by Astroglial α -Synuclein. *Stem Cell Rep.* févr 2019;12(2):183-5.
127. Tan JSY, Chao YX, Röttschke O, Tan E-K. New Insights into Immune-Mediated Mechanisms in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 6 déc 2020;21(23):E9302.
128. Haque MdE, Akther M, Jakaria Md, Kim I-S, Azam S, Choi D-K. Targeting the Microglial NLRP3 Inflammasome and Its Role in Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2020;35(1):20-33.
129. Garretti F, Agalliu D, Lindestam Arlehamn CS, Sette A, Sulzer D. Autoimmunity in Parkinson's Disease: The Role of α -Synuclein-Specific T Cells. *Front Immunol.* 2019;10:303.
130. Holmans P, Moskvina V, Jones L, Sharma M, The International Parkinson's Disease Genomics Consortium (IPDGC), Vedernikov A, et al. A pathway-based analysis provides additional support for an immune-related genetic susceptibility to Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 1 mars 2013;22(5):1039-49.
131. Little J, Barakat-Haddad C, Martino R, Pringsheim T, Tremlett H, McKay KA, et al. Genetic variation associated with the occurrence and progression of neurological disorders. *NeuroToxicology.* 1 juill 2017;61:243-64.
132. Li X, Sundquist J, Sundquist K. Subsequent Risks of Parkinson Disease in Patients with Autoimmune and Related Disorders: A Nationwide Epidemiological Study from Sweden. *Neurodegener Dis.* 2012;10(1-4):277-84.

133. Wu M-C, Xu X, Chen S-M, Tyan Y-S, Chiou J-Y, Wang Y-H, et al. Impact of Sjogren's syndrome on Parkinson's disease: A nationwide case-control study. PLOS ONE. 13 juill 2017;12(7):e0175836.
134. Chang C-C, Lin T-M, Chang Y-S, Chen W-S, Sheu J-J, Chen Y-H, et al. Autoimmune rheumatic diseases and the risk of Parkinson disease: a nationwide population-based cohort study in Taiwan. Ann Med. 2 janv 2018;50(1):83-90.
135. Lin J-C, Lin C-S, Hsu C-W, Lin C-L, Kao C-H. Association Between Parkinson's Disease and Inflammatory Bowel Disease: a Nationwide Taiwanese Retrospective Cohort Study. Inflamm Bowel Dis. 1 mai 2016;22(5):1049-55.
136. Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy and Incidence of Parkinson Disease Among Patients With Inflammatory Bowel Disease | Gastroenterology | JAMA Neurology | JAMA Network [Internet]. [cité 5 sept 2021]. Disponible à: <https://jamanetwork.com/journals/jamaneurology/fullarticle/2679038>
137. Perez-Pardo P, Dodiya HB, Engen PA, Forsyth CB, Huschens AM, Shaikh M, et al. Role of TLR4 in the gut-brain axis in Parkinson's disease: a translational study from men to mice. Gut. 1 mai 2019;68(5):829-43.
138. Wang H, Liu X, Tan C, Zhou W, Jiang J, Peng W, et al. Bacterial, viral, and fungal infection-related risk of Parkinson's disease: Meta-analysis of cohort and case-control studies. Brain Behav. mars 2020;10(3):e01549.
139. Limphaibool N, Iwanowski P, Holstad MJV, Kobylarek D, Kozubski W. Infectious Etiologies of Parkinsonism: Pathomechanisms and Clinical Implications. Front Neurol. 2019;10:652.
140. Racette BA, Gross A, Vouri SM, Camacho-Soto A, Willis AW, Searles Nielsen S. Immunosuppressants and risk of Parkinson disease. Ann Clin Transl Neurol. juill 2018;5(7):870-5.

