

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle

Bureau international



(43) Date de la publication internationale
9 septembre 2011 (09.09.2011)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2011/107614 A2

(51) Classification internationale des brevets :
C12N 9/22 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2011/053399

(22) Date de dépôt international :
7 mars 2011 (07.03.2011)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1051635 5 mars 2010 (05.03.2010) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
IMMUNOSEARCH [FR/FR]; Les Cyclades Bat E,
Chemin de Camperousse, F-06130 Le Plan De Grasse
(FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **GROUX, Hervé** [FR/FR]; 13 chemin des Combes, F-06650 Le Rouret (FR). **COTTREZ, Françoise** [FR/FR]; 13 chemin des Combes, F-06650 Le Rouret (FR).

(74) Mandataire : **WARCOIN, Jacques**; Cabinet Regimbeau,
20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport (règle 48.2.g)
- avec la partie de la description réservée au listage des séquences (règle 5.2.a))

(54) Title : METHOD FOR EVALUATING THE SENSITISING AND/OR IRRITANT POTENTIAL OF A TEST COMPOUND

(54) Titre : MÉTHODE D'ÉVALUATION DU POTENTIEL SENSIBILISANT ET/OU IRRITANT D'UN COMPOSÉ TEST

(57) Abstract : The invention relates to a method for evaluating the sensitising and/or irritant potential of a test compound and to a kit for implementing said method.

(57) Abrégé : L'invention se rapporte à une méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test et à une trousse pour la mise en œuvre de ladite méthode.



WO 2011/107614 A2

Méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test

La présente invention se rapporte à une méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test et à une trousse pour la mise en œuvre
5 de ladite méthode.

Les industries de la parfumerie, de la cosmétique et de la pharmacie se doivent de rester compétitives et performantes et continuer à proposer régulièrement des produits nouveaux, avec comme contrainte de répondre aux normes de sécurité pour
10 l'homme et son environnement attachées à leur utilisation. Or l'allergie de contact est l'un des risques majeurs associés à l'utilisation de tels produits.

L'allergie cutanée de contact (ou dermatite atopique) est un problème de santé publique majeur chez l'homme. Elle représente une manifestation immunotoxique environnementale sérieuse, contraignante, dont il est important d'anticiper les effets
15 lorsque l'on met sur le marché des produits susceptibles de la provoquer. La sensibilisation cutanée et, par conséquent la manifestation allergique associée, est le résultat dans un premier temps de l'interaction d'une molécule allergénique avec des cellules spécialisées de l'épiderme, les cellules présentatrices de l'antigène (cellules de Langerhans, cellules dendritiques) puis dans un second temps de leurs
20 présentations par ces cellules à des lymphocytes effecteurs T CD4⁺ et CD8⁺. Ce sont ces derniers qui sont à la base de la réaction allergique et inflammatoire. Néanmoins, les allergènes, en particulier ceux qui peuvent être présents dans un parfum, sont des petites molécules qui ne peuvent pas être reconnues directement. Leur reconnaissance nécessite leur association préalable avec des protéines du soi. Ainsi,
25 c'est le complexe hétérodimérique néoformé dans la peau qui sera ultérieurement présenté aux cellules T dans les ganglions proximaux. Par conséquent, la faculté d'une molécule chimique (composé de parfum ou ingrédient cosmétique) à s'associer à une protéine de l'utilisateur de ce produit est un préalable obligatoire à l'induction de la réaction pathologique (cutanée) consécutive. Cette réaction pathologique
30 (cutanée) pourra soit être une irritation, soit une sensibilisation, soit dans la majorité des cas, à la fois une irritation et une sensibilisation.

L'irritation est une inflammation réversible des tissus vivants par action chimique au

site de contact. Celle-ci se reconnaît par un œdème consécutif à un afflux de fluides dans les tissus, une rougeur, de la chaleur et/ou de la douleur. En réponse à une agression chimique, les kératinocytes de l'épiderme et les fibroblastes du derme sont stimulés et vont libérer dans la peau des cytokines IL1, TNF alpha, IL6, IL8, ainsi que des médiateurs comme les prostaglandines (PGE2) qui vont initier la réponse inflammatoire.

Les hypersensibilités retardées et immédiates à la base de la sensibilisation impliquent une notion de « mémoire » ce qui souligne leur caractère irréversible contrairement à l'irritation. Dans un cas comme dans l'autre, les mécanismes se déroulent en deux phases :

- la première, dite phase de sensibilisation, pendant laquelle l'antigène/allergène est présenté au système immunitaire et en particulier aux lymphocytes T qui enregistrent le signal moléculaire et régulent, via les cytokines produites, les autres populations cellulaires impliquées (lymphocytes B, T CD8, cellules endothéliales, macrophages, mastocytes, kératinocytes etc...);

- la seconde phase, dite la phase effectrice, pendant laquelle différentes populations cellulaires cutanées vont intervenir par l'intermédiaire de médiateurs chimiques responsables des désordres pathologiques. Dans le cas de l'hypersensibilité immédiate, la génération d'anticorps anaphylactiques comme les IgE, en se fixant sur les mastocytes et les basophiles, va conduire à la libération d'histamine, principal vecteur des manifestations allergiques. Dans le cas de l'hypersensibilité retardée, ce sont des cellules T de type cytotoxique (TCD8) qui en détruisant les kératinocytes sont responsables des lésions cutanées.

25

Ainsi, même si d'un point de vue histologique les dermatites de contact allergiques et irritantes sont très voisines, les conséquences immunologiques analysées au niveau cellulaire ne sont pas pour autant similaires. Il est par conséquent important de posséder des méthodologies fiables permettant de les distinguer. Une approche prédictive originale est d'autant plus nécessaire qu'actuellement aucune corrélation claire n'a été mise en évidence entre une structure moléculaire donnée et l'allergénicité prise au sens large du terme.

30

Jusqu'à présent, des animaux étaient utilisés pour identifier les molécules sensibilisantes au niveau cutané et le LLNA (local lymph node assay) basé sur la prolifération induite des lymphocytes ganglionnaires après contact avec le sensibilisant a été développé. Ce test a été adopté comme « Testing guideline 429 » par l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) et est considéré encore à ce jour comme le test de référence pour la détermination d'un agent chimique sensibilisant.

Les nouvelles contraintes européennes imposent désormais l'utilisation de méthodes n'utilisant pas d'animaux et il est donc indispensable de mettre au point des méthodes alternatives permettant de déterminer si une composition nouvelle ou un produit nouveau est susceptible de représenter un risque pour l'homme par ses propriétés sensibilisantes.

La présente invention est basée sur l'élucidation du changement global en terme d'expression génique à partir de tissus cutanés ou de cellules exposés à des agents toxiques et plus particulièrement des sensibilisants en comparaison avec des irritants ou des tissus/cellules témoins non exposés ou exposés au seul véhicule nécessaire à la solubilisation ou l'application des substances testées.

De manière surprenante, les Inventeurs ont mis en évidence que certains gènes représentent la signature moléculaire de l'action sensibilisante et/ou irritante, permettant ainsi de différencier l'action d'un sensibilisant en comparaison d'un irritant, démontrant ainsi que les toxiques répondant à ces qualificatifs impliquent des voies métaboliques identifiables.

De plus, les Inventeurs ont mis en évidence que certains gènes représentent à la fois la signature moléculaire de l'action sensibilisante et irritante, permettant ainsi de différencier en un seul test le potentiel à la fois sensibilisant et irritant d'un composé.

Par ailleurs, les Inventeurs ont montré que la reconnaissance in vivo d'une substance ne se fait pas au niveau du ganglion drainant, comme cela est généralement admis,

mais bien au niveau du tissu où la substance entre en contact avec l'organisme dans le cas présent : la peau. Cela expliquerait pourquoi certaines substances sont sensibilisantes dans un tissu et pas dans un autre comme cela est souvent observé. Il apparaît donc que c'est la réaction du tissu cutané qui instruit le message aux cellules
5 présentatrices de l'allergène : les cellules dendritiques vont alors le transmettre aux lymphocytes T dans le ganglion drainant.

Les Inventeurs ont mis en évidence que la peau constitue un modèle suffisant pour mettre en évidence des biomarqueurs spécifiques de la sensibilisation et/ou de
10 l'irritation chez l'homme et chez la souris, et qu'il n'est pas nécessaire d'ajouter d'autres types cellulaires si l'analyse des gènes identifiés est réalisée à un temps donné. Le modèle EPISKIN peut ainsi être le tissu de référence pour évaluer le caractère sensibilisant et/ou irritant d'un composant test.

15 Ainsi, la présente invention se rapporte à une méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test, de préférence du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test, comprenant les étapes de:

- a) mise en contact d'un composé test avec un échantillon biologique;
- b) mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par :
20 41BB (membre 9 de la superfamille du TNF), ABCA6 (Cassette de fixation de l'ATP, sous famille A membre 6), Adam 8 (ADAM metallopeptidase domaine 8), ADAM17 (disintegrine and metallopeptidase domaine 17), APC (adenomateux polypose coli), ATM (gène de l'ataxia telangiectasia), B7DC (PCD 1 ligand 2), BCL3 (Cellules B CLL/lymphome 3), BLC (CXC chimiokine ligand 13), BTK
25 (tyrosine kinase de l'agammaglobulinémie de Burton), CAECAM (Molécule d'adhésion cellulaire ressemblant à l'antigène carcinoembryonnaire 1), CASP1 (interleukine 1-beta convertase), CASP12 (caspase 12), CCR1 (CC chimiokine récepteur 1), CCR5 (CC chimiokine récepteur 5), CCR7 (CC chimiokine récepteur 7), CD122 (récepteur beta de l'interleukine 2), CD124 (récepteur de l'interleukine 4),
30 CD163 (CD163 molécule), CD209 (CD209 molécule), CD23 (récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE 2 (CD23)), CD244 (CD244 molécule), CD24A (CD24 molécule), CD25 (récepteur alpha de l'interleukine 2), CD34 (CD34

molécule), CD44 (CD44 molécule), CHEK1 (homologue du checkpoint 1), CLEC4E (lectine de type C domaine famille 4, membre E), CMYB (protéine c-myb), Colla (collagène, type I, alpha 1), Col3a1 (collagène, type III, alpha 1), CTGF (facteur de croissance du tissu connectif), CXCR5 (CXC chimiokine récepteur 5), CYCLINE1
5 (cycline E1), DR5 (Récepteur de mort 5), DR6 (Récepteur de mort 6), ELC (CC chimiokine ligand 1), EMBP (proteoglycane 3), ENG (endogline), EOT (CC chimiokine ligand 11), EOT2 (CC chimiokine ligand 24), FAK (protéine tyrosine kinase 2), FAS (Membre 6 de la superfamille du TNF récepteur), FOSB (FOSb), FYB (Protéine de fixation de FYN), G-CSF R (récepteur du facteur de croissance des colonies 3), GITRL (Membre 18 de la superfamille du TNF), GM-CSF R (sous unité alpha du récepteur du GM-CSF), HSP60 (chaperonine), HSP70 (Protéine de choc thermique à 70kDa), HYALURONIDASE (hyaluronoglucosaminidase 1), I309 (CC chimiokine ligand 1bis), ICOS (costimulateur inductible des cellules T), ID1 (Inhibiteur de la fixation de l'ADN 1), ID3 (Inhibiteur de la fixation de l'ADN 3),
15 IGSF3 (Membre 3 de la superfamille des immunoglobulines), IL-10RA (récepteur alpha de l'interleukine 10), IL-11RA (récepteur alpha de l'interleukine 11), IL-16 (interleukine 16), IL-17R (récepteur alpha de l'interleukine 17), IL1Ra (récepteur type 1 de l'interleukine 1), IL1RAP (protéine accessoire du récepteur de l'interleukine 1), IL-24 (interleukine 24), IP10 (CxC chimiokine ligand 13), ITAK
20 (CxC chimiokine ligand 11), ITGAM (CD11b antigène), ITGB6 (integrine, beta 6), JAK 3 (Janus kinase 3), JUNB (jun B proto-oncogene), KC (CxC chimiokine ligand 2), Krt13 (keratine 13), LAMA1 (laminine, alpha 1), LAMA3A (laminine alpha 3A), LAMC2 (laminine, gamma 2), LARC (CC chimiokine ligand 20), LIX (CxC chimiokine ligand 6), LPTN (C chimiokine ligand 1), LRP1 (Protéine apparentée au récepteur des lipoprotéines de faible densité 1), LSST (carbohydate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 4), LTA (lymphotoxine alpha), LTBR (récepteur de la lymphotoxine B), MARCKS (protéine kinase C riche en alanine myristoylaté), MCP1 (CC chimiokine ligand 13), MCP2 (CC chimiokine ligand 8), MCP3 (CC chimiokine ligand 7), MCP5 (CC chimiokine ligand 2), Mcpt6 (tryptase
30 beta 2), M-CSF (Facteur de stimulation des colonies de macrophage), MIG (CxC chimiokine ligand 9), MIP1G (CC chimiokine ligand 9), MMP2 (metallopeptidase de matrice 2), MMP9 (metallopeptidase de matrice 9), MR1 (récepteur au mannose C

