

## COMMUNICATION

### Le déficit en alpha-1 antitrypsine 50 ans après sa découverte

MOTS-CLÉS : DÉFICIT EN ALPHA-1-ANTITRYPSINE. EMPHYSÈME PULMONAIRE. CIRRHOSE DU FOIE. PLIAGE DES PROTÉINES

#### *Alpha-1 antitrypsin deficiency 50 years later*

KEY-WORDS (Index medicus): ALPHA 1-ANTITRYPSIN DEFICIENCY. PULMONARY EMPHYSEMA. LIVER CIRRHOSIS. PROTEIN FOLDING

Jean-François MORNEX \*

#### Jean-François Mornex déclare :

- être ou avoir été administrateur de : centre Léon Bérard, Lyon Biopole et des fondations Synergie Lyon cancer, Neurodis, Finovi et Centaure ;
- avoir reçu des honoraires de : Pierre Fabre, Boehringer Ingelheim, Actéliion, LFB Biomédicaments, Pfizer, GSK et United Therapeutics ;
- avoir reçu un soutien financier pour participer à des réunions médico-scientifiques de: Actéliion, Pfizer, GSK, VitalAir, Sanofi-Aventis, Chiesi, Boehringer Ingelheim, Bioprojet Pharma, Novartis, Almirall et LFB Biomédicaments ;
- avoir reçu des crédits de recherche de : LFB Biomédicaments.

#### RÉSUMÉ

*Le déficit en alpha-1 antitrypsine est une maladie génétique fréquente associée à un emphyseme chez le fumeur et parfois une hépatopathie. En dehors de la greffe pulmonaire ou hépatique, seul un traitement substitutif, proposé aux malades emphysemateux non fumeurs modérément sévères peut ralentir la progression du processus emphysemateux. La compréhension de la pathologie moléculaire de la forme la plus fréquente PiZZ (mauvais pliage de la molécule, rétention et agrégation dans le reticulum endoplasmique rugueux) permet d'envisager des approches thérapeutiques de correction de la protéostasie. Le déficit en alpha-1 antitrypsine reste méconnu et insuffisamment diagnostiqué.*

\* Université de Lyon ; université Lyon 1 ; INRA UMR754 ; Hospices Civils de Lyon — 69007, Lyon ; e-mail : mornex@univ-lyon1.fr

Tirés à part : Professeur Jean-François MORNEX.

Article reçu le 22 juillet 2013, accepté le 9 décembre 2013

## SUMMARY

*Alpha-1 antitrypsin deficiency is a frequent genetic disorder associated with pulmonary emphysema in smokers and with liver cirrhosis. Aside from lung or liver transplantation, only replacement therapy can currently slow the progression of emphysema. Progress in the pathogenesis of this disorder (protein misfolding, RER aggregation) is opening the way to new strategies such as proteostasis control. Alpha-1 antitrypsin deficiency remains poorly known and underdiagnosed.*

## INTRODUCTION

L'alpha-1 antitrypsine, principal inhibiteur de l'élastase des neutrophiles est une glycoprotéine sécrétée par le foie. La mutation déficitaire principale PiZ entraîne un défaut de repliement et une rétention hépatocytaire susceptible de conduire à une cirrhose hépatique. Le déficit en alpha-1 antitrypsine ne permet pas la protection du poumon profond en cas d'agression élastasique lorsque le malade fume conduisant au développement d'un emphysème, forme particulière de bronchopneumopathie chronique obstructive.

## IL Y A 50 ANS...

... à Malmö, en Suède, Carl-Bertil Laurell, biochimiste médical expert en électrophorèse des protéines, observe chez cinq malades l'absence de la bande correspondant aux alpha-1 globulines et décrit ainsi le déficit en alpha-1 antitrypsine ; il demande à un jeune médecin, Sten Eriksson de les caractériser cliniquement ; celui-ci décrit un emphysème chez 3 d'entre eux ; l'article original a été republié récemment [1].