141. Sarkar S, Raymick J, Imam S. Neuroprotective and Therapeutic Strategies against Parkinson's Disease: Recent Perspectives. *Int J Mol Sci.* juin 2016;17(6):904.
142. Gundersen V. Parkinson's Disease: Can Targeting Inflammation Be an Effective Neuroprotective Strategy? *Front Neurosci* [Internet]. 2021 [cité 16 juin 2021];14. Disponible à: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2020.580311/full>
143. Rimessi A, Previati M, Nigro F, Wieckowski MR, Pinton P. Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies. *Int J Biochem Cell Biol.* 1 déc 2016;81:281-93.
144. Origin of Mitochondria | Learn Science at Scitable [Internet]. [cité 4 oct 2021]. Disponible à: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/the-origin-of-mitochondria-14232356/>
145. Seager R, Lee L, Henley JM, Wilkinson KA. Mechanisms and roles of mitochondrial localisation and dynamics in neuronal function. *Neuronal Signal* [Internet]. 1 juin 2020 [cité 25 sept 2021];4(2). Disponible à: <https://doi.org/10.1042/NS20200008>
146. Nolfi-Donagan D, Braganza A, Shiva S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biol.* 1 oct 2020;37:101674.
147. Checa J, Aran JM. <p>Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes</p>. *J Inflamm Res.* 2 déc 2020;13:1057-73.
148. Hawkins BJ, Solt LA, Chowdhury I, Kazi AS, Abid MR, Aird WC, et al. G Protein-Coupled Receptor Ca²⁺-Linked Mitochondrial Reactive Oxygen Species Are Essential for Endothelial/Leukocyte Adherence. *Mol Cell Biol.* 1 nov 2007;27(21):7582-93.
149. Bulua AC, Simon A, Maddipati R, Pelletier M, Park H, Kim K-Y, et al. Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J Exp Med.* 31 janv 2011;208(3):519-33.

150. Angajala A, Lim S, Phillips JB, Kim J-H, Yates C, You Z, et al. Diverse Roles of Mitochondria in Immune Responses: Novel Insights Into Immuno-Metabolism. *Front Immunol.* 2018;9:1605.
151. Mills EL, Kelly B, Logan A, Costa ASH, Varma M, Bryant CE, et al. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell.* 6 oct 2016;167(2):457-470.e13.
152. White MJ, McArthur K, Metcalf D, Lane RM, Cambier JC, Herold MJ, et al. Apoptotic Caspases Suppress mtDNA-Induced STING-Mediated Type I IFN Production. *Cell.* 18 déc 2014;159(7):1549-62.
153. Iwasaki Y, Takeshima Y, Fujio K. Basic mechanism of immune system activation by mitochondria. *Immunol Med.* 1 oct 2020;43(4):142-7.
154. Geto Z, Molla MD, Challa F, Belay Y, Getahun T. <p>Mitochondrial Dynamic Dysfunction as a Main Triggering Factor for Inflammation Associated Chronic Non-Communicable Diseases</p>. *J Inflamm Res.* 14 févr 2020;13:97-107.
155. Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ Res.* 16 mars 2018;122(6):877-902.
156. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiol Rev.* 1 juill 2014;94(3):909-50.
157. Vantaggiato C, Castelli M, Giovarelli M, Orso G, Bassi MT, Clementi E, et al. The Fine Tuning of Drp1-Dependent Mitochondrial Remodeling and Autophagy Controls Neuronal Differentiation. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:120.
158. Pickles S, Vigié P, Youle RJ. Mitophagy and Quality Control Mechanisms in Mitochondrial Maintenance. *Curr Biol.* 19 févr 2018;28(4):R170-85.
159. Witte ME, Mahad DJ, Lassmann H, van Horssen J. Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis. *Trends Mol Med.* 1 mars 2014;20(3):179-87.

160. Becker Y, Loignon R-C, Julien A-S, Marcoux G, Allaey I, Lévesque T, et al. Anti-mitochondrial autoantibodies in systemic lupus erythematosus and their association with disease manifestations. *Sci Rep.* 14 mars 2019;9(1):4530.
161. Rai P, Janardhan KS, Meacham J, Madenspacher JH, Lin W-C, Karmaus PWF, et al. IRGM1 links mitochondrial quality control to autoimmunity. *Nat Immunol.* mars 2021;22(3):312-21.
162. Lleo A, Marzorati S, Anaya J-M, Gershwin ME. Primary biliary cholangitis: a comprehensive overview. *Hepato Int.* nov 2017;11(6):485-99.
163. Creative Commons — Attribution 4.0 International — CC BY 4.0 [Internet]. [cité 28 sept 2021]. Disponible à: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
164. Borsche M, König IR, Delcambre S, Petrucci S, Balck A, Brüggemann N, et al. Mitochondrial damage-associated inflammation highlights biomarkers in PRKN/PINK1 parkinsonism. *Brain J Neurol.* 1 oct 2020;143(10):3041-51.
165. Sliter DA, Martinez J, Hao L, Chen X, Sun N, Fischer TD, et al. Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation. *Nature.* sept 2018;561(7722):258-62.
166. Matheoud D, Cannon T, Voisin A, Penttinen A-M, Ramet L, Fahmy AM, et al. Intestinal infection triggers Parkinson's disease-like symptoms in Pink1 $-/-$ mice. *Nature.* juill 2019;571(7766):565.
167. Tran TA, Nguyen AD, Chang J, Goldberg MS, Lee J-K, Tansey MG. Lipopolysaccharide and Tumor Necrosis Factor Regulate Parkin Expression via Nuclear Factor-Kappa B. *PLoS ONE* [Internet]. 17 août 2011 [cité 18 août 2019];6(8). Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3157435/>
168. Antony PMA, Diederich NJ, Krüger R, Balling R. The hallmarks of Parkinson's disease. *FEBS J.* 2013;280(23):5981-93.
169. Stojkovska I, Wagner BM, Morrison BE. Parkinson's disease and enhanced inflammatory response. *Exp Biol Med.* 1 nov 2015;240(11):1387-95.