type 1), MYD88 (Différenciation myeloide 88), Myh10 (Chaîne lourde de la Myosine 10), NCAM (molécule de l'adhésion cellulaire neurale), NFkB P105 (facteur nucléaire des cellules B-1), ONCM (oncostatine M), OSMR (récepteur oncostatine M), Procr (protéine C récepteur), RANTES (CC chimiokine ligand 5),
5 RGS1 (régulateur des G-protéine 1), RGS14 (régulateur des G-protéine 14), RGS16 (régulateur des G-protéine 16), RGS3 (régulateur des G-protéine 3), RIPK1 (récepteur interagissant avec la kinase serine-threonine 1), Sele (selectine E), SELP (selectine P), SLP76 (protéine du cytosol des lymphocytes 2), SMAD6 (MAD homologue 36), SOCS-2 (suppresseur du signaling des cytokines 2), SOCS-3
10 (suppresseur du signaling des cytokines 3), STAT2 (signal transducteur and activateur de transcription 2), TANK (membre de la famille TRAF associé au NF-KAPPA-B), TARC (CC chimiokine ligand 17), TECK (CC chimiokine ligand 25), Thbd (thrombomoduline), TIRAP (toll-interleukine 1 récepteur), TLR2 (toll-like récepteur 2), TNFRP75 (récepteur du TNF p75), TRAF1 (facteur associé au TNF récepteur 1),
15 TRAF3 (facteur associé au TNF récepteur 3), VAV1 (oncogène vav 1), VEGFR (FMS-like tyrosine kinase 1), VEGI (membre 15 de la superfamille du TNF), BDEFENSIN (defensine, beta 4), C10 (CC chimiokine ligand 6), CCR2 (CC chimiokine récepteur 2), CD160 (CD160 molécule), CD207 (CD207 molécule, langerine), CD83 (CD83 molécule), CJUN (oncogène jun), CLEC4D (lectine de type
20 C domaine famille 4, membre D), CLEC7A (Lectine de type C domaine famille 7, membre A), CMYC (v-myc), COX2 (synthase de prostaglandin-endoperoxide 2), CYCLINA1 (cycline A1), CYCLINE1 (cycline E1), CYP2E1 (cytochrome P450, famille 2, sousfamille E, polypeptide 1), CYP7A1 (cytochrome P450, famille 7, sous famille A, polypeptide 1), DAPK2 (kinase associée à la mort 2), EDA2R (récepteur
25 de l'ectodysplasine A2), EGR1 (gène de croissance précoce 1), EGR2 (gène de réponse précoce 2), FCER1 (récepteur de haute affinité pour le fragment Fc des IgE), Fcgr1 (antigène CD64), FTH1P (ferritine, polypeptide lourd 1), GATA-2 (Protéine de fixation GATA-2), GATA-3 (Protéine de fixation GATA-3), HISTR2 (récepteur de l'histamine 2), ICAM2 (molécule d'adhésion intercellulaire 2), IEX1 (gène de la
30 réponse immédiate 1), IL12rb (récepteur bêta 1 de l'interleukine 12), IL-15 (interleukine 15), IL-19 (interleukine 19), IL-20 (interleukine 20), JUNK1 (protéine kinase activée par les mitogènes 8), JUNK2 (protéine kinase activée par les

mitogènes 9), Krt17 (keratine 17), Krt6 (keratine 6B), LY9 (antigène CD229), LY96 (lymphocyte antigen 96), LYN (v-yes-1), MIP1A (CC chimiokine ligand 3), MKP1 (phosphatase de spécificité duale 1), MKP3 (Protéine kinase activée par les mitogènes 3), MMP12 (metallopeptidase de matrice 12 (elastase du macrophage)),
5 MYELOPEROXIDASE (MPO), NOTCH3 (Notch homologue 3 (Drosophile)), PPARA (récepteur alpha du peroxisome activé par la prolifération), , St6gal1 (ST6 beta-galactosamide alpha-2,6-sialyltransferase 1), TECK (CC chimiokine ligand 25), TLR13 (Récepteur Toll-Like 13), Tpsab1 (tryptase alpha/beta 1), VEGF (facteur de croissance endothelium vasculaire A), ZAP70 (protéine kinase associée à la chaîne
10 zeta (TCR) 70kDa), CCL2 (CC chimiokine ligand 2), CCL20 (CC chimiokine ligand 20), CCL22 (CC chimiokine ligand 22), CD207 (langerine), CDH3 (cadherine 3), CDSN (corneodesmosine), FASCIN (fascine), IL2RG (récepteur de l'interleukine 2 chaîne gamma), IL4R (récepteur de l'interleukine 4), KRT17 (Keratine 17), KRT2 (Keratine 2), LCP1 (Protéine du cytosol lymphocytaire 1), MMP9 (metallopeptidase
15 de la matrice 9), NRF2 (Facteur nucléaire issus des erythrocytes 2), PDZK1IP1 (protéine d'interaction PDZK1), S100A4 (Protéine fixant le calcium S100 A4), S100A7 (Protéine fixant le calcium S100 A7), S100A9 (Protéine fixant le calcium S100 A9), STAT1 (signal transducteur et activateur de la transcription 1), TPSAB1 (tryptase alpha/beta 1), TYR (tyrosinase), VIM (Vimentine), CCL27 (CC chimiokine
20 ligand 27), CLEC4A (lectine de type C domaine famille 4, membre A), DSC1 (desmocolline 1), DSG2 (desmogleine 2), EPHX1 (hydrolase epoxide 1), GUSB (glucuronidase, beta), IL10RB (récepteur beta de l'interleukin 10), IL20RA (récepteur alpha de l'interleukin 20), IL22R (récepteur de l'interleukine 22), KEAP1 (Protéine associée ressemblant à kelch 1), KRT10 (Keratine 10), KRT14 (Keratine
25 14), KRT18 (Keratine 18), LOR (Loricrine), S100A11 (Protéine fixant le calcium S100 A11), SERPINB3 (Serpine B3), STAT3 (signal transducteur et activateur de la transcription 3), TIMP3 (inhibiteur tissulaire de metalloproteinase 3), et VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire), de préférence dans le groupe
30 constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT,

EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, 5 LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, 10 CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

De préférence, la méthode selon la présente invention peut comprendre en outre une étape c) de détermination du potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test, 15 de préférence du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test.

Préférentiellement, ladite étape c) peut consister en une étape de sélection dudit composé comme présentant un potentiel sensibilisant et/ou irritant, de préférence un potentiel sensibilisant et irritant, si le niveau d'expression est supérieur à une valeur seuil. 20

De préférence, la méthode selon la présente invention est une méthode *in vitro*.
Tel qu'utilisé ici, le terme « échantillon biologique » se réfère à tout échantillon solide ou liquide issu d'un sujet.

De préférence, ledit échantillon biologique est un échantillon de peau. 25 Dans un mode de réalisation particulier, l'échantillon de peau est un échantillon de peau reconstruite *in vitro*, comme le EpiSkin (EPISKIN, Lyon France), EpiDerm™ (MATEK Corporation, Ashland, MA)) ou SkinEthic™ RHE (SKINETHIC, Nice, France).

De manière encore préférée, l'échantillon de peau ne comprend pas l'addition 30 d'autres types cellulaires supplémentaires, et encore préférentiellement pas de cellules de Langerhans supplémentaires.

Au sens de la présente invention, la mesure de l'expression dudit au moins un gène de l'étape b) permet de déterminer le niveau d'expression dudit gène.

Le composé test peut être un composé de nature, structure et origine variées, notamment un composé biologique, un composé chimique, synthétique, etc.

Le composé test peut être tout produit qui se présente sous une forme isolée ou en mélange avec d'autres produits. Le composé test peut être défini en termes de structure et/ou de composition ou être défini sur le plan fonctionnel. Le composé test peut, par exemple, être un produit isolé et structurellement défini, un produit isolé de structure indéfinie, un mélange de produits connus et caractérisés ou une composition comprenant un ou plusieurs produits. Un ou plusieurs composés peuvent ainsi être testés, en mélange ou de manière séparée.

De telles compositions peuvent être, par exemple, des échantillons d'un produit cosmétique ou dermatologique.

De préférence, ledit composé test est apte à être utilisé sur la peau et peut être utilisé dans une composition cosmétique ou dermatologique.

La présente invention est particulièrement adaptée à l'identification du potentiel sensibilisant et irritant d'un nombre important de composés. Ce criblage simple et efficace peut être accompli en un laps de temps très court. Les méthodes décrites peuvent en particulier être partiellement automatisées, autorisant ainsi le criblage efficace et simultané de composés divers et nombreux, soit sous forme de mélange soit sous forme séparée.

De préférence, dans la méthode selon la présente invention, le niveau d'expression dudit gène est évalué par mesure du niveau d'expression du polypeptide codé par ledit gène ou un fragment de celui-ci, ou par mesure du niveau d'expression de l'ARNm dudit gène ou d'un fragment de celui-ci.

Dans un mode de réalisation préféré, l'expression dudit au moins un gène est effectuée par analyse de l'expression de transcrits d'ARNm ou de précurseurs d'ARNm, tel qu'un ARN natif, dudit gène. Ladite analyse peut être réalisée en préparant l'ARNm/ADNc de cellules d'un échantillon biologique d'un patient, et
5 hybridation de l'ARNm /ADNc avec un polynucléotide de référence. L'ARNm/ADNc préparé peut être utilisé dans une analyse par hybridation ou amplification qui inclut, sans s'y limiter, les analyses Southern et Northern, les analyses par PCR (« polymerase chain reaction »), telle que la PCR quantitative (Taqman) et l'utilisation de sondes (« probes arrays ») telles que les matrices ADN
10 GeneChip®(AFFYMETRIX).

Avantageusement, l'analyse de l'expression du niveau d'ARNm transcrit dudit au moins un gène implique un procédé d'amplification des acides nucléiques, comme par exemple la RT-PCR (mode de réalisation expérimental décrit dans le Brevet US 4,683,202), la réaction en chaîne par la ligase (BARANY, Proc. Natl. Acad. Sci.
15 USA, vol.88, p: 189-193, 1991), la répllication de séquences auto-entretenu (« self sustained sequence replication ») (GUATELLI et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol.87, p: 1874-1878, 1990), le système d'amplification transcriptionnelle. (KWOH et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol.86, p: 1173-1177, 1989), la « Q-Beta Replicase » (LIZARDI et al., Biol. Technology, vol.6, p: 1197, 1988), la « rolling
20 circle replication » (U. S. Patent No. 5,854,033) ou toute autre méthode d'amplification d'acides nucléiques, suivie d'une étape de détection des molécules amplifiées par des techniques bien connues de l'homme du métier. Ces modes de détection sont particulièrement utiles pour la détection de molécules d'acides nucléiques en très faibles quantités.

25 Ainsi, selon un mode de réalisation préféré, la méthode selon la présente invention comprend une étape supplémentaire d'amplification de l'ARNm ou de l'ADNc dudit gène, de la séquence complémentaire de celle-ci ou d'un fragment de celle-ci.

Telles qu'utilisées ici, les amorces d'amplifications sont définies comme étant une
30 paire de molécules d'acides nucléiques qui peuvent s'apparier respectivement aux régions 3' et 5' d'un gène de façon spécifique (brins positif et négatif, ou inversement) et encadrent une courte région dudit gène. De manière générale, les

amorces d'amplification ont une longueur de 10 à 30 nucléotides et permettent l'amplification d'une région d'une longueur comprise entre 50 et 200 nucléotides.

Avantageusement, les amorces utilisées dans le cadre de la présente invention sont choisies parmi celles listées dans les tableaux 1 à 4.

5

Dans un autre mode de réalisation préféré, la mesure de l'expression dudit au moins un gène est réalisée par mesure du niveau d'expression du polypeptide codé par ledit gène. Ladite analyse peut être réalisée en utilisant un anticorps (par exemple, un anticorps radiomarqué, marqué avec un chromophore, un fluorophore, ou une enzyme), un dérivé d'anticorps (par exemple un anticorps conjugué à un substrat ou à une protéine ou un ligand d'une protéine d'un couple ligand/protéine (par exemple biotine-streptavidine)) ou un fragment d'anticorps (par exemple un anticorps à une seule chaîne, un domaine hypervariable d'un anticorps isolé, etc.) qui se lie spécifiquement au polypeptide codé par ledit gène. Lesdites analyses peuvent être réalisées par de nombreuses techniques à la portée de l'homme du métier incluant, sans s'y limiter, les tests immunologiques basés sur l'utilisation d'activité enzymatique (« enzyme immunoassay » EIA), les tests immunologiques basés sur l'utilisation d'isotopes radioactifs (RIA), l'analyse par Western blot et les tests ELISA (« enzyme linked immunoabsorbant assay »).

20

Au sens de la présente invention, on entend par « polypeptide » une séquence comprenant au moins deux acides aminés, et les termes « polypeptide », « peptide » et « protéine » peuvent être indifféremment utilisés.

25 Par « fragment de l'ARNm ou de l'ADNc », on entend une séquence d'au moins 50 acides nucléiques, à titre d'exemple d'au moins 100 ou 150 acides nucléiques, de préférence d'au moins 200 acides nucléiques, à titre d'exemple d'au moins 250 ou 350 acides nucléiques, et de manière particulièrement préférée un polypeptide d'au moins 400 acides nucléiques.

30

Par « fragment du polypeptide », on entend une séquence d'au moins 50 acides aminés, à titre d'exemple d'au moins 100 ou 150 acides aminés, de préférence d'au

moins 200 acides aminés, à titre d'exemple d'au moins 250 ou 350 acides aminés, et de manière particulièrement préférée un polypeptide d'au moins 400 acides aminés.

Préférentiellement, ladite méthode permet d'évaluer le potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test, de préférence du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test, chez l'homme, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR, VIM, CCL27, CLEC4A, DSC1, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, STAT3, TIMP3, et VEGF.

Encore préférentiellement, ladite méthode permet d'évaluer le potentiel sensibilisant d'un composé test chez l'homme, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : CCL27, CLEC4A, DSC1, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, STAT3, TIMP3 et VEGF.

Alternativement, ladite méthode permet d'évaluer le potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test chez l'homme, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

Préférentiellement, ladite méthode permet d'évaluer le potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test, de préférence le potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test, chez la souris, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure du niveau d'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23,

CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, BDEFENSIN, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A, CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, EDA2R, EGR2, FCER1, Fcgr1, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19, IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, MYELOPEROXIDASE, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, Tpsab1, VEGF et ZAP70.

Encore préférentiellement, ladite méthode permet d'évaluer le potentiel sensibilisant d'un composé test chez la souris, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : BDEFENSIN, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A, CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, DAPK2, EDA2R, EGR2, FCER1, Fcgr1, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19, IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, MYELOPEROXIDASE, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, Tpsab1, VEGF et ZAP70.

Alternativement, ladite méthode permet d'évaluer le potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test chez la souris, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244,

CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Col1a, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, 5 IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, 10 STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR et VEGI.