## L'ALPHA-1 ANTITRYPSINE EST LE PROTOTYPE DES SERPINES

Les serpinines constituent une superfamille de plusieurs centaines de protéines apparentées inhibant les protéases à sérine (d'où le nom de SERpine Protease Inhibitor) de l'orge aux mammifères en passant par les bactéries et les virus [2]. L'alpha-1 antitrypsine est une glycoprotéine sérique d'origine hépatique codée par le gène *SERPINA1* dont le polymorphisme génétique de est reflété par l'hétérogénéité électrophorétique dans un gradient de pH (isoélectrofocalisation) ; les différents allèles sont dénommés d'après leur migration précédé de Pi pour protease inhibitor (de PiB à PiZ). L'alpha-1 antitrypsine a comme seul rôle d'inhiber l'élastase des neutrophiles dont elle est le principal inhibiteur [3]. La diminution de l'alpha-1

antitrypsine plasmatique et donc alvéolaire ne permet pas d'inhiber l'activité de l'élastase des neutrophiles autorisant ainsi la dégradation du poumon profond et l'emphysème qui est la principale complication du déficit en alpha-1 antitrypsine d'autant plus que le tabagisme augmente l'activité élastasique alvéolaire [3].

## LE DÉFICIT EN ALPHA-1 ANTITRYPSINE EST UNE MALADIE GÉNÉTIQUE AUTOSOMIQUE FRÉQUENTE

PiM étant l'allèle normal, les homozygotes PiMM ont une concentration sérique supérieur à 1g/L [4]. PiS et PiZ, apparus respectivement au sud et au nord de l'Europe il y a plus de cent générations [5], sont les 2 allèles mutés les plus fréquemment responsables du déficit (tableau 1). Les homozygotes PiZZ présentent un déficit sévère tandis que des déficits modérés sont associés aux phénotypes PiSZ, PiSS et même PiMZ [4]. Le déficit en alpha-1 antitrypsine est le principal facteur de risque génétique de BPCO (bronchopneumopathie chronique obstructive) selon l'importance du déficit (tableau 1). Récemment de nombreuses études par GWAS<sup>1</sup> ont permis d'identifier divers variants alléliques associés à un risque de BPCO ou d'emphysème mais le puissance statistique reste généralement faible [6] sauf justement pour des SNP<sup>2</sup> du gène *SERPINA1* [7].

TABLEAU 1. — Alpha-1 antitrypsine : lien entre génotype, concentration plasmatique et risque relatif de BPCO.

Génotype	Nombre estimé en France [48]	Concentration (g/L) [4]	Risque Relatif de BPCO
PiMM	> 50 000 000	>1	1
PiMS	7 750 000	0,88-1,37	
PiMZ	1 250 000	0,66-1,00	2,3 [49]
PiSS	300 000	0,73-1,06	
PiSZ	100 000	0,49-0,66	3,26 [50]
PiZZ	7 750	<0,4	20 [51]

## LES DÉFICITAIRES PIZZ NE SONT PAS TOUS ÉGAUX MAIS L'EMPHY-SÈME PAR DÉFICIT EN ALPHA-1 ANTITRYPSINE EST UNE MALADIE GRAVE

À 32 ans le VEMS (volume expiratoire maximum en une seconde) et le scanner thoracique sont normaux [8], de même que l'espérance de vie [9] chez le déficitaire non fumeur. Les trois quart des déficitaires PiZZ meurent d'emphysème ou avec [10].

1. GWAS pour genome wide association study ou études d'association pan-génomiques.

2. SNP pour *single nucleotide polymorphism* ou polymorphisme nucléotidique.

Classiquement, un fumeur jeune déficitaire en alpha-1 antitrypsine développe un emphysème diffus panlobulaire prédominant aux bases avec un déclin rapide du VEMS, un KCO (coefficient de transfert du monoxyde de carbone) bas et une espérance de vie réduite [11]. Le tabagisme actif influe sur l'âge de début de la dyspnée [12], le VEMS [13] et la survie mais des gènes modificateurs interviennent probablement [14]. Le tableau clinique n'est pas toujours aussi caractéristique : KCO [15] ou VEMS peu abaissé [16], emphysème prédominant aux sommets [17].

## QUAND ET COMMENT CHERCHER UN DÉFICIT EN ALPHA-1 ANTITRYPSINE?

Il est recommandé de chercher un déficit en alpha-1 antitrypsine chez tous les malades atteints d'emphysème pulmonaire (fumeur ou non), d'asthme inhabituel (non allergique, non réversible), de BPCO précoce, de panniculite (manifestation exceptionnelle), d'hépatopathie non expliquée, et dans la fratrie et chez les enfants de maladies déficitaires en alpha-1 antitrypsine [18]. Le médecin prescrit un dosage, seul facturé, d'alpha-1 antitrypsine <sup>3</sup>. En cas de déficit, un phénotype par isoélectrofocalisation ou un " génotype " par détection par PCR <sup>4</sup> de la mutation caractéristique des allèles PiS ou PiZ <sup>5</sup> est prescrit [19]. Tous ces examens peuvent être réalisés sur une goutte de sang séché [20]. À l'avenir l'examen de référence sera un séquençage du gène [21]. Cependant un déficit en alpha-1 antitrypsine n'est que rarement détecté chez les BPCO [22]: moins de 2 % des emphysémateux [23]. Enfin, l'allèle PiZ est surreprésenté chez les malades présentant certaines vascularites [24].