170. Nicoletti V, Palermo G, Del Prete E, Mancuso M, Ceravolo R. Understanding the Multiple Role of Mitochondria in Parkinson's Disease and Related Disorders: Lesson From Genetics and Protein-Interaction Network. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:636506.
171. Taylor JM, Main BS, Crack PJ. Neuroinflammation and oxidative stress: Co-conspirators in the pathology of Parkinson's disease. *Neurochem Int.* 1 avr 2013;62(5):803-19.
172. Witoelar A, Jansen IE, Wang Y, Desikan RS, Gibbs JR, Blauwendraat C, et al. Genome-wide Pleiotropy Between Parkinson Disease and Autoimmune Diseases. *JAMA Neurol.* 1 juill 2017;74(7):780-92.
173. Singhanian A, Pham J, Dhanwani R, Frazier A, Rezende Dutra J, Marder KS, et al. The TCR repertoire of α -synuclein-specific T cells in Parkinson's disease is surprisingly diverse. *Sci Rep.* 11 janv 2021;11(1):302.
174. Lindestam Arlehamn CS, Dhanwani R, Pham J, Kuan R, Frazier A, Rezende Dutra J, et al. α -Synuclein-specific T cell reactivity is associated with preclinical and early Parkinson's disease. *Nat Commun.* 20 avr 2020;11(1):1875.
175. González H, Contreras F, Pacheco R. Regulation of the Neurodegenerative Process Associated to Parkinson's Disease by CD4+ T-cells. *J Neuroimmune Pharmacol Off J Soc NeuroImmune Pharmacol.* déc 2015;10(4):561-75.
176. Harms AS, Cao S, Rowse AL, Thome AD, Li X, Mangieri LR, et al. MHCII is required for α -synuclein-induced activation of microglia, CD4 T cell proliferation, and dopaminergic neurodegeneration. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 5 juin 2013;33(23):9592-600.
177. Folke J, Rydbirk R, Løkkegaard A, Salvesen L, Hejl A-M, Starhof C, et al. Distinct Autoimmune Anti- α -Synuclein Antibody Patterns in Multiple System Atrophy and Parkinson's Disease. *Front Immunol.* 2019;10:2253.