De préférence, l'étape b) de ladite méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et/ou irritant, de préférence du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test, 15 comprend la mesure de l'expression d'au moins 2, d'au moins 3, d'au moins 4, d'au moins 5, d'au moins 6, d'au moins 7, d'au moins 8, d'au moins 9, d'au moins 10, d'au moins 11, d'au moins 12, d'au moins 13, d'au moins 14, d'au moins 15, d'au moins 16, d'au moins 17, et encore préférentiellement d'au moins 18 gènes choisis dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, 20 B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Col1a, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL- 25 10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, 30 Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, BDEFENSIN, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A,

CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, EDA2R, EGR2, FCER1, Fcgr1, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19, IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, MYELOPEROXIDASE, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, 5 Tpsab1, VEGF, ZAP70, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR, VIM, CCL27, CLEC4A, DSC1, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, STAT3, TIMP3 et VEGF.

10

Encore préférentiellement, l'étape b) de ladite méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test, comprend la mesure de l'expression d'au moins 2, d'au moins 3, d'au moins 4, d'au moins 5, d'au moins 6, d'au moins 7, d'au moins 8, d'au moins 9, d'au moins 10, d'au moins 11, d'au moins 12, d'au moins 13, 15 d'au moins 14, d'au moins 15, d'au moins 16, d'au moins 17, et encore préférentiellement d'au moins 18 gènes choisis dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, 20 CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, 25 LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, 30 CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

Ainsi, on pourra conclure qu'un composé test présente un potentiel sensibilisant et/ou irritant, de préférence un potentiel sensibilisant et irritant, si une surexpression d'au moins 2, d'au moins 3, d'au moins 4, d'au moins 5, d'au moins 6, d'au moins 7, 5 d'au moins 8, d'au moins 9, d'au moins 10, d'au moins 11, d'au moins 12, d'au moins 13, d'au moins 14, d'au moins 15, d'au moins 16, d'au moins 17 et encore préférentiellement d'au moins 18 desdits gènes est observée par rapport à leurs niveaux d'expression en l'absence dudit composé test.

10 On entend par « potentiel sensibilisant », le risque pour le composé test de provoquer une réaction immunologique lors de sa mise en contact avec un mammifère, de préférence un humain. Ainsi, le potentiel sensibilisant peut être considéré comme le risque de développer une allergie au contact du composé test.

15 On entend par « potentiel irritant », le risque pour le composé test de provoquer une inflammation réversible des tissus vivants par action chimique au site de contact.

Ainsi, dans un mode de réalisation particulier, la présente invention se rapporte à une méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant d'un composé test, comprenant les 20 étapes de:

- a) mise en contact d'un composé test avec un échantillon biologique;
- b) mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : BDEFENSIN, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A, CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, EDA2R, EGR2, 25 FCER1, Fcgr1, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19, IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, MYELOPEROXIDASE, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, Tpsab1, VEGF, ZAP70, CCL27, CLEC4A, DSC1, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, , KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, 30 STAT3, TIMP3 et VEGF.

De préférence, l'étape b) de ladite méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant comprend la mesure de l'expression d'au moins 2, d'au moins 3, d'au moins 4, d'au moins 5, d'au moins 6, d'au moins 7, et encore préférentiellement d'au moins 8 gènes choisis dans le groupe constitué par : BDEFENSIN, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A, CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, EDA2R, EGR2, FCER1, Fcgr1, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19, IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, MYELOPEROXIDASE, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, Tpsab1, VEGF, ZAP70, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, STAT3, TIMP3 et VEGF.

De préférence, la méthode selon la présente invention permet d'évaluer si le composé test est susceptible de provoquer une allergie de contact ou dermatite atopique.

15

De préférence, la méthode selon la présente invention comprend en outre une étape de comparaison du niveau d'expression dudit gène avec une valeur de référence. Cette valeur de référence peut servir de contrôle positif et/ou négatif.

20 Un contrôle positif peut par exemple être effectué en comparant le niveau d'expression dudit au moins un gène en présence du composé test avec le niveau d'expression dudit au moins un gène en présence d'un composé connu comme sensibilisant et/ou irritant.

25 Par exemple, si le niveau d'expression dudit au moins un gène en présence du composé test est supérieur ou égal au niveau d'expression dudit au moins un gène en présence d'un composé connu comme sensibilisant et/ou irritant, on pourra en conclure au potentiel sensibilisant et/ou irritant dudit composé.

30 A titre d'exemple de composé connu comme sensibilisant, on peut citer l'acide 2,4,6-trinitrobenzene sulfonique, la p-phénylenediamine, le dinitrochlorobenzène, le benzaldehyde, le résorcinol, le disulfure de tétraméthyl thiurame, l'oxazolone, le

chloroAtranol, le diphenylcyclopropénone le potassium dichromate, l'aldéhyde cinnamique, le 2-Bromo-2-(bromométhyl)glutaronitrile, le glyoxal, la saccharine, le formaldéhyde, l'anhydride trimellitique, le méthylchloroisothiazolinone, le benzoate de benzyl, l'alpha-hexyl cinnamaldehyde, l'eugenol, le 2-mercaptobenzothiazole, l'oeugenol, la diphenylcyclopropénone (DPCP), le lauryl gallate (LG), la 3-3-diméthylaminopropylamine (3-DMAPA), l'aldéhyde cinnamique (CA), le citral (Cal), la 1,4-hydroquinone (HQ), le glutaraldéhyde (GA), la 1,2-benzisothiazolin-3-one (Ben), la phénylaldéhyde (PA) et le lialial (Li), préférentiellement parmi la diphenylcyclopropénone, le lauryl gallate, la 1,4-hydroquinone et le glutaraldéhyde, et de manière particulièrement préférée la 1,4-hydroquinone.

Alternativement, dans le cadre de la présente invention, on peut utiliser une composition sensibilisante, comme le « fragrance mix ».

15

A titre d'exemple de composé connu comme irritant, on peut citer le LaurylSulfate de Sodium (SLS), l'acide octanoïque, le cholobenzene, l'acide lactique, le bromobutane, le méthyl salicylate et le butanol.

20 Un contrôle négatif peut être réalisé en l'absence du composé test ou en présence d'un composé connu comme non sensibilisant et non irritant comme par exemple l'huile d'olive, l'huile d'olive ou du glycérol, le cetyl triméthylammonium bromide (CTAB) et le dipropylène glycol.

25 Dans le cadre de la présente invention, on pourra conclure qu'un composé test présente un potentiel sensibilisant et/ou irritant de préférence un potentiel sensibilisant et irritant, si une surexpression dudit gène est observée par rapport à son niveau d'expression en l'absence dudit composé test.

30 On entend par « surexpression », un niveau d'expression significativement plus élevé dudit gène par rapport à son niveau d'expression normal. De préférence, on entend par surexpression un niveau d'expression dans un échantillon biologique qui est

supérieur à au moins 20% du niveau normal d'expression dudit gène, de préférence supérieur à au moins 50% du niveau normal d'expression dudit gène, et de manière particulièrement préférée supérieur à au moins 90% au niveau normal d'expression dudit gène.

5

Le « niveau d'expression en l'absence dudit composé test » ou « niveau normal » est le niveau d'expression dudit gène dans un échantillon contrôle correspondant potentiellement à l'échantillon biologique d'un patient ne présentant pas de réaction de sensibilisation et/ou d'irritation ou, de préférence, à la moyenne du niveau
10 d'expression dudit gène dans différents échantillons contrôle.

De préférence, l'étape b) est réalisé entre 2 et 24 heures après l'étape a), de manière encore préférée entre 4 et 18 heures après l'étape a), de manière particulièrement préférée entre 5 et 7 heures après l'étape a) et de manière préférée entre toute 6
15 heures après l'étape a).

Selon un autre aspect, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5,
20 CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK,
25 ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC,
30 TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, BDEFENSIN, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A, CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, EDA2R, EGR2,

FCER1, Fcgr1, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19, IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, Tpsab1, VEGF, ZAP70, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, DEFB1, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, 5 KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR, VIM, CCL27, CLEC4A, DSC1, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, STAT3, TIMP3, et VEGF, pour l'évaluation *in vitro* du potentiel sensibilisant et/ou irritant d'un composé test.

10

De préférence, selon un autre aspect, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, 15 CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, 20 LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, 25 VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM pour l'évaluation *in vitro* du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test.

30 La présente invention se rapporte également à une trousse pour la mise en œuvre de la méthode selon la présente invention, comprenant des moyens de détection du niveau d'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB,

ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

De préférence, ladite trousse comprendra au moins une paire d'amorces permettant l'amplification d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, C10, CCR2, CD160, CD207, CD83, CJUN, CLEC4D, CLEC7A, CMYC, COX2, CYCLINA1, CYCLINE1, CYP2E1, CYP7A1, EDA2R, EGR2, FCER1, Fcgr1, FTH1P, GATA-2, GATA-3, HISTR2, ICAM2, IEX1, IL12rb, IL-15, IL-19,

IL-20, JUNK1, JUNK2, Krt17, Krt6, LY9, LY96, LYN, MIP1A, MKP1, MKP3, MMP12, MYELOPEROXIDASE, NOTCH3, PPARA, St6gal1, TECK, TLR13, Tpsab1, VEGF, ZAP70, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR, VIM, CCL27, CLEC4A, DSC1, DSG2, EPHX1, GUSB, IL10RB, IL20RA, IL22R, KEAP1, KRT10, KRT14, KRT18, LOR, S100A11, SERPINB3, STAT3, TIMP3 et VEGF.

De préférence, ladite trousse comprendra au moins une paire d'amorces permettant l'amplification d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

25

Exemples

1) Protocole LLNA

30 *Animaux*

Des souris CBA/J provenant des distributeurs européens ont été utilisées. L'âge des animaux était compris entre 7 et 12 semaines. Les animaux ont été maintenus dans

des conditions standard et ont eu un accès libre à la nourriture et l'eau. 2 animaux par groupe ont été utilisés.

Traitement

- 5 La face dorsale de chaque oreille a été traitée avec 25 µl/oreille de la solution test. Le diluant utilisé était l'Acetone/Huile d'olive (50/50 v/v) ou DMF. Les substances testées sont alpha hexyl cinnamaldehyde (HCA) 25%, Isoeugenol, 50%, Lauryl sulfate (SLS) 50%, Hydroxy citronelal (OHC), 50%; PPD 0,1%, acide octanoïque
- 10 un punch de 8mm et le feuillet externe a été retiré avec des pinces et immédiatement congelé dans l'azote liquide.

Résultats

- Les résultats des tableaux 1 et 2 sont exprimés en taux d'augmentation par rapport au
- 15 témoin négatif. La moyenne des taux d'expression au 3 temps de la cinétique (3h, 6h et 24h après application de la substance) a été calculée. Le tableau 1 présente la liste des gènes qui sont induits à la fois par les substances sensibilisantes et irritantes et le tableau 2 celui des gènes spécifiquement induits par les substances sensibilisantes.
- L'expression de ces gènes n'est pas augmentée en réponse au véhicule qui a servi de
- 20 contrôle.

Abréviation	Nom du gène	Nom anglais	Numéro d'accès	Taux d'augmentation par les irritants	Taux d'augmentation par les sensibilisants	Amorce sens	Amorce antisens
41BB	membre 9 de la superfamille du TNF	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9	NM_001077509.1	10,2	6,1	TTACCTTGTTCCCTGGGGCT (SEQ ID NO : 1)	TTCCCTTIGAGCTGCTCCA (SEQ ID NO : 2)
ABCA6	Cassette de fixation de l'ATP, sous famille A membre 6	ATP-binding cassette, subfamily A (ABC1), member 6	NM_147218.1	1,5	1,7	TGCTCAAGAAATGGGGGAGGGAAGA (SEQ ID NO : 3)	TAGACTTCCAAGATCC TGAGGAGGGA (SEQ ID NO : 4)
Adam 8	ADAM metallopeptidase domaine 8	ADAM metallopeptidase domain 8	NM_007403.2	1,7	1,7	AGAGTCTGAGCTATGCTCTGGGA (SEQ ID NO : 5)	TTGCTCTGTACCTCA GAGCCATT (SEQ ID NO : 6)
ADAM17	disintegrine and metallopeptidase domaine 17	a disintegrin and metallopeptidase domain 17	NM_009615.5	1,7	1,7	TTCCAAAAGGGGCTCATAGACAGA (SEQ ID NO : 7)	CTCTCCACGGCCCATG TATTTAT (SEQ ID NO : 8)
APC	adenomateux polypose coli	adenomatous polyposis coli	NM_007462.2	1,5	1,8	GAGAAAGCGTGACACAGCGAAGA (SEQ ID NO : 9)	CTTCGTGCTGCCGGCC AGCTTCAT (SEQ ID NO : 10)
ATM	gène de l'ataxia telangiectasia	ataxia telangiectasia mutated	NM_007499.1	1,4	2	TGCATGTCATTCAGGCAACGTTTG (SEQ ID NO : 11)	GACATTAATTTGTCTCA GCTGCTTG (SEQ ID NO : 12)
B7DC	PCD 1 ligand 2	programmed cell death 1 ligand 2	NM_021396.11	3,1	6,4	ACAACACCAGCCACATCAGGAC (SEQ ID NO : 13)	AGTCCGACTCAGAGG GTCAAATG (SEQ ID NO : 14)
BCL3	Cellules B CLL/lymphome 3	B-cell CLL/lymphoma	NM_033601.1	3,9	3,5	TAGCCGCTGTCTACCGAATACTCA (SEQ ID NO : 15)	AAGAGCCGGACCATG TCTGGTAAT (SEQ ID NO : 16)

BLC	CXC chimiokine ligand 13	chemokine (C-X-C motif) ligand 13	NM_018866.2	3,1	15,6	ACAGCAACGGCTGCTTC TCCTCCTG (SEQ ID NO : 17)	TTGAAATCACTCCAGA ACACCTAC (SEQ ID NO : 18)
BTK	tyrosine kinase de l'agammaglobulinemie de Burton	Bruton agammaglobulinemia tyrosine kinase	NM_013482.1	2,4	2	TGAAAACCTGGGAGTT CTCATCGA (SEQ ID NO : 19)	TTCATTGGCATGTAAT CATAAAGG (SEQ ID NO : 20)
CAECAM	Molécule d'adhision cellulaire ressemblant à l'antigène carcinoembryonnaire 1	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (biliary glycoprotein)	NM_001039187.1	1,5	2,3	GCGACTGTGCGATTTTC ATG (SEQ ID NO : 21)	GCTATTGAAGAGCCAC TGGATGT (SEQ ID NO : 22)
CASP1	interleukine 1-beta convertase	interleukin 1-beta convertase	NM_009807.2	1,3	2,2	TATGCCCTGGTCTTGTG ACTTGGAG (SEQ ID NO : 23)	GCAGTGGGCATCTGTA GCCATAAT (SEQ ID NO : 24)
CASP12	caspase 12	caspase 12 (gene/pseudogene)	NM_009808.3	1,9	2,2	ACATTGCCAAATCCCA GGAACAGC (SEQ ID NO : 25)	GGCCAAATCCAGCATTT ACCTCCAT (SEQ ID NO : 26)
CCR1	CC chimiokine recepteur 1	chemokine (C-C motif) receptor 1	NM_009912.3	2,1	3	ACTTAAGGCCCCAGTGG GAGTTCAC (SEQ ID NO : 27)	AGTCTTCCACTGCTTC AGGCTCTT (SEQ ID NO : 28)
CCR5	CC chimiokine recepteur 5	chemokine (C-C motif) receptor 5	NM_009917.3	2,6	3,5	TTCAGTGTCTTCCGA AAAC (SEQ ID NO : 29)	TTCTCCTGTGGATCGG GTATAGA (SEQ ID NO : 30)
CCR7	CC chimiokine recepteur 7	chemokine (C-C motif) receptor 7	NM_007719.2	3,2	5,4	GTGGCTCTCCTTGTTCAT TTTC (SEQ ID NO : 31)	GTGGTAATCTCGCCGA TGATAGT (SEQ ID NO : 32)
CD122	recepteur beta de l'interleukine 2	interleukin 2 receptor beta	NM_008368.3	1,5	2	GTCCAGGTGAGGGTCA AAGC (SEQ ID NO : 33)	ATAACAACCAAGGAC CAGCAGAAG (SEQ ID NO : 34)
CD124	recepteur de l'interleukine 4	interleukin 4 receptor	NM_011888.2	1,6	2,7	GCTGTCTGATTTTGCTG TTG (SEQ ID NO : 35)	TGTAGTGTAGGCAGA GCTGAGAAC (SEQ ID NO : 36)

CD163	CD163 molecule	CD163 molecule	CD163 molecule	NM_053094.1	1,6	1,8	CGAAGGACATGAGGC AACTCT (SEQ ID NO : 37)	TCAGAACATGTACAC CAGCGTCT (SEQ ID NO : 38)
CD209	CD209 molecule	CD209 molecule	CD209 molecule	NM_130905.2	2	2,4	ACAAGGAAGGAGAAT GGTACTGGC (SEQ ID NO : 39)	TCACATTTGGCATCAT TCCAGCCG (SEQ ID NO : 40)
CD23	recepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE 2 (CD23)	recepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE 2 (CD23)	Fc fragment of IgE, low affinity II, receptor for (CD23)	NM_013517.2	1,5	2,4	AATGAAAAGCTCAGGAC TCTCGGCT (SEQ ID NO : 41)	TTTGAGTTCTGGGATT GGGCGTTC (SEQ ID NO : 42)
CD244	CD244 molecule	CD244 molecule	CD244 molecule, natural killer cell receptor 2B4	NM_018729.2	3	2	GCACACATACACCTGC AAGCT (SEQ ID NO : 43)	GATGGCCCCGAGAAA TAATG (SEQ ID NO : 44)
CD24A	CD24 molecule	CD24 molecule	CD24 molecule	NM_009846.2	2,2	2,2	ACCCACGCAGATTTAC TGCAA (SEQ ID NO : 45)	ATACCCCTCTGGTGGT AGCGTTAC (SEQ ID NO : 46)
CD25	recepteur alpha de l'interleukine 2	recepteur alpha de l'interleukine 2	interleukin 2 receptor, alpha	NM_008367.2	4	3,5	TTGTGGGCAGAACTG TGTTCT (SEQ ID NO : 47)	TCCAGGAGTTTCCTAA GCAA (SEQ ID NO : 48)
CD34	CD34 molecule	CD34 molecule	CD34 molecule	NM_133654.1	1,1	2,2	ATCATCTTCTGCTCCG AGTGCCAT (SEQ ID NO : 49)	CACCTAGTTCAGGCA GATACCCT (SEQ ID NO : 50)
CD44	CD44 molecule	CD44 molecule	CD44 molecule (Indian blood group)	CD44	2	1,8	AGAAGACAACCAGGA CTGGAC (SEQ ID NO : 51)	TCTCCTTTCATCCTG ATACTCAT (SEQ ID NO : 52)
CHEK1	homologue du checkpoint 1	homologue du checkpoint 1	CHK1 checkpoint homolog (S. pombe)	NM_007691.3	1,3	2,3	TGCTCAGAGGTTCTTC CACCAAAT (SEQ ID NO : 53)	CGTTGCCAAGCCAAA GTCAGAGAT (SEQ ID NO : 54)
CLEC4E	lectine de type C domaine famille 4, membre E	lectine de type C domaine famille 4, membre E	C-type lectin domain family 4, member E	NM_019948.2 1	5,9	11	ATTCAACCAAATCGCC TGCATCCC (SEQ ID NO : 55)	AACAGCCACTGAGAA ACAGGATGG (SEQ ID NO : 56)
CMYB	proteine c-myb	proteine c-myb	c-myb protein	NM_010848.3	1,3	2,3	TGAACCCCTGAACTCAT CAA (SEQ ID NO : 57)	ACCAAACGCTTCGGACC ATA (SEQ ID NO : 58)
Colla	collagène, type I, alpha 1	collagène, type I, alpha 1	collagen, type I, alpha 1	NM_007742.3	2,3	2	CCTCCTGGCAAGAATG GAGATGAT (SEQ ID	TGAAGCCTCGGTGTC CTTCATT (SEQ ID NO :

Col3a1	collagène, type III, alpha 1	collagen, type III, alpha 1	NM_009930.1	1,7	1,7			NO : 59)	60)
CTGF	facteur de croissance dy tissu connectif	connective tissue growth factor	NM_010217.1	1,9	1,9	2,2	2,2	ACACAAGGGCCCTCTTC TGCGAATT (SEQ ID NO : 63)	TTTGCAGCTGCTTTGG AAGGACTC (SEQ ID NO : 64)
CXCR5	CXC chimiokine recepteur 5	chemokine (C-X-C motif) receptor 5	NM_007551.2	3,6	3,6	3,8	3,8	TAACTGTGATCGCTCT GCACAAG (SEQ ID NO : 65)	CGGCGGTAGGCGGTGA ACAGCA (SEQ ID NO : 66)
CYCLINE1	cycline E1	cyclin E1	NM_007633.2	1,5	1,5	2,4	2,4	ATGACCCAGATGAAGA AATTGCCA (SEQ ID NO : 67)	TCAAGCTCATTGTCCT CTTCTTTG (SEQ ID NO : 68)
DR5	Recepteur de mort 5	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10a	NM_020275.3	1,7	1,7	2	2	TGGAAGACTGGAGCAT GGA (SEQ ID NO : 69)	ATTAGCCAGGTTCCCGT GTTGTG (SEQ ID NO : 70)
DR6	Recepteur de mort 6	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 21	NM_178589.3	1,6	1,6	1,7	1,7	TTCTCACCCCTGAGCAT ATGGA (SEQ ID NO : 71)	ATAGCTCGTATTGTCA GGCACTGT (SEQ ID NO : 72)
ELC	CC chimiokine ligand 1	chemokine (C-C motif) ligand 1	NM_011888.2	2,4	2,4	3,3	3,3	CTGGGAACATCGTGAA AGCCTTCC (SEQ ID NO : 73)	TGGAGGTGCACAGAG CTGATAGCC (SEQ ID NO : 74)
EMBP	proteoglycane 3	proteoglycan 3	NM_016914.2	2	2	2	2	CAGGAAGCAGATGGTT CGAG (SEQ ID NO : 75)	TCTTGGTGTGGGAAC CCTC (SEQ ID NO : 76)
ENG	endogline	endoglin	NM_007932.1	1,2	1,2	2	2	AAATCCCGTTGCACCTT GGCCTACG (SEQ ID NO : 77)	TGTTTCTCGGAGGTAA GGGATGGT (SEQ ID NO : 78)
EOT	CC chimiokine ligand 11	chemokine (C-C motif) ligand 11	NM_011330.2	2,5	2,5	1,8	1,8	CTTCCCTCACCTCCCAG GTGCTGG (SEQ ID NO : 79)	TTGTTGGTGAATTCCTTT GTAGCTC (SEQ ID NO : 80)

EOT2	CC chimiokine ligand 24	chemokine (C-C motif) ligand 24	NM_019577.4	2,8	3,8	GAAAGGCCATAAGATC TGTA CTGA (SEQ ID NO : 81)	GCAAACCTTGGTTCTCA CTGCCTTG (SEQ ID NO : 82)
FAK	proteine tyrosine kinase 2	PTK2 protein tyrosine kinase 2 (Ptk2)	NM_0011304 09.1	1,2	1,7	ATACAGAAAGAAAGGT GAACGGGC (SEQ ID NO : 83)	ATAGGTCGAGGGGCAT GGTGTATG (SEQ ID NO : 84)
FAS	Membre 6 de la superfamille du TNF récepteur	Fas (TNF receptor superfamily, member 6)	NM_007987.1	4	2,2	ACGATGCACAGCAACC AGCAATAC (SEQ ID NO : 85)	ACAGGTCATCCTGTGTC TCCTTTTC (SEQ ID NO : 86)
FOSB	FOSb	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	NM_008036.2	1,2	2,2	CAGAGCCAGGCCTAGA AGA (SEQ ID NO : 87)	CGACGGTTCCTGCACT TAG (SEQ ID NO : 88)
FYB	Protéine de fixation de FYN	FYN binding protein (FYB- 120/130)	NM_011815.2	1,6	1,9	TTGCAGGACAAAGCTC GCCTTCTGG (SEQ ID NO : 89)	TAGCAAATTTAGGCAT GCTGCTGG (SEQ ID NO : 90)
G-CSF R	récepteur du facteur de croissance des colonies 3	granulocyte colony-stimulating factor receptor 3	NM_007782.1	5	4,4	TGGCAAAAGAAAGAGGC AGAAC (SEQ ID NO : 91)	AGCATGGGAGGGCTCC AATT (SEQ ID NO : 92)
GITRL	Membre 18 de la superfamille du TNF	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 18	NM_183391.2	14,2	7,6	GCTCTTGTGCATAGTG GCTCTGTT (SEQ ID NO : 93)	TTAACCATGCAGGACT CGATGGCA (SEQ ID NO : 94)
GM-CSF R	sous unité alpha du récepteur du GM-CSF	GM-CSF receptor alpha subunit	NM_009970.1	1,2	1,8	ATCACATGCCATGAAC ATCA (SEQ ID NO : 95)	AGCCAGAAGGGCCTG AGTT (SEQ ID NO : 96)
HSP60	chaperonine	heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), nuclear gene encoding mitochondrial protein	NM_010477.4	1,2	1,7	TCTGGCACGATCTATT GCCAAGGA (SEQ ID NO : 97)	ATCCACAGCCAACATC ACACCTCT (SEQ ID NO : 98)

HSP70	Proteine de chock thermique à 70kDa	heat shock 70kDa protein 1-like	NM_013558.2	1,7	7,2	TGCTCAGTTTGGATGT TCCTGGAG (SEQ ID NO : 99)	CTACGCCCTTCGATCCA GTTTGGAA (SEQ ID NO : 100)
HYALURONIDASE	hyaluronoglucosaminidase 1	hyaluronoglucosaminidase 1	NM_008317.3	1,5	2	GCTCAGAAAGTTTGGAG GAATGAAG (SEQ ID NO : 101)	GGCCAACCTCGAGCAA AGTCAGGA (SEQ ID NO : 102)
I309	CC chimiokine ligand 1bis	chemokine (C-C motif) ligand 1	NM_011329.2	4,1	6	TCCCTGAAAGTTTATC CAGTGTTA (SEQ ID NO : 103)	AGGCGCAGCTTCTCT ACCTTTG (SEQ ID NO : 104)
ICOS	costimulateur inductible des cellules T	inducible T-cell co-stimulator	NM_017480.1	2,1	4,1	GCTCTGCTGCCAGCTG AAGCTCTG (SEQ ID NO : 105)	TGTGTTGACTGCCGCGC ATGAACAT (SEQ ID NO : 106)
ID1	Inhibiteur de la fixation de l'ADN 1	Inhibitor of DNA binding 1	NM_010495.2	1,4	2,2	CTGGACGAGCAGCAGG TGAACGTC (SEQ ID NO : 107)	ATACTTGCTCACTTTG CGGTTCTG (SEQ ID NO : 108)
ID3	Inhibiteur de la fixation de l'ADN 3	Inhibitor of DNA binding 3	NM_008321.1	1,5	2	TCCGTCAGCGTGTGCAT AGACTAC (SEQ ID NO : 109)	GAAAAGCTCCTTGT CCTTGGG (SEQ ID NO : 110)
IGSF3	Membre 3 de la superfamille des immunoglobulines	immunoglobulin superfamily, member 3	NM_207205.1	1,7	1,7	ACTTCACATCACAGAC CTGCAAAGC (SEQ ID NO : 111)	TGCAGAGAACTCTGGG ATCACCAC (SEQ ID NO : 112)
IL-10RA	recepteur alpha de l'interleukine 10	interleukin 10 receptor, alpha	NM_008348.2	2	3,3	TCCCGATGCCATTAC AT (SEQ ID NO : 113)	CAGGGAGGAGGAATT GGGAC (SEQ ID NO : 114)
IL-11RA	recepteur alpha de l'interleukine 11	interleukin-11 receptor alpha chain	NM_010549.2	1,2	2,2	CCTGATGAAGGCACCT ATG (SEQ ID NO : 115)	TGGCCTGGACTCCAAG TACA (SEQ ID NO : 116)
IL-16	interleukine 16	interleukin 16	NM_010551.3	1,5	1,9	TCGGCAGAGCATTGAAA GGT (SEQ ID NO : 117)	GAGCTGATTCTCTGCC TGAT (SEQ ID NO : 118)
IL-17R	recepteur alpha de l'interleukine 17	interleukin 17 receptor A	NM_008359.1	1,7	1,7	TGTGGGTGTATGGCCCT CAT (SEQ ID NO : 119)	AGGTCTGCTACGGGCA AGAT (SEQ ID NO : 120)