178. Matsuda N, Sato S, Shiba K, Okatsu K, Saisho K, Gautier CA, et al. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *J Cell Biol.* 19 avr 2010;189(2):211-21.
179. Mann VM, Cooper JM, Daniel SE, Srai K, Jenner P, Marsden CD, et al. Complex I, Iron, and ferritin in Parkinson's disease substantia nigra. *Ann Neurol.* 1994;36(6):876-81.
180. Rhoden JJ, Dyas GL, Wroblewski VJ. A Modeling and Experimental Investigation of the Effects of Antigen Density, Binding Affinity, and Antigen Expression Ratio on Bispecific Antibody Binding to Cell Surface Targets *. *J Biol Chem.* 20 mai 2016;291(21):11337-47.
181. Quinlan CL, Goncalves RLS, Hey-Mogensen M, Yadava N, Bunik VI, Brand MD. The 2-Oxoacid Dehydrogenase Complexes in Mitochondria Can Produce Superoxide/Hydrogen Peroxide at Much Higher Rates Than Complex I. *J Biol Chem.* mars 2014;289(12):8312-25.
182. Cadete VJJ, Deschênes S, Cuillerier A, Brisebois F, Sugiura A, Vincent A, et al. Formation of mitochondrial-derived vesicles is an active and physiologically relevant mitochondrial quality control process in the cardiac system. *J Physiol.* 15 sept 2016;594(18):5343-62.
183. Vasam G, Nadeau R, Cadete VJJ, Lavallée-Adam M, Menzies KJ, Burelle Y. Proteomics characterization of mitochondrial-derived vesicles under oxidative stress. *FASEB J.* 2021;35(4):e21278.
184. Liang Y, Pan H, Ye D. Tc17 Cells in Immunity and Systemic Autoimmunity. *Int Rev Immunol.* 2015;
185. Lotfi N, Thome R, Rezaei N, Zhang G-X, Rezaei A, Rostami A, et al. Roles of GM-CSF in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases: An Update. *Front Immunol.* 2019;10:1265.
186. Frontiers | Frequency of Heterozygous Parkin (PRKN) Variants and Penetrance of Parkinson's Disease Risk Markers in the Population-Based CHRIS Cohort | Neurology [Internet]. [cité 13 nov 2021]. Disponible à: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2021.706145/full>

187. Toft M, Myhre R, Pielsticker L, White LR, Aasly JO, Farrer MJ. PINK1 mutation heterozygosity and the risk of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. janv 2007;78(1):82-4.
188. Picca A, Guerra F, Calvani R, Romano R, Coelho-Júnior HJ, Bucci C, et al. Mitochondrial Dysfunction, Protein Misfolding and Neuroinflammation in Parkinson's Disease: Roads to Biomarker Discovery. *Biomolecules*. 13 oct 2021;11(10):1508.
189. Kirkwood KL. Inflammaging. *Immunol Invest*. 17 nov 2018;47(8):770-3.
190. Álvarez-Luquín DD, Guevara-Salinas A, Arce-Sillas A, Espinosa-Cárdenas R, Leyva-Hernández J, Montes-Moratilla EU, et al. Increased Tc17 cell levels and imbalance of naïve/effector immune response in Parkinson's disease patients in a two-year follow-up: a case control study. *J Transl Med*. 6 sept 2021;19(1):378.
191. Liu Z, Qiu A-W, Huang Y, Yang Y, Chen J-N, Gu T-T, et al. IL-17A exacerbates neuroinflammation and neurodegeneration by activating microglia in rodent models of Parkinson's disease. *Brain Behav Immun*. oct 2019;81:630-45.
192. Huber M, Heink S, Pagenstecher A, Reinhard K, Ritter J, Visekruna A, et al. IL-17A secretion by CD8⁺ T cells supports Th17-mediated autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*. 2 janv 2013;123(1):247-60.
193. Chevalier G, Suberbielle E, Monnet C, Duplan V, Martin-Blondel G, Farrugia F, et al. Neurons are MHC class I-dependent targets for CD8 T cells upon neurotropic viral infection. *PLoS Pathog*. nov 2011;7(11):e1002393.
194. Cebrián C, Zucca FA, Mauri P, Steinbeck JA, Studer L, Scherzer CR, et al. MHC-I expression renders catecholaminergic neurons susceptible to T-cell-mediated degeneration. *Nat Commun*. 16 avr 2014;5:3633.
195. Wang B-Y, Ye Y-Y, Qian C, Zhang H-B, Mao H-X, Yao L-P, et al. Stress increases MHC-I expression in dopaminergic neurons and induces autoimmune activation in Parkinson's disease. *Neural Regen Res*. déc 2021;16(12):2521-7.