IL1Ra	recepteur type 1 de l'interleukine 1	interleukin 1 receptor, type I	NM_0311167.3	4,6	3,9	ACCTTGTCCTGTTTA GCTCACC (SEQ ID NO : 121)	TGGTCCCTTGTAAGTAC CCAGCAAT (SEQ ID NO : 122)
IL1RAP	protéine accessoire du récepteur de l'interleukine 1	interleukin 1 receptor accessory protein	NM_134103.1	2,3	2,3	ATCAAGAAAAGTCACCC CGGAGGAT (SEQ ID NO : 123)	CTCGGTGCATCCATTA CCTTTCGTG (SEQ ID NO : 124)
IL-24	interleukine 24	interleukin 24	NM_053095.1	4,9	12,7	TCCACTCTGGCCAAACA ACTT (SEQ ID NO : 125)	ACCAAAGCGACTTCTG TATCC (SEQ ID NO : 126)
IP10	Cx3C chimiokine ligand 13	chemokine (C-X-C motif) ligand 10	NM_021274.1	8,7	2,9	AGAAATGAGGGCCATAG GGAAGCT (SEQ ID NO : 127)	TGGTCTTAGATTCCCG ATTCAGA (SEQ ID NO : 128)
ITAK	Cx3C chimiokine ligand 11	chemokine (C-X-C motif) ligand 11	NM_019494.1	2,4	4,1	ATGGCAGAGATCGAGA AAGCTTCT (SEQ ID NO : 129)	CCAGGCACCTTTGTCTG TTTATGAG (SEQ ID NO : 130)
ITGAM	CD11b antigène	CD11b antigen	NM_0010829 60.1	1,3	1,9	TGAGCCCCATCATCCT GGGCCTC (SEQ ID NO : 131)	ATTGTGAAGAACCTCT GAGCATCC (SEQ ID NO : 132)
ITGB6	integrine, beta 6	integrin, beta 6	NM_021359.2	2,3	2,3	GTCACCCAAAGAACAAG TCCATCT (SEQ ID NO : 133)	ATCCCAGAAATCCTTC TGAAAGCA (SEQ ID NO : 134)
JAK 3	Janus kinase 3	Janus kinase 3	NM_010589.4	1,3	1,9	TTCTGGAAGCCGCAAG CTT (SEQ ID NO : 135)	CACGCTTGGCGCAGGTA CAT (SEQ ID NO : 136)
JUNB	jun B proto-oncogene	jun B proto-oncogene	NM_008416.1	1,5	1,9	ATCAGCTACCTCCCAC ATGCA (SEQ ID NO : 137)	TACGGTCTGCGGTTCC TCCT (SEQ ID NO : 138)
KC	Cx3C chimiokine ligand 2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	NM_008176.2	2,4	13	ATCCAGAGCTTGAAGG TGTTGCC (SEQ ID NO : 139)	AGCTTCAGGGTCAAG GCAAAGCC (SEQ ID NO : 140)
Krt13	keratine 13	keratin 13	NM_010662.1	1,9	11	ACCTGGAGGTGAAGAT TCGTGACT (SEQ ID NO : 141)	TCTCCAGGATGATCCG GTTGTTGT (SEQ ID NO : 142)

LAMA1	laminine, alpha 1	laminin, alpha 1	NM_008480.2	2,4	2,3	ATGAGCTCATTGCCAA GGGTAGAG (SEQ ID NO : 143)	TCATCTCGGTGATGCT CCAGCTG (SEQ ID NO : 144)
LAMA3A	laminine alpha 3A	laminin alpha 3A	NM_0010333 00.2	1,7	1,7	TAAACAACGGGAGAGAT CACATGA (SEQ ID NO : 145)	CAAGTAATATGTGCTG AAATCAA (SEQ ID NO : 146)
LAMC2	laminine, gamma 2	laminin, gamma 2	NM_008485.3	1,6	1,8	AAGACACTTCCCTGTG GGATCAC (SEQ ID NO : 147)	GTACGTAGCTCGGATC AGGAG (SEQ ID NO : 148)
LARC	CC chimiokine ligand 20	chemokine (C-C motif) ligand 20	NM_016960.1	12,9	12,6	TGCTTTGGCATGGGTA CTGCTGGC (SEQ ID NO : 149)	TGGAAGGAAAGAGGGG TCTGTATG (SEQ ID NO : 150)
LIX	CxC chimiokine ligand 6	chemokine (C-X- C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)	NM_009141.2	3	6,8	CGCCGCTGGCATTCT GTTGCTGT (SEQ ID NO : 151)	CGGTTAAGCAAAACAC AAGCAGC (SEQ ID NO : 152)
LPTN	C chimiokine ligand 1	chemokine (C motif) ligand 1	NM_008510.1	2,8	6,1	CCATGAGAGCTGTAAT TTTTGTC (SEQ ID NO : 153)	CCACAGTCTTGATGCG TGCTTTC (SEQ ID NO : 154)
LRP1	Protéine apparentée au recepteur des lipoprotéines de faible densité 1	low density lipoprotein receptor-related protein 1	NM_008512.2	1,4	1,7	GCAGATGGCAAGACGT GCAAAGAT (SEQ ID NO : 155)	AGGTAGCCTTCAACAC AGCCACAT (SEQ ID NO : 156)
LSST	carbohydrate (N- acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 4	carbohydrate (N- acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 4	NM_011998.3	2,2	1,8	CACCCGGATGTGTTCT ACCT (SEQ ID NO : 157)	GCTCATGTCACACAGG AAGA (SEQ ID NO : 158)
LTA	lymphotoxine alpha	lymphotoxin alpha (TNF superfamily, member 1)	NM_010735.1	2,2	2,6	AACCTGCTGCTCACCT TGTT (SEQ ID NO : 159)	GGATCAGGAGGGAGT TGTT (SEQ ID NO : 160)

LTBR	recepteur de la lymphotoxine B	lymphotoxin B receptor	NM_010736.3	1,7	1,7	CGGGACACTTCCAGAA CA (SEQ ID NO : 161)	ATGGCCAGCAGTAGC ATTG (SEQ ID NO : 162)
MARCKS	proteine kinase C riche en alanine myristoylaté	myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate	NM_008538.2	1,6	1,7	TTGTTGAAGAAAGCCAG CATGGGTG (SEQ ID NO : 163)	GCCATTCCTCTGCCCA TTTGCTTT (SEQ ID NO : 164)
MCP1	CC chimiokine ligand 13	chemokine (C-C motif) ligand 13	NM_011333.3	4,4	12,4	TAGGCTGGAGAGCTAC AAGAGGAT (SEQ ID NO : 165)	ATCCAGGTTTTTAATG TATGTCTGG (SEQ ID NO : 166)
MCP2	CC chimiokine ligand 8	chemokine (C-C motif) ligand 8	NM_021443.2	1,5	2,1	GAATCAACAATATCCA GTGCCCCA (SEQ ID NO : 167)	ACCATGTACTCACTGA CCCACCTC (SEQ ID NO : 168)
MCP3	CC chimiokine ligand 7	chemokine (C-C motif) ligand 7	NM_013654.2	3,5	9	AAGAGGAATCTCAAGA GCTACAG (SEQ ID NO : 169)	TGGGCTTCAGCACAGA CTTCCATG (SEQ ID NO : 170)
MCP5	CC chimiokine ligand 2	chemokine (C-C motif) ligand 2	NM_011331.2	4	11,7	ATAGCTACCACCATCA GTCCCTCAG (SEQ ID NO : 171)	CCGGACGTGAATCTTC TGCTTAAC (SEQ ID NO : 172)
Mept6	tryptase beta 2	tryptase beta 2	NM_010781.3	1,4	1,9	TTTCTGCGGAGGTTCT CTCATCCA (SEQ ID NO : 173)	TAGATACTGCTCACGA AGCTGCAC (SEQ ID NO : 174)
M-CSF	Facteur de stimulation des colonies de macrophage	Macrophage colony-stimulating factor	NM_007778.3	1,2	2,2	CTGTGTCGGAACITTC CAT (SEQ ID NO : 175)	ATCAGGCTTGGTCACC ACAT (SEQ ID NO : 176)
MIG	Cx3C chimiokine ligand 9	chemokine (C-X-C motif) ligand 9	NM_008599.3	6,8	4	ATCTTCCTGGAGCAGT GTGGAG (SEQ ID NO : 177)	GGGCAAACTGTTTGAG GTCITTT (SEQ ID NO : 178)
MIP1G	CC chimiokine ligand 9	Chemokine (C-C motif) ligand 9	NM_011338.2	2,2	3,1	ATACTGCCCTCTCCTTC CTCATTC (SEQ ID NO : 179)	GCTGTGCCCTCAGACT GCTCTGG (SEQ ID NO : 180)

MMP2	metallopeptidase de matrice 2	matrix metallopeptidase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)	NM_008610.2	1,5	1,9	TTCTCTGGTGCTCCAC CACATAC (SEQ ID NO : 181)	ATCAGGGCTGTCCATC TGCATTG (SEQ ID NO : 182)
MMP9	metallopeptidase de matrice 9	matrix metallopeptidase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)	NM_013599.2	1,8	2	ATTGGTGTAGACAAC AGTGACT (SEQ ID NO : 183)	ATCAAAGATGAACGG GAACACACA (SEQ ID NO : 184)
MR1	recepteur au mannose C type 1	mannose receptor, C type 1	NM_008625.2	1,5	1,7	TGTGGACGAGCAGGTG CAGTTTA (SEQ ID NO : 185)	CTCTGGTGGCGGAGTC ACTCCITC (SEQ ID NO : 186)
MYD88	Differentiation myeloïde 88	myeloid differentiation primary response gene 88	NM_010851.2	1,5	1,7	TGGCCTTGTTAGACCG TGAGGATA (SEQ ID NO : 187)	TTGTGGGACACTGCCTT TCCACTCT (SEQ ID NO : 188)
Myh10	Chaîne lourde de la Myosine 10	Myosin heavy chain 10	NM_175260.2	1,2	2	GACCATGGAAGCCATG CACATCAT (SEQ ID NO : 189)	AAACTGCAGCACTGA AGATACGAC (SEQ ID NO : 190)
NCAM	molécule de l'adhésion cellulaire neurale	neural cell adhesion molecule	NM_001081445.1	1,2	2,3	CGAAGAATCCTGGCAT TTCAAAGTG (SEQ ID NO : 191)	AGTCGTACCGAGTACC TCGTCTC (SEQ ID NO : 192)
NFKB P105	facteur nucléaire des cellules B-1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	NM_008689.2	2,2	1,9	CATCCAGATTCGGTTT TATGAAGAG (SEQ ID NO : 193)	CATCCTTATACTTTGG CGTTTTGA (SEQ ID NO : 194)
ONCM	oncostatine M	oncostatin M	NM_001013365.1	2,8	9,3	ATGATCGTGGCTGCTC CAACTCT (SEQ ID NO : 195)	ATGGGATATAGGGCT CCAAGA (SEQ ID NO : 196)

OSMR	recepteur oncostatine M	oncostatin M receptor	NM_0111019.2	1,8	2,8	ATGCACACCAACTTGG ACTATTGG (SEQ ID NO : 197)	ATGCTGTGGCAAGCGT GTCCTT (SEQ ID NO : 198)
Procr	proteine C recepteur	protein C receptor, endothelial	NM_0111171.2	1,2	1,8	TCGAAAGCCTGGTGAA GCTGGTAT (SEQ ID NO : 199)	TCACGGCCACATCGA AGAAGACAT (SEQ ID NO : 200)
RANTES	CC chimiokine ligand 5	chemokine (C-C motif) ligand 5	NM_013653.2	2,5	2,1	TGCCACGTCAAAGGAG TATTTTC (SEQ ID NO : 201)	AACCCACTTCTTCTCT GGGTTG (SEQ ID NO : 202)
RGS1	regulateur des G- proteine 1	regulator of G- protein signaling 1	NM_015811.1	2,7	3,8	ATAGCCCAAAAGGATTC GAAAGAAC (SEQ ID NO : 203)	TGGATCATCGATCTC AGGTATG (SEQ ID NO : 204)
RGS14	regulateur des G- proteine 14	regulator of G- protein signaling 14	NM_016758.3	1,5	1,7	CTCCGCAAGTCCTTTC GTAG (SEQ ID NO : 205)	AAGGCAAGGAAACCC AGGTC (SEQ ID NO : 206)
RGS16	regulateur des G- proteine 16	regulator of G- protein signaling 16	NM_011267.2	2,6	2,7	TTTTCGATTTGCTGTGA ACA (SEQ ID NO : 207)	CAACCAGAACTCCAG GTTCTC (SEQ ID NO : 208)
RGS3	regulateur des G- proteine 3	regulator of G- protein signaling 3	NM_134257.2	1,9	2,5	ACGACACCAGCGACGA CAACTACG (SEQ ID NO : 209)	GCGAGTTCTGCACACG CAACGAGA (SEQ ID NO : 210)
RIPK1	recepteur interagissant avec la kinase serine- threonine 1	receptor (TNFRSF)- interacting serine- threonine kinase 1	NM_009068.3	1,2	1,8	AGTGGTGAAGCTACTG GGCATCAT (SEQ ID NO : 211)	TGGCTCCACGATTAT CCTTCCIT (SEQ ID NO : 212)
Selc	selectine E	selectin E	NM_011345.2	2,9	3	CAGGTGAACCAACAA CAA (SEQ ID NO : 213)	AGCACAGAGCCAGCT TCTTTTIG (SEQ ID NO : 214)
SELP	selectine P	selectin P (granule membrane protein 140kDa, antigen CD62)	NM_011347.1	4,3	3,1	AGCTGCAATGTTTGGC TTCTGGGA (SEQ ID NO : 215)	GCAGCAATGGGTGC ATACAGGC (SEQ ID NO : 216)

SLP76	proteine du cytosol des lymphocytes 2	lymphocyte cytosolic protein 2 (SH2 domain containing leukocyte protein of 76kDa)	NM_010696.3	1,9	1,8	TGCTCCATCAATAGAC AGAAGCAC (SEQ ID NO : 217)	TTCTTTTCGTGCTGTCC ATGGCT (SEQ ID NO : 218)
SMAD6	MAD homologue 36	SMAD family member 6	NM_008542.2	1,7	2,7	CACTGGATCTGTCCGA TTCT (SEQ ID NO : 219)	TGTCCGGTGTCCAG TA (SEQ ID NO : 220)
SOCS-2	suppresseur du signaling des cytokines 2	suppressor of cytokine signaling 2	NM_007706.3	2	2,2	ACATGTGCAAGGATAA ACGGACA (SEQ ID NO : 221)	TGCTGCAGAGTGGGTG CT (SEQ ID NO : 222)
SOCS-3	suppresseur du signaling des cytokines 3	suppressor of cytokine signaling 3	NM_007707.2	2	3,8	CGCGGGCACCTTTCTT ATC (SEQ ID NO : 223)	TCTCACACTGGATGCC TAGGTTCT (SEQ ID NO : 224)
STAT2	signal transduceur and activateur de transcription 2	signal transducer and activator of transcription 2, 113kDa	NM_019963.1	2	1,8	TCTCCACCGACCCCTC AT (SEQ ID NO : 225)	CGGAAGCCTTGGTAAG TCTGAAT (SEQ ID NO : 226)
TANK	membre de la famille TRAF associé au NF-KAPPA-B	TRAF family member-associated NF-KAPPA-B activator	NM_145788.1	1,2	2	TTCCGACAGGCATGCA TGGATAGA (SEQ ID NO : 227)	AATGACAGCTGTTCTT GTTGCTCG (SEQ ID NO : 228)
TARC	CC chimiokine ligand 17	chemokine (C-C motif) ligand 17	NM_011332.2	6	3,3	GACTTTTCTGCAGCAT GCCAGAG (SEQ ID NO : 229)	CTTTGAAAGTAATCCAG GCAGCA (SEQ ID NO : 230)
TECK	CC chimiokine ligand 25	chemokine (C-C motif) ligand 25	NM_009138.2	1,5	2,1	TTTGAAGACTGTGCC TGGGTTA (SEQ ID NO : 231)	TAGGTTGCAGCTTCCA CTCACATTC (SEQ ID NO : 232)

Thbd	thrombomoduline	thrombomodulin	NM_009378.2	1,6	2,1	CGCTGCAAGGACATT TGATGACA (SEQ ID NO : 233)	AGGCCCTAAATCCAT ACTGCTCT (SEQ ID NO : 234)
TIRAP	toll-interleukine 1 recepteur	toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain-containing adaptor protein	NM_054096.1	1,6	1,7	ACAAGATAGCTGACTG GTTCAGGC (SEQ ID NO : 235)	ATAGAGGTGGCTTCC TGGGAGAT (SEQ ID NO : 236)
TLR2	toll-like recepteur 2	toll-like receptor 2	NM_011905.2	2,2	1,8	ACCTACATTGGCCATG GTGAC (SEQ ID NO : 237)	CCAAATGTTCAAGACT GCCCCAGAG (SEQ ID NO : 238)
TNFRP75	recepteur du TNF p75	TNFRSF16	NM_033217.3	1,5	1,8	TCCTGGTGCAGAGGAA AAAG (SEQ ID NO : 239)	CTGGAACCTGGGTGCTG TGGTTC (SEQ ID NO : 240)
TRAF1	facteur associé au TNF recepteur 1	TNF receptor- associated factor 1	NM_009421.3	1,9	2,3	TTTGCAGGTGTTGGCT GTTCCCTC (SEQ ID NO : 241)	TAGGTTGGAGCCTGGT GAGGATTT (SEQ ID NO : 242)
TRAF3	facteur associé au TNF recepteur 3	TNF receptor- associated factor 3	NM_011632.2	1,2	1,7	ACAGCGTGCCAAAGAAA GCATCATC (SEQ ID NO : 243)	AACCTCTGCCTTCATT CCGACAGT (SEQ ID NO : 244)
VAV1	oncogène vav 1	vav 1 oncogene	NM_011691.3	1,4	1,9	CGCTCTGAACGACGAA GATATTT (SEQ ID NO : 245)	CTCATTTTCCACGCAG TCATAAAG (SEQ ID NO : 246)
VEGFR	FMS-like tyrosine kinase 1	Mus musculus FMS-like tyrosine kinase 1 (Flt1)	NM_010228.3	1,7	1,7	ATACGAGGGTGCAAAT GAGCTGGA (SEQ ID NO : 247)	ACACATTGTTGTGGGA ATGGCTCC (SEQ ID NO : 248)
VEGI	membre 15 de la superfamille du TNF	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 15	NM_177371.2	2,8	2,3	TCATTTCCCATCCTCGC AGGACTT (SEQ ID NO : 249)	AATTGTCAGGTGTGCT CTCGGCT (SEQ ID NO : 250)

Tableau 1 : Biomarqueurs spécifiques de la sensibilisation et de l'irritation dans le modèle LLNA

Abréviation	Nom du gène	Nom anglais	Numéro d'accès	Taux d'augmentation par les irritants	Taux d'augmentation par les sensibilisants	Amorce sens	Amorce antisens
BDEFENSIN	defensine, beta 4	defensin, beta 4	NM_145157.2	0,9	2,3	CATACTTGTGGC AACGGAACCTGG T (SEQ ID NO : 251)	TGGAGGCAGCACATCTGG AAAGTT (SEQ ID NO : 252)
C10	CC chimiokine ligand 6	CCL6	NM_009139.3	1,2	3,7	TTATGGCACACA GATCCCATGTA (SEQ ID NO : 253)	ATCGCTGGGGTCGGCACA GACCTG (SEQ ID NO : 254)
CCR2	CC chimiokine recepteur 2	chemokine (C-C motif) receptor 2	NM_009915.1	1,6	3,2	ACAATAATATGT TACCTCAGTTCA (SEQ ID NO : 255)	GTGTGGTGGCCCCCTTCATC AAG (SEQ ID NO : 256)
CD160	CD160 molecule	CD160 molecule	NM_018767.2	0,9	2,5	TCATGGCCACTT TCTCTCCGTTCT (SEQ ID NO : 257)	ACTGAGAGTGCCGTTGAT ATGGCT (SEQ ID NO : 258)
CD207	CD207 molécule, langerine	CD207 molecule, langerin	NM_144943.2	0,8	2	ACCTCAGTGTC TCAGAATCGGA A (SEQ ID NO : 259)	TGAATGATGTCTGGTCCA CCCAGT (SEQ ID NO : 260)
CD83	CD83 molecule	CD83 molecule	NM_009856.1	1,3	2,5	TGGTTCTGAAGG TGACAGGATGC (SEQ ID NO : 261)	AGAGAAAGCAACACAGC TTCTGC (SEQ ID NO : 262)
CJUN	oncogene jun	jun oncogene	NM_010591.1	1,1	6,9	ATCAGTCCAGCA ATGGGCACATC (SEQ ID NO : 263)	ATGCAAGCGTGTCTGGC TATGCA (SEQ ID NO : 264)

CLEC4D	lectine de type C domaine famille 4, membre D	C-type lectin domain family 4, member D	NM_010819.3	1,2	3,7	CTTGGCTCTCG CTGTGTTTCCA (SEQ ID NO : 265)	TTTACACACTTCTCTC GTCCA (SEQ ID NO : 266)
CLEC7A	Lectine de type C domaine famille 7, membre A	C-type lectin domain family 7, member A	NM_020008.1	1	3,3	AAGGCATCCCA AACTACAGGAG GT (SEQ ID NO : 267)	AGCTGGGAGCAGTGCTC TTACTT (SEQ ID NO : 268)
CMYC	v-myc	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	NM_010849.4	1,2	2,6	AGCCCTAGTGC TGCAATGAGGAG (SEQ ID NO : 269)	ACGTTTGCCTCTTCTCCAC AGACA (SEQ ID NO : 270)
COX2	synthase de prostaglandin- endoperoxide 2	prostaglandin- endoperoxide synthase 2	NM_011198.3	0,7	1,8	ATGCTAAGCGA GGACCTGGGTTT A (SEQ ID NO : 271)	AGGATACACCTCTCCACC AATGAC (SEQ ID NO : 272)
CYCLIN A1	cycline A1	cyclin A1	NM_007628.2	0,6	2,9	ATGCCACTTCTT GCTGGATTCAA (SEQ ID NO : 273)	CCTCTGCATACTCCGTTAC GTTAA (SEQ ID NO : 274)
CYCLINE1	cycline E1	cyclin E1	NM_007633.2	1,5	2,4	ATGACCCAGATG AAGAAAATTGCC A (SEQ ID NO : 275)	TCAAAGCTCATTGCTCTCTT CTTTG (SEQ ID NO : 276)
CYP2E1	cytochrome P450, famille 2, sousfamille E, polypeptide 1	cytochrome P450, family 2, subfamily E, polypeptide 1	NM_021282.2	0,8	4,3	TACAAGGCTGTC AAGGAGGTGCT A (SEQ ID NO : 277)	ACGTCTTCCCATGTGGGTC CATT A (SEQ ID NO : 278)
CYP7A1	cytochrome P450, famille 7, sousfamille A, polypeptide 1	cytochrome P450, family 7, subfamily A, polypeptide 1	NM_007824.2	1,2	6,5	TGCTGTGGTAGT GAGCTGTTGCAT (SEQ ID NO : 279)	AACTTCAGAGCACAGCCC AGGTAT (SEQ ID NO : 280)
DAPK2	kinase associée à la mort 2	death-associated kinase 2	NM_010019.2	1,3	2,5	TCAAACAGCAG AAGGTGGAGGA CT (SEQ ID NO : 281)	GGCACTTCTTCAACGATGG CAAACCT (SEQ ID NO : 282)

EDA2R	recepteur de l'ectodysplasine A2	ectodysplasine A2 receptor	NM_175540.4	1,2	2,5	ATGGACATCAC CTCTTGCTGTG (SEQ ID NO : 283)	TGGTCCCGGTACTCATTCT CTTGA (SEQ ID NO : 284)
EGR1	gene de croissance précoce 1	early growth response 1	NM_007913.5	0,9	2,3	AGCCGAGCGAA CAACCCTAT (SEQ ID NO : 285)	AGTCGTTTGGCTGGGATA ACT (SEQ ID NO : 286)
EGR2	gene de réponse précoce 2	early growth response 2	NM_010118.2	1,5	2,9	AGATGGCATGAT CAACATTG (SEQ ID NO : 287)	GGAGAAATTTGCCCATGTA AGT (SEQ ID NO : 288)
FCER1	recepteur de haute affinité pour le fragment Fc des IgE	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; alpha polypeptide	NM_010184.1	1,3	2,8	TGTGCCCTAGCAC TGCTGTTCATGT (SEQ ID NO : 289)	TAATCCATGGTGGGTCCA AGGTCA (SEQ ID NO : 290)
Fcgr1	antigène CD64	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64)	NM_010186.3	1,5	2,9	CAGCTTTGGAGA TGACATGTGGCT (SEQ ID NO : 291)	AATACTGACCCCATGGAGG CTGCAA (SEQ ID NO : 292)
FTHIP	ferritine, polypeptide lourd 1	ferritin, heavy polypeptide 1	NM_010239.1	0,6	1,8	AGCATGCCGAG AAACTGATGAA GC (SEQ ID NO : 293)	TGCAGTGCACACTCCATT GCATT (SEQ ID NO : 294)
GATA-2	Protéine de fixation GATA-2	GATA binding protein 2	NM_008090.4	1,6	3	AGAAGCAAAGGC TCGCTCCT (SEQ ID NO : 295)	CCGGTTCTGTCCATTTCATC (SEQ ID NO : 296)
GATA-3	Protéine de fixation GATA-3	GATA binding protein 3	NM_008091.2	1,6	6	CCCTATGTGCC GAGTACA (SEQ ID NO : 297)	TAGAGGTTGCCCCGCAGT T (SEQ ID NO : 298)
HISTR2	recepteur de l'histamine 2	histamine receptor H2	NM_00101097 3.2	1,6	2,9	CTGTCAGCTTGA ATCGTCG (SEQ ID NO : 299)	AGAAGGGCATCACCAGGA G (SEQ ID NO : 300)
ICAM2	molécule d'adhésion intercellulaire 2	intercellular adhesion molecule 2	NM_010494.1	0,7	1,8	TTTGCTTGCTGG AGCCTGTCTCTT (SEQ ID NO : 301)	TGGCTTCTACTATCTGCTT CTCGG (SEQ ID NO : 302)
IEX1	gene de la réponse immédiate 1	immediate early response 3	NM_133662.2	1,6	2,5	ATAGTTTGAACA CTTCTCGCGG (SEQ ID NO : 303)	ATGCTTGGCAATGTTGGG TTTCT (SEQ ID NO : 304)

IL12rb	recepteur bêta 1 de l'interleukine 12	interleukin 12 receptor, beta 1	NM_008353.1	0,8	2,8	TCGTGCCACCCA CTAAAAAC (SEQ ID NO : 305)	CCAGAGACGGGAAAATGA (SEQ ID NO : 306)
IL-15	interleukine 15	interleukin 15	NM_008357.1	0,9	2	ATACAGAGGCC AACTGGATAGATG (SEQ ID NO : 307)	TGCAATTCCAGGAGAAAAGCA (SEQ ID NO 308)
IL-19	interleukine 19	interleukin 19	NM_001009940.1	0,9	17,9	CAGCATTTGCCAA CTCTTTTCC (SEQ ID NO : 309)	ATAGATGAGACCTCCAGCTGATTG (SEQ ID NO : 310)
IL-20	interleukine 20	interleukin 20	NM_021380.1	0,6	4	ATTGGTCTTGCC TTTGGACTGTTC (SEQ ID NO : 311)	ATAGCTTGCACACTATCCCCGAATC (SEQ ID NO : 312)
JUNK1	proteine kinase activé par les mitogènes 8	mitogen-activated protein kinase 8	NM_016700.3	0,9	2,5	GAACGAGTTTTA TGATGACGCCTT A (SEQ ID NO : 313)	ACCCACAGACCATAAGTCC (SEQ ID NO : 314)
JUNK2	proteine kinase activée par les mitogènes 9	mitogen-activated protein kinase 9	NM_016961.2	1	3,1	TGGCGGGAACA GCCTGTACCAAC TT (SEQ ID NO : 315)	CATGATGCACCCGACAGACCAGATG (SEQ ID NO : 316)
Krt17	keratine 17	keratin 17	NM_010663.2	1,4	5	AATGCCAGCATC CTGCTCCAGATT (SEQ ID NO : 317)	AGCCTGCTCTGTCTCAAAC TTGGT (SEQ ID NO : 318)
Krt6	keratine 6B	keratin 6B	NM_010669.2	1,6	5	ATTGCTCAGAGA AGTCGGGCTGA A (SEQ ID NO : 319)	TCTCAGCAAATCTCCTGCTTGGTGT (SEQ ID NO : 320)
LY9	antigène CD229	CD229 antigen	NM_008534.2	1,3	3,8	ATCGTCTTTGG CCACCAAGTA (SEQ ID NO : 321)	ATGAGGTGGGTGTAGGCTGATG (SEQ ID NO : 322)