196. Tang Y, Li T, Li J, Yang J, Liu H, Zhang XJ, et al. Jmjd3 is essential for the epigenetic modulation of microglia phenotypes in the immune pathogenesis of Parkinson's disease. *Cell Death Differ.* mars 2014;21(3):369-80.
197. George S, Rey NL, Tyson T, Esquibel C, Meyerdirk L, Schulz E, et al. Microglia affect α -synuclein cell-to-cell transfer in a mouse model of Parkinson's disease. *Mol Neurodegener.* 16 août 2019;14(1):34.
198. Long-Smith CM, Collins L, Toulouse A, Sullivan AM, Nolan YM. Interleukin-1 β contributes to dopaminergic neuronal death induced by lipopolysaccharide-stimulated rat glia in vitro. *J Neuroimmunol.* 14 sept 2010;226(1-2):20-6.
199. Kempuraj D, Thangavel R, Selvakumar GP, Zaheer S, Ahmed ME, Raikwar SP, et al. Brain and Peripheral Atypical Inflammatory Mediators Potentiate Neuroinflammation and Neurodegeneration. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:216.
200. Machado A, Herrera AJ, Venero JL, Santiago M, De Pablos RM, Villarán RF, et al. Peripheral Inflammation Increases the Damage in Animal Models of Nigrostriatal Dopaminergic Neurodegeneration: Possible Implication in Parkinson's Disease Incidence. *Park Dis.* 13 avr 2011;2011:e393769.
201. Ferrari CC, Tarelli R. Parkinson's Disease and Systemic Inflammation. *Park Dis.* 22 févr 2011;2011:e436813.
202. Weller C, Oxlade N, Dobbs SM, Dobbs RJ, Charlett A, Bjarnason IT. Role of inflammation in gastrointestinal tract in aetiology and pathogenesis of idiopathic parkinsonism. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1 mai 2005;44(2):129-35.
203. Hasegawa Y, Inagaki T, Sawada M, Suzumura A. Impaired cytokine production by peripheral blood mononuclear cells and monocytes/macrophages in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 2000;101(3):159-64.

204. Cook DA, Kannarkat GT, Cintron AF, Butkovich LM, Fraser KB, Chang J, et al. LRRK2 levels in immune cells are increased in Parkinson's disease. *Npj Park Dis.* 28 mars 2017;3(1):1-12.
205. Bossù P, Spalletta G, Caltagirone C, Ciaramella A. Myeloid Dendritic Cells are Potential Players in Human Neurodegenerative Diseases. *Front Immunol.* 2015;6:632.
206. Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med.* 1 avr 1994;179(4):1109-18.
207. Qu C, Brinck-Jensen N-S, Zang M, Chen K. Monocyte-derived dendritic cells: targets as potent antigen-presenting cells for the design of vaccines against infectious diseases. *Int J Infect Dis.* 1 févr 2014;19:1-5.
208. Arya S, Wiatrek-Moumoulidis D, Synowsky SA, Shirran SL, Botting CH, Powis SJ, et al. Quantitative proteomic changes in LPS-activated monocyte-derived dendritic cells: A SWATH-MS study. *Sci Rep.* 13 mars 2019;9(1):4343.
209. Aparicio-Siegmund S, Garbers C. The biology of interleukin-27 reveals unique pro- and anti-inflammatory functions in immunity. *Cytokine Growth Factor Rev.* oct 2015;26(5):579-86.
210. Ymer SI, Huang D, Penna G, Gregori S, Branson K, Adorini L, et al. Polymorphisms in the IL12b gene affect structure and expression of IL-12 in NOD and other autoimmune-prone mouse strains. *Genes Immun.* mai 2002;3(3):151-7.
211. Thompson JS, Chu Y, Glass JF, Brown SA. Absence of IL-23p19 in donor allogeneic cells reduces mortality from acute GVHD. *Bone Marrow Transplant.* avr 2010;45(4):712-22.
212. Teng MWL, Bowman EP, McElwee JJ, Smyth MJ, Casanova J-L, Cooper AM, et al. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med.* juill 2015;21(7):719-29.