LY96	lymphocyte antigen 96	lymphocyte antigen 96	NM_016923.1	1,2	2,7	TCTGAACCCCTGC ATAAGACTGAG G (SEQ ID NO : 323)	ACTTCCTTACGGTTCGGCA ACTCT (SEQ ID NO : 324)
LYN	v-yes-1	v-yes-1	NM_010747.1	1,3	3,2	GGGAGTCCATTA AGTTGGTGAAA (SEQ ID NO : 325)	TTGCCGGGCTTGAGGGGTC TTCAC (SEQ ID NO : 326)
MIPIA	CC chimiokine ligand 3	chemokine (C-C motif) ligand 3	NM_011337.2	1,3	2,5	CTTGTGTTCTT CTCTGTACCATG (SEQ ID NO : 327)	AACGATGAAATTGGCGTGG AATCT (SEQ ID NO : 328)
MKP1	phosphatase de spécificité duale 1	dual specificity phosphatase 1	NM_013642.1	0,9	1,8	TCAGCTCCCC TGAGTACT (SEQ ID NO : 329)	CTTCCGAGAAAGCGTGATA GG (SEQ ID NO : 330)
MKP3	Proteine kinase activée par les mitogènes 3	Mitogen-activated protein kinase phosphatase 3 DUSP6	NM_026268.3	1,2	6,2	AGCGACTGGAA TGAGAACACT (SEQ ID NO : 331)	GGCCTGGAACCTTACTGAA G (SEQ ID NO : 332)
MMP12	metallopeptidase de matrice 12 (elastase du macrophage)	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	NM_008605.3	1,2	5,2	ACATTTGGAGCT CACGGAGACTTC (SEQ ID NO : 333)	TTAGTCCACGTTTCTGCCT CATC (SEQ ID NO : 334)
MYELOPEROXIDASE	MPO	MPO	NM_010824.1	0,9	2,7	CATGACATCACC TTGACTCCAGA (SEQ ID NO : 335)	TGGATGCAGTCTTTTGGT TCTT (SEQ ID NO : 336)
NOTCH3	Notch homologue 3 (Drosophile)	Notch homolog 3 (Drosophila)	NM_008716.2	1,3	3,1	TGGTGTCTGCAA GGACAGAGTCA A (SEQ ID NO : 337)	ACTCATCCACATCCAGCT GACACA (SEQ ID NO : 338)
PPARA	recepteur alpha du peroxisome activé par la prolifération	peroxisome proliferator-activated receptor alpha	NM_011144.3	0,9	1,9	TCTTCACGATGC TGTCCCTCTTGA (SEQ ID NO : 339)	GCATTGAACTTCATAGCG AAGTCA (SEQ ID NO : 340)

St6gal1	ST6 beta-galactosamide alpha-2,6-sialyltransferase 1	NM_145933.3	1	2	TGCCATGGGAAC TATGGGACATCA (SEQ ID NO : 341)	AGTAGCACACATCTGTCTT GCGCT (SEQ ID NO : 342)
TECK	CC chimiokine ligand 25	NM_009138.2	0,7	2,1	TTTGAAGACTGC TGCCTGGGTTA (SEQ ID NO : 343)	TAGGTTGCAGCTTCCACTC ACTTC (SEQ ID NO : 344)
TLR13	Recepteur Toll-Like 13	NM_205820.1	0,8	2,2	AGCAGAGTTCA GAATGAGTGGG CT (SEQ ID NO : 345)	CCTTCTCATGTTCAAAGGC ACGGT (SEQ ID NO : 346)
Tpsab1	tryptase alpha/beta 1	NM_031187.2	1,4	3,3	AATGCTAAAAGCT GCTGCTGCTCAC (SEQ ID NO : 347)	ATGCCTTCTCGTGTCTATAG CTGGA (SEQ ID NO : 348)
VEGF	facteur de croissance endothelium vasculaire A	NM_00102525 0.2	1	2,6	AACATCACCATG CAGATCATGCGG (SEQ ID NO : 349)	TCTGCTGTGCTGTAGGAA GCTCAT (SEQ ID NO : 350)
ZAP70	proteine kinase associée à la chaîne zeta (TCR) 70kDa	NM_009539.2	0,9	2,1	TACAAGGCTGGC AAGTACTGCAT (SEQ ID NO : 351)	TAAATTAGTCCATCCGCGCT TCAG (SEQ ID NO : 352)

Tableau 2 : Biomarqueurs spécifiques de la sensibilisation dans le modèle LLNA

2) Protocole clinique

Une étude mono-centrique avec comparaisons intra-individuelles, a été réalisée en double aveugle, randomisée et contrôlée avec un témoin non traité.

Afin d'éviter le recours à un trop grand nombre de patients, il apparaissait inutile
5 d'introduire des groupes excipients ou patch seul puisque l'objectif de l'étude est la comparaison entre les types de réactions inflammatoires, irritation versus sensibilisation, et n'est pas une étude d'activité d'un produit par rapport à un autre.

10 *Produits inducteurs*

Suite à la directive 2003/15/CE, depuis le 11 mars 2005, 26 substances, ayant entre autres des propriétés parfumantes ou aromatiques, ont été identifiées comme étant potentiellement sensibilisantes et doivent figurer en clair dans la liste des ingrédients, quelle que soit leur fonction, dès que leur concentration dépasse
15 0,001% dans les produits non rincés (crèmes, etc...) et 0,01% dans les produits rincés (shampooings, etc...).

Parmi ces 26 substances figurent les 8 qui font partie de «Fragrance Mix », le produit que les médecins utilisent sous forme de patch pour savoir si un sujet est allergique au "parfum" de manière générale. Entre 1 et 2% de la population
20 générale serait allergique à ce mélange.

La composition exacte du Fragrance Mix standard (8%) est la suivante:

- * 1% Amyl Cinnamal (Aldéhyde Alpha Amyl Cinnamylique)
- * 1% Cinnamyl Alcohol (Alcool Cinnamylique)
- * 1% Cinnamal (Aldéhyde Cinnamique)
- 25 * 1% Eugénol
- * 1% Geraniol
- * 1% Hydroxycitronellal
- * 1% Isoeugénol
- * 1% Mousse de Chêne (Evernia Prunastri en INCI, Oak Moss en anglais)

* 5% Sorbitan Sesquioleate (émulsifiant)

Les produits inducteurs qui ont été utilisés dans cette étude clinique sont donc le
5 fragrance mix (8%), le Nickel sous forme sulfate et le Lauryl Sulfate de Sodium
(LSS).

Choix des temps de cinétique

Dans cette étude, les étapes ciblées des réactions cutanées étudiées sont celles qui
se déroulent dans la peau, plus particulièrement dans l'épiderme, au cours des
10 premières phases du processus. Supposées moins complexe que les étapes tardives
impliquant un plus grand nombre de types cellulaires, elles devraient permettre
une meilleure discrimination entre les différents types de réponses. L'analyse
portera donc en premier lieu sur les premières 12 h suivant l'application du
produit et sur les phénomènes se déroulant dans la peau et plus particulièrement
15 dans l'épiderme.

Mode de traitement

Les sujets inclus appartenaient à deux groupes : allergiques au nickel et
allergiques au fragrance mix.

20 Les deux groupes d'application sont les suivants :

- Groupe 1 : 12 sujets avec 3 double patchs au nickel sur un avant-bras et 2
double patchs avec l'irritant et une zone non traitée sur l'autre avant-bras
(Allergiques au nickel).

25 - Groupe 2 : 12 sujets avec 3 double patchs au fragrance mix sur un avant-
bras et 2 double patchs avec l'irritant et une zone non traitée sur l'autre avant-bras
(Allergiques au fragrance mix).

La zone non traitée a remplacé un temps d'application de l'irritant, ce qui a été
inclus dans le schéma de randomisation attribué à chaque sujet. La zone non

traitée a été randomisée avec les temps d'application de l'irritant sur l'avant-bras correspondant à l'irritant.

Chaque avant-bras est divisé en trois zones qui correspondent aux différents temps d'application pour un produit inducteur. Deux prélèvements ont été réalisés par zone.

Technique de prélèvement

Dans cette étude, la méthode de prélèvement par bulle de succion (Kiistala, 1968) a été utilisée pour obtenir des prélèvements épidermiques aussi purs que possible.

10 La mise à disposition de prélèvements épidermiques non contaminés par des éléments dermiques est indispensable pour permettre une interprétation pertinente des résultats des analyses génomiques.

Analyse des biomarqueurs chez l'homme.

15 Le but de l'étude était d'une part de mettre en évidence des biomarqueurs permettant de distinguer les substances sensibilisantes et/ou irritantes mais aussi de définir le « tissu minimal » pouvant être utilisé en culture *in vitro* capable d'exprimer suffisamment des gènes sélectionnés pour permettre l'analyse et la classification de ces substances dans un modèle *in vitro*.

20 Pour analyser la composition du « tissu minimal », une analyse du transcriptome après application de substances irritantes et/ou sensibilisantes non pas sur des biopsies totales de peau mais sur des biopsies bulles de succion qui ne comprennent que l'épiderme a été réalisée chez l'homme.

Pour cette étude, le test a été réalisé sur des patients sensibilisés soit au Nickel soit
25 au « fragrance mix », un mélange d'ingrédients de parfum utilisé pour analyser une sensibilisation.

Le tableau 3 montre l'ensemble des gènes surexprimés à la fois par les sensibilisants Nickel et « Fragrance Mix » et l'irritant SLS chez l'homme.

Abréviation	Nom du gène	Nom anglais	Numéro d'accès	Taux d'augmentation de l'expression avec SLS	Taux d'augmentation de l'expression avec Nickel	Taux d'augmentation de l'expression avec Fragrance mix	Amorce sens	Amorce antisens
CCL2	CC chimiokine ligand 2	chemokine (C-C motif) ligand 2	NM_00298 2.3	21,8	7,7	1,7	GCTCATAGCAGCCA CCTTCATT (SEQ ID NO : 353)	ACTTGTGCTGGTGAT TCTTCTATAG (SEQ ID NO : 354)
CCL20	CC chimiokine ligand 20	chemokine (C-C motif) ligand 20	NM_00459 1.2	27,1	28,4	7,4	GTTTGTCTCTGGCTG CTTTGATG (SEQ ID NO : 355)	GAATACGGTCTGTGTA TCCAAGACA (SEQ ID NO : 356)
CCL22	CC chimiokine ligand 22	chemokine (C-C motif) ligand 22	NM_00299 0.3	4,4	3,1	1,9	CTCCTTGTGTGGCG CTTCAAG (SEQ ID NO : 357)	CAGACGGTAACGGAC GTAATCAC (SEQ ID NO : 358)
CD207	langerine	CD207 molecule, langerin	NM_01571 7.2	1,8	1,5	1,4	GGTGGATGACACGC CATTCAACAA (SEQ ID NO : 359)	CCACAGTTCATTGT TCCCAGCA (SEQ ID NO : 360)
CDH3	cadherine 3	cadherin 3, type 1, P-cadherin (placental)	NM_00179 3.4	3	2,2	1,6	ATGACACCCGTGAC AACGTCTTCT (SEQ ID NO : 361)	ATGATGGTTGGTGCCA CGTCATTG (SEQ ID NO : 362)
CDSN	corneodesmosine	corneodesmosin	NM_00126 4.3	2,1	2,5	2,5	TCTGTCTCCTCCTTG ACACTGACT (SEQ ID NO : 363)	AGAGGCTTCACTTGGG CTAGGATA (SEQ ID NO : 364)
DEFB1	defensine, beta 1	defensin, beta 1	NM_00521 8.3	1,9	1,9	1,6	TTCCTGAAATCCTGG GTGTGGCCT (SEQ ID NO : 365)	AGGCCTGTGAGAAAG TTACCACCT (SEQ ID NO : 366)

FASCIN	fascin	fascin homolog 1, actin-bundling protein	NM_00308 8.2	1,9	1,5	3	CCAATGGCAAGTTT GTGACCTCCA (SEQ ID NO : 367)	GTTGATGAGCTTCATG AGGAAGAG (SEQ ID NO : 368)
IL2RG	recepteur de l'interleukine 2 chaine gamma	interleukin 2 receptor, gamma	NM_00020 6.1	2,6	4,5	1,8	TGACGCCCCAATGGG AATGAAGACA (SEQ ID NO : 369)	TCAGAGCTGCTGTCC AAGTGCAA (SEQ ID NO : 370)
IL4R	recepteur de l'interleukine 4	interleukin 4 receptor	NM_00041 8.2	3,1	3,6	3,5	CCTGCATTGTCATCC TGGCCGTC (SEQ ID NO : 371)	GGACCGCTTCTCCAC TGTGACC (SEQ ID NO : 372)
KRT17	Keratine 17	Keratin 17	NM_00042 2.2	2,5	1,5	1,5	TGCCACCTGACTC AGTACAAGAA (SEQ ID NO : 373)	TTGCCATCCTGGACCT CTTCCACAAT (SEQ ID NO : 374)
KRT2	Keratine 2	Keratin 2	NM_19918 7.1	2,4	4,3	1,6	ATGAACGTGAAGCT GGCCCTAGAT (SEQ ID NO : 375)	GCAGCCTTGGATGCCA CATTTGAT (SEQ ID NO : 376)
LCP1	Protéine du cytosol lymphocytaire 1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	NM_00229 8.4	2	3,4	1,7	ATCAACCTGTCAGT GCCAGACACA (SEQ ID NO : 377)	AGGCAGAGTTCAGAG CCAAGTCA (SEQ ID NO : 378)
MMP9	metallopeptidase de la matrice 9	matrix metalloproteinase 9, gelatinase B	NM_00499 4.2	3,8	2,2	1,8	CGGGACGCAGACAT CGTCATCCA (SEQ ID NO : 379)	ACAACCTCGTCATCGTC GAAATG (SEQ ID NO : 380)
NRF2	Facteur nucléaire issu des erythrocytes 2	nuclear factor erythroid 2-like 2	NM_00114 5413.1	1,6	2,2	1,6	AACTACTCCCAGGT TGCCCCACATT (SEQ ID NO : 381)	AGCAATGAAGACTGG GCTCTCGAT (SEQ ID NO : 382)
PDZK1IP1	protéine d'interaction PDZK1	PDZK1 interacting protein 1	NM_00576 4.3	2,3	2,2	1,6	CAATCGCCTTGGCA GTCAACCACT (SEQ ID NO : 383)	ACCAGGACTCCATCTG CCTTGTIT (SEQ ID NO : 384)

S100A4	Protein fixant le calcium S100 A4	S100 calcium binding protein A4	NM_00296 1.2	3,8	1,6	1,5	CCTCAGCGCTTCTTC TTTTCTGG (SEQ ID NO : 385)	CGAGTACTTGTGGAAG GTGGA (SEQ ID NO : 386)
S100A7	Protein fixant le calcium S100 A7	S100 calcium binding protein A7	NM_17682 3.3	9,3	16,3	4,9	AAGCCTGTGACGA TGATGAAGGA (SEQ ID NO : 387)	ATGGCTCTGCTTGTGG TAGTCTGT (SEQ ID NO : 388)
S100A9	Protein fixant le calcium S100 A9	S100 calcium binding protein A9	NM_00296 5.3	63,3	78,9	51,5	GTGCGAAAAGATCT GCAAAAATTT (SEQ ID NO : 389)	GGTCTCCATGATGTG TTCTATGA (SEQ ID NO : 390)
STAT1	signal transducteur et activateur de la transcription 1	signal transducer and activator of transcription 1	NM_00731 5.3	3	1,6	1,7	ACCAAAAGAGGTCT CAATGTGGAC (SEQ ID NO : 391)	CCAAAAGCCAGAAGGG AAAAATT (SEQ ID NO : 392)
TPSAB1	tryptase alpha/beta 1	tryptase alpha/beta 1	NM_00329 4.3	19,7	0,8	2,2	ACGGCCATACTGG ATGCACTTCT (SEQ ID NO : 393)	CAGCAGCTGGTCCCTGG TAGTAGA (SEQ ID NO : 394)
TYR	tyrosinase	tyrosinase	NM_00037 2.4	3,4	2,1	2,8	ACGGGGAATCCTAC ATGGTTCCCTT (SEQ ID NO : 395)	ATGACCAGATCCGACT CGCTTGT (SEQ ID NO : 396)
VIM	Vimentine	Vimentin	NM_00338 0.2	1,5	1,9	2	AAGGAGGAAATGGC TCGTCACTT (SEQ ID NO : 397)	TCAACCAGAGGGAGT GAATCCAGA (SEQ ID NO : 398)

Tableau 3 : Biomarqueurs spécifiques de la sensibilisation et de l'irritation chez l'homme

Abréviation	Nom du gène	Nom anglais	Numéro d'accès	Taux d'augmentation par irritant	Taux d'augmentation par sensibilisant	Amorce sens	Amorce antisens
CCL27	CC chimiokine ligand 27	chemokine (C-C motif) ligand 27	NM_006664	1,2	1,5	CCCAACCTTCTGCAGCCTCC TG (SEQ ID NO : 399)	TGGCTTTCGGTAGAGCTGA GTAC (SEQ ID NO : 400)
CLEC4A	lectine de type C domaine famille 4, membre A	C-type lectin domain family 4	NM_194450	2	1,7	AAGGACTGTGCTAGAATGG AGGCT (SEQ ID NO : 401)	ATTGCCAATGTCGCTGACC TTCTG (SEQ ID NO : 402)
DSC1	desmocolline 1	desmocollin 1	NM_004948	2,6	1,6	TCGGCTTGGCGAAGAATCC ATTAG (SEQ ID NO : 403)	GGCCAGAGAACCCTTTGCCCT TCATA (SEQ ID NO : 404)
DSG2	desmogleine 2	desmoglein 2	NM_001943.3	1,3	1,7	GCTGCTGTTGCACTGAACGA AGAA (SEQ ID NO : 405)	CCAGAAAGGCAATCTTTGGC TGTGT (SEQ ID NO : 406)
EPHX1	hydrolase epoxide 1	epoxide hydrolase 1, microsomal (xenobiotic)	NM_000120.3	1,9	15,4	TGTGGTCTGGCTGCCTATA TTCT (SEQ ID NO : 407)	AGAACTTCCCTTCCAGGCCT CCAT (SEQ ID NO : 408)
GUSB	glucuronidase, beta	glucuronidase, beta	NM_000181.2	1,2	1,3	AAGAAAGTGGTGCCTAGGGA CAAAG (SEQ ID NO : 409)	GTCCAAAGGATTTGGTGTGA GCGAT (SEQ ID NO : 410)
IL10RB	recepteur beta de l'interleukin 10	interleukin 10 receptor, beta	NM_000628.3	1,8	1,3	CAGTGGAGTCACCTGCTTT TGC (SEQ ID NO : 411)	TCCGTCAAAGGTAGTATTCA TGCA (SEQ ID NO : 412)
IL20RA	recepteur alpha de l'interleukin 20	interleukin 20 receptor, alpha	NM_014432.2	2,1	1,9	TGGCTGGAGCCGAACACTC TTTA (SEQ ID NO : 413)	TTTAGCCTTGAACCTCTGATG ATTGA (SEQ ID NO : 414)
IL22R	recepteur de l'interleukine 22	interleukin 22 receptor	NM_021258.2	1,8	3	AGCCACCTGATGTGACCTGT ATCT (SEQ ID NO : 415)	TCTGTCTCCCTCCAAGGTGC ATTT (SEQ ID NO : 416)
KEAP1	Proeine associé ressemblant à kelch 1	kelch-like ECH-associated protein 1	NM_012289.3	1,3	7,2	ACGATGTGGAAACAGAGAC GTGGA (SEQ ID NO : 417)	ACGTGTGACCATCATAGCC TCCAA (SEQ ID NO : 418)

KRT10	Keratine 10	Keratin 10	NM_000421.3	1,9	1,4	AAACCGCAAAAGATGCTGAA GCCCTG (SEQ ID NO : 419)	TCAAGGCCAGTTGGGACTG TAGTT (SEQ ID NO : 420)
KRT14	Keratine 14	Keratin 14	NM_000526.4	1,6	1,2	AGTTCTCCTCTGGATCGCAG TCAT (SEQ ID NO : 421)	CCATCGTGACATCCATGA CCTT (SEQ ID NO : 422)
KRT18	Keratine 18	Keratin 18	NM_199187.1	1,6	3,8	TGCTGGAAGATGGCGAGGA CTTTA (SEQ ID NO : 423)	TCTCAGACACCACTTTGCC ATCCA (SEQ ID NO : 424)
LOR	Loricrine	Loricrin	NM_000427.2	1,6	2,1	AGCGAAGGAGTTGGAGGT GTTT (SEQ ID NO : 425)	AGAGTCAATGGCTTCTTC CAGGT (SEQ ID NO : 426)
S100A11	Protein fixant le calcium S100 A11	S100 calcium binding protein A11	NM_005620.1	1,5	1,7	AGTCCCTGATTGCTGTCTTC CAGA (SEQ ID NO : 427)	ACCAGGGTCCTTCTGGTTCT TTGT (SEQ ID NO : 428)
SERPINB3	Serpine B3	Squamous cell carcinoma antigen 1, T4-A	NM_006919.2	3,3	2,4	ACTCCTGGGTGAAAAGTCA AACGA (SEQ ID NO : 429)	CCCCTGCCCTTTGAAATA GATTGGG (SEQ ID NO : 430)
STAT3	signal transducteur et activateur de la transcription 3	Signal transducer and activator of transcription 3	NM_003150.3	1,7	1,8	GGTCTGGCTGGACAATATC ATTG (SEQ ID NO : 431)	GCTTAGTGCTCAAGATGGC CC (SEQ ID NO : 432)
TIMP3	inhibiteur tissulaire de metalloproteinase 3	tissue inhibitor of metalloproteinase 3	NM_000362.4	1,5	2	GATGCCTTCTGCAACTCCGA CA (SEQ ID NO : 433)	CATGGGGCATCTTGGTGAA GCCT (SEQ ID NO : 434)
VEGF	facteur de croissance de l'endothélium vasculaire	vascular endothelial growth factor	NM_00103375 6.1	1,6	3,3	AAGCCAGCACATAGGAGA GATGA (SEQ ID NO : 435)	TGCAGGAACATTTACACGT CTGCG (SEQ ID NO : 436)

Table 4 : gènes spécifiquement induit par les sensibilisants chez l'homme

5 On note qu'il est là aussi possible de définir des gènes spécifiquement exprimés par les molécules irritantes et sensibilisantes. La plupart de ces gènes sont communs avec ceux trouvés chez la souris comme C2TA, CCL2, CCL20, CCL22, CD14, CD83, FASCIN, IL10RA, IL2RG, IL4R, KRT17, MMP9, S100A8, STAT1. Les autres gènes trouvés n'avaient pas été testés, ou n'ont pas d'équivalent (comme IL-8) chez la souris.

REVENDICATIONS

1. Méthode d'évaluation du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test,
5 comprenant les étapes de:
- a) mise en contact d'un composé test avec un échantillon biologique;
 - b) mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163,
10 CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Col1a, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6,
15 JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK,
20 Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.
- 25 2. Méthode d'évaluation selon la revendication 1, comprenant en outre une étape de comparaison du niveau d'expression dudit au moins un gène avec une valeur de référence.
- 30 3. Méthode d'évaluation selon l'une des revendications 1 ou 2, dans laquelle le niveau d'expression dudit au moins un gène est évalué par mesure de l'expression du polypeptide codé par ledit gène ou un fragment de celui-ci, ou par

mesure du niveau d'expression de l'ARNm dudit au moins un gène ou d'un fragment de celui-ci.

4. Méthode d'évaluation selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape supplémentaire d'amplification de l'ARNm ou de l'ADNc dudit au moins un gène, de la séquence complémentaire de celle-ci ou d'un fragment de celle-ci.

5. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle l'étape b) comprend la mesure de l'expression d'au moins 2, d'au moins 3, d'au moins 4, d'au moins 5, d'au moins 6, d'au moins 7, d'au moins 8, d'au moins 9, d'au moins 10, d'au moins 11, d'au moins 12, d'au moins 13, d'au moins 14, d'au moins 15, d'au moins 16, d'au moins 17, et encore préférentiellement d'au moins 18 gènes choisis dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Col1a, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

6. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, permettant d'évaluer le potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test chez l'homme, comprenant une étape b) de mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.

7. Méthode selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, permettant d'évaluer le potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test chez la souris, comprenant une étape b) de mesure de l'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Colla, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR et VEGI.

25

8. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle l'étape b) est réalisée entre 2 et 24 heures après l'étape a), de manière encore préférée entre 4 et 18 heures après l'étape a), de manière particulièrement préférée entre 5 et 7 heures après l'étape a) et de manière préférée entre toute 6 heures après l'étape a).

30

9. Utilisation d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Col1a, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, G-CSF R, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS, MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFKB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, Thbd, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, DEFB1, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM pour l'évaluation *in vitro* du potentiel sensibilisant et irritant d'un composé test.

10. Trousse pour la mise en œuvre d'une méthode d'évaluation *in vitro* du potentiel sensibilisant et irritant selon l'une quelconque des revendications précédentes comprenant des moyens de détermination du niveau d'expression d'au moins un gène choisi dans le groupe constitué par : 41BB, ABCA6, Adam 8, ADAM17, APC, ATM, B7DC, BCL3, BLC, BTK, CAECAM, CASP1, CASP12, CCR1, CCR5, CCR7, CD122, CD124, CD163, CD209, CD23, CD244, CD24A, CD25, CD34, CD44, CHEK1, CLEC4E, CMYB, Col1a, Col3a1, CTGF, CXCR5, CYCLINE1, DR5, DR6, ELC, EMBP, ENG, EOT, EOT2, FAK, FAS, FOSB, FYB, GITRL, GM-CSF R, HSP60, HSP70, HYALURONIDASE, I309, ICOS, ID1, ID3, IGSF3, IL-10RA, IL-11RA, IL-16, IL-17R, IL1Ra, IL1RAP, IL-24, IP10, ITAK, ITGAM, ITGB6, JAK 3, JUNB, KC, Krt13, LAMA1, LAMA3A, LAMC2, LARC, LIX, LPTN, LRP1, LSST, LTA, LTBR, MARCKS,

MCP1, MCP2, MCP3, MCP5, Mcpt6, M-CSF, MIG, MIP1G, MMP2, MMP9, MR1, MYD88, Myh10, NCAM, NFkB P105, ONCM, OSMR, Procr, RANTES, RGS1, RGS14, RGS16, RGS3, RIPK1, Sele, SELP, SLP76, SMAD6, SOCS-2, SOCS-3, STAT2, TANK, TARC, TECK, TIRAP, TLR2, TNFRP75, TRAF1, 5 TRAF3, VAV1, VEGFR, VEGI, CCL2, CCL20, CCL22, CD207, CDH3, CDSN, DEFB1, FASCIN, IL2RG, IL4R, KRT17, KRT2, LCP1, MMP9, NRF2, PDZK1IP1, S100A4, S100A7, S100A9, STAT1, TPSAB1, TYR et VIM.