213. Del-Bel E, Bortolanza M, Dos-Santos-Pereira M, Bariotto K, Raisman-Vozari R. L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease: Are neuroinflammation and astrocytes key elements? *Synapse*. 2016;70(12):479-500.
214. Choi C, Jeong J-H, Jang JS, Choi K, Lee J, Kwon J, et al. Multiplex Analysis of Cytokines in the Serum and Cerebrospinal Fluid of Patients With Alzheimer's Disease by Color-Coded Bead Technology. *J Clin Neurol*. 20 juin 2008;4(2):84-8.
215. Visperas A, Do JS, Bulek K, Li X, Min B. IL-27, targeting antigen-presenting cells, promotes Th17 differentiation and colitis in mice. *Mucosal Immunol*. mai 2014;7(3):625-33.
216. Liu H, Rohowsky-Kochan C. Interleukin-27-Mediated Suppression of Human Th17 Cells Is Associated with Activation of STAT1 and Suppressor of Cytokine Signaling Protein 1. *J Interferon Cytokine Res*. mai 2011;31(5):459-69.
217. Peters A, Fowler KD, Chalmin F, Merkler D, Kuchroo VK, Pot C. IL-27 induces Th17 differentiation in the absence of STAT1 signaling. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 nov 2015;195(9):4144-53.
218. Kouchaki E, Kakhaki RD, Tamtaji OR, Dadgostar E, Behnam M, Nikoueinejad H, et al. Increased serum levels of TNF- α and decreased serum levels of IL-27 in patients with Parkinson disease and their correlation with disease severity. *Clin Neurol Neurosurg*. mars 2018;166:76-9.
219. Min B, Kim D, Feige MJ. IL-30 \uparrow (IL-27A): a familiar stranger in immunity, inflammation, and cancer. *Exp Mol Med*. mai 2021;53(5):823-34.
220. Benwell RK, Lee DR. Essential and synergistic roles of IL1 and IL6 in human Th17 differentiation directed by TLR ligand-activated dendritic cells. *Clin Immunol Orlando Fla*. févr 2010;134(2):178-87.
221. Agrawal A, Agrawal S, Gupta S. Role of Dendritic Cells in Inflammation and Loss of Tolerance in the Elderly. *Front Immunol*. 2017;8:896.

222. Galea I. The blood–brain barrier in systemic infection and inflammation. *Cell Mol Immunol.* nov 2021;18(11):2489-501.
223. Hall S, Janelidze S, Surova Y, Widner H, Zetterberg H, Hansson O. Cerebrospinal fluid concentrations of inflammatory markers in Parkinson’s disease and atypical parkinsonian disorders. *Sci Rep.* 5 sept 2018;8(1):13276.
224. Pickrell AM, Youle RJ. The Roles of PINK1, Parkin, and Mitochondrial Fidelity in Parkinson’s Disease. *Neuron.* 21 janv 2015;85(2):257-73.
225. Gandhi S, Wood-Kaczmar A, Yao Z, Plun-Favreau H, Deas E, Klupsch K, et al. PINK1-Associated Parkinson’s Disease Is Caused by Neuronal Vulnerability to Calcium-Induced Cell Death. *Mol Cell.* 13 mars 2009;33(5):627-38.
226. Basit F, de Vries IJM. Dendritic Cells Require PINK1-Mediated Phosphorylation of BCKDE1 α to Promote Fatty Acid Oxidation for Immune Function. *Front Immunol.* 15 oct 2019;10:2386.
227. Lückel C, Picard FelixSR, Huber M. Tc17 biology and function: Novel concepts. *Eur J Immunol.* 2020;50(9):1257-67.
228. McGeachy MJ. Th17 memory cells: live long and proliferate. *J Leukoc Biol.* 2013;94(5):921-6.
229. Flores-Santibáñez F, Cuadra B, Fernández D, Roseblatt MV, Núñez S, Cruz P, et al. In Vitro-Generated Tc17 Cells Present a Memory Phenotype and Serve As a Reservoir of Tc1 Cells In Vivo. *Front Immunol.* 8 févr 2018;9:209.
230. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med.* 19 nov 2014;6(263):263ra158.
231. Parker A, Fonseca S, Carding SR. Gut microbes and metabolites as modulators of blood-brain barrier integrity and brain health. *Gut Microbes.* 3 mars 2020;11(2):135-57.

232. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res.* juin 2020;30(6):492-506.
233. Hindle JV. Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. *Age Ageing.* 1 mars 2010;39(2):156-61.
234. Tokarew JM, El-Kodsi DN, Lengacher NA, Fehr TK, Nguyen AP, Shutinoski B, et al. Age-associated insolubility of parkin in human midbrain is linked to redox balance and sequestration of reactive dopamine metabolites. *Acta Neuropathol (Berl).* mai 2021;141(5):725-54.
235. Wang C, Ko HS, Thomas B, Tsang F, Chew KCM, Tay S-P, et al. Stress-induced alterations in parkin solubility promote parkin aggregation and compromise parkin's protective function. *Hum Mol Genet.* 15 déc 2005;14(24):3885-97.
236. Williams-Gray CH, Wijeyekoon RS, Scott KM, Hayat S, Barker RA, Jones JL. Abnormalities of age-related T cell senescence in Parkinson's disease. *J Neuroinflammation* [Internet]. 005 2018 [cité 4 déc 2021]; Disponible à: <https://www.meta.org/papers/abnormalities-of-age-related-t-cell-senescence-in/29807534>
237. McLelland G-L, Lee SA, McBride HM, Fon EA. Syntaxin-17 delivers PINK1/parkin-dependent mitochondrial vesicles to the endolysosomal system. *J Cell Biol.* 25 juill 2016;214(3):275-91.
238. Clayton SA, MacDonald L, Kurowska-Stolarska M, Clark AR. Mitochondria as Key Players in the Pathogenesis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* 2021;12:1488.
239. Cebrián C, Loike JD, Sulzer D. Neuronal MHC-I expression and its implications in synaptic function, axonal regeneration and Parkinson's and other brain diseases. *Front Neuroanat.* 13 oct 2014;8:114.
240. Roberts RF, Bayne AN, Goiran T, Lévesque D, Boisvert F-M, Trempe J-F, et al. Proteomic profiling of mitochondrial-derived vesicles in brain reveals enrichment of respiratory complex sub-assemblies and small TIM chaperones [Internet]. 2020 juill [cité 7 déc 2021] p.

2020.07.06.189993.

Disponible

à:

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.07.06.189993v2>

241. Galea I, Bernardes-Silva M, Forse PA, van Rooijen N, Liblau RS, Perry VH. An antigen-specific pathway for CD8 T cells across the blood-brain barrier. *J Exp Med*. 3 sept 2007;204(9):2023-30.
242. Amitrano AM, Berry BJ, Lim K, Kim K-D, Waugh RE, Wojtovich AP, et al. Optical Control of CD8+ T Cell Metabolism and Effector Functions. *Front Immunol*. 2021;12:666231.
243. Lückel C, Picard F, Raifer H, Campos Carrascosa L, Guralnik A, Zhang Y, et al. IL-17+ CD8+ T cell suppression by dimethyl fumarate associates with clinical response in multiple sclerosis. *Nat Commun*. 16 déc 2019;10(1):5722.
244. Zhang F, Zhao Q, Jiang Y, Liu N, Liu Q, Shi F-D, et al. Augmented Brain Infiltration and Activation of Leukocytes After Cerebral Ischemia in Type 2 Diabetic Mice. *Front Immunol*. 2019;10:2392.
245. Smolders J, Heutinck KM, Fransen NL, Remmerswaal EBM, Hombrink P, ten Berge IJM, et al. Tissue-resident memory T cells populate the human brain. *Nat Commun*. 2 nov 2018;9(1):4593.
246. Tansey MG, Wallings RL, Houser MC, Herrick MK, Keating CE, Joers V. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Immunol*. 4 mars 2022;1-17.
247. Moretti R, Caruso P, Monguzzi G, Sala A, Ben MD, Gazzin S. Is Parkinson's disease an unique clinical entity? Rigid or tremor dominant PD: Two faces of the same coin. :7.
248. Lian T-H, Guo P, Zuo L-J, Hu Y, Yu S-Y, Yu Q-J, et al. Tremor-Dominant in Parkinson Disease: The Relevance to Iron Metabolism and Inflammation. *Front Neurosci*. 2019;13:255.
249. Diaz K, Kohut ML, Russell DW, Stegemöller EL. Peripheral inflammatory cytokines and motor symptoms in persons with Parkinson's disease. *Brain Behav Immun - Health*. mai 2022;21:100442.

250. Deeb W, Hu W, Almeida L, Patterson A, Martinez-Ramirez D, Wagle Shukla A. Benign tremulous Parkinsonism: a unique entity or another facet of Parkinson's disease? *Transl Neurodegener.* 20 mai 2016;5(1):10.
251. Rahayel S, Gaubert M, Postuma RB, Montplaisir J, Carrier J, Monchi O, et al. Brain atrophy in Parkinson's disease with polysomnography-confirmed REM sleep behavior disorder. *Sleep* [Internet]. 11 juin 2019 [cité 14 déc 2020];42(zsz062). Disponible à: <https://doi.org/10.1093/sleep/zsz062>
252. Zheng Y, Sun L, Jiang T, Zhang D, He D, Nie H. TNF α Promotes Th17 Cell Differentiation through IL-6 and IL-1 β Produced by Monocytes in Rheumatoid Arthritis. *J Immunol Res.* 11 nov 2014;2014:e385352.