## TRAITEMENT SUBSTITUTIF PAR PERFUSION D'ALPHA-1 ANTITRYPSINE HUMAINE PLASMATIQUE

Comme pour d'autres maladies dues au déficit d'une protéine du sang il est possible de compenser ce déficit par perfusion de la protéine purifiée à partir du plasma de donneurs de sang. Dès les années 1980 l'efficacité biologique en a été montrée: augmentation des concentrations sériques et alvéolaires d'alpha-1 antitrypsine et de l'activité antiélastasique [25]. Cliniquement, les perfusions d'alpha-1 antitrypsine humaine plasmatisque diminuent la fréquence des exacerbations [26], améliorent la survie et ralentissent le déclin du VEMS dans des études de cohorte menées aux USA [27, 28]. Enfin, elles protègent de la diminution de la densité pulmonaire tomodynamométrique dans des études randomisées [29] <sup>6</sup>. Le traitement substitutif

3. 1807 de la table nationale de biologie (disponible sur : [www.ameli.fr](http://www.ameli.fr), consulté le 21/07/2013) ; B30 soit 8,11 €.

4. PCR : polymerase chain reaction ou amplification en chaîne de polymérase.

5. PiS : Val264Glu et PiZ : Lys342Glu.

6. Chapman KC, Burdon JGW, Piitulainen E, *et al* — IV alpha-1 antitrypsin preserves lung density in homozygous alpha1 antitrypsin deficiency ; a randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 187, A606.

du déficit en alpha-1 antitrypsine est coûteux (plus de 100 k €/an) représentant 60 % des coûts médicaux d'un emphysème aux USA [30]. Le rapport coût-efficacité reste discuté ; parmi quatre études publiées trois considéraient, sur la base de l'amélioration de la survie, le traitement substitutif comme coût-efficace [31-33]. Il s'agit d'un produit dérivé du sang, ce qui doit être évoqué systématiquement avec le malade (Circulaire DGS/SQ 4 n° 98-231 <sup>7</sup>) ; sa préparation comportent des étapes de précipitation, chromatographies, ultrafiltration et lyophilisation. La délivrance est hospitalière, le médicament reste dans la tarification à l'activité. Il n'y a pas actuellement d'alternative à la perfusion d'alpha-1 antitrypsine plasmatisée humaine ; plusieurs approches sont en cours d'essais (tableau 2) ; c'est le cas de l'administration par aérosol. L'alpha-1 antitrypsine humaine peut être produite, comme d'autres protéines d'intérêt thérapeutique, par différentes techniques de génie génétique mais aucune d'entre elle n'est développée actuellement. La « thérapie génique », est biologiquement efficace [34], son efficacité clinique fait l'objet d'essais. En dehors de cela le traitement de l'emphysème par déficit en alpha-1 antitrypsine est celui de toute bronchopneumopathie chronique obstructive (bronchodilatateurs, réhabilitation, oxygénothérapie, etc.) en particulier, la transplantation pulmonaire est le traitement de choix des emphysèmes sévères par déficit en alpha-1 antitrypsine [35].

TABLEAU 2. — essais thérapeutiques en cours (A1AT: alpha-1 antitrypsine ; AAV: adeno associated virus ; MSC: cellules souches mésenchymateuses. Source en ligne : disponible sur <<http://clinicaltrials.gov/>> (consulté le 21/07/2013)

Approche	Produit	Protocole
aérosols	A1AT humaine recombinante A1AT humaine plasmatisée	NCT 00157092, NCT00161707 NCT01217671,
thérapie génique	rAAV-hA1AT	NCT377416, NCT430768, NCT01054339
chaperone chimique	acide 4 phényl butyrique	NCT00067756
stimulation de l'autophagie	carbamazépine	NCT01379469
thérapie cellulaire	MSC	NCT 00683722, NCT01110252, NCT01306513 NCT01758055, NCT01849159

## MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE L'ACCUMULATION DE L'ALPHA-1 ANTITRYPSINE PIZ (POUR REVUE [36])

L'accumulation dans le réticulum endoplasmique rugueux des hépatocytes d'alpha-1 antitrypsine s'explique par deux mécanismes pathologiques moléculaires complémentaires conséquences de la mutation ponctuelle unique du gène de l'alpha-1 antitrypsine PiZ. Au sein du réticulum endoplasmique rugueux, l'alpha-1 antitrypsine comme toutes les protéines acquière progressivement une structure

7. Disponible sur <<http://www.sante.gouv.fr/fichiers/bo/1998/98-18/a0181185.htm>> accédé 20/07/2013.

tertiaire par pliage de la molécule. Mais la molécule PiZ est mal pliée, elle reste retenue dans le réticulum endoplasmique rugueux ; ce phénomène n'est pas spécifique au déficit en alpha-1 antitrypsine PiZ (tableau 3). La molécule d'alpha-1 antitrypsine comporte par ailleurs une boucle mobile portant le site actif qui interagit pour l'inhiber avec l'elastase ; l'alpha-1 antitrypsine est métastable entre 2 configurations selon la position de cette boucle. Comme la structure tertiaire n'est pas obtenue complètement, la métastabilité est impossible, autorisant la constitution d'homopolymère d'alpha-1 antitrypsine qui s'agrège.

TABLEAU 3. — Exemples de maladies dues à une anomalie du pliage moléculaire (CFTR: cystic fibrosis transmembrane regulator)

Maladie	Gène	Mutation	Destinée
Mucoviscidose	<i>CFTR</i> [52]	ΔF508	Membrane cellulaire
Maladie de Gaucher	<i>β-glucocerebrosidase</i> [53]	L444 G202R	Membrane lysosomiale
Hémochromatose	<i>HFE</i> [54]	C282Y	Membrane cellulaire
Déficit en alpha-1 antitrypsine	<i>SERPINA1</i> [55, 56]	PiZ PiMmalton PiSiiyama PiMpisa PiPbrescia PiKing's PiEtauriano PiYorzinuovi	Sécrétion

## CONSÉQUENCES HÉPATIQUES DE L'ACCUMULATION DE L'ALPHA-1 ANTITRYPSINE PIZ

L'accumulation de protéines mal pliées dans le réticulum endoplasmique rugueux active un ensemble de molécules induisant d'une part autophagie [37] et d'autre part apoptose, prolifération cellulaire et réponse proinflammatoire [38] responsables de l'installation d'une cirrhose et d'un cancer. Chez les enfants PiZZ, l'atteinte hépatique est rare [39], vraisemblablement conditionnée par des gènes modificateurs et peut conduire à une greffe hépatique. Chez les adultes déficitaires PiZZ, la fréquence de l'atteinte hépatique est évaluée entre 15 % et 20 % par des méthodes non invasives (fibrotest) <sup>8</sup> ou invasives (biopsie) [40]. La présence de l'allèle PiZ à l'état hétérozygote expose aussi au risque d'hépatopathie [41].

### ... ET DEMAIN

Plusieurs approches de modulation de la protéostasie sont efficaces dans des modèles précliniques et en cours d'essais thérapeutiques (tableau 2). C'est le cas de l'aide

8. Mornex JF, Restier LL, Dahlani R, Guillaud O, Lachaux A. Atteinte hépatique au cours du déficit en alpha-1 antitrypsine chez l'adulte. Rev Mal Respir. 2013;30, supplément 1, A133.

à la sortie du réticulum endoplasmique rugueux par les protéines mal pliées par l'acide 4 phényl butyrique [42], de même que la stimulation de l'autophagie par la carbamazepine [43] ou l'extinction de la transcription par des ARN interférents [44]. Alors que des études chez l'animal ont suggéré que l'administration de rétinoïdes était susceptible de prévenir le développement d'un emphysème expérimental, un essai chez l'homme n'a pas montré d'efficacité [45]. L'actualité est l'utilisation de cellules souches (tableau 2) pour remplacer les hépatocytes PiZZ [46], éventuellement autologues après correction *in vitro* de l'anomalie génétique [47].

## CONCLUSION

Les mécanismes moléculaires et cellulaires du déficit en alpha-1 antitrypsine, en particulier dans sa forme génétique la plus fréquente (PiZZ), ont été progressivement élucidés au cours du dernier quart de siècle, permettant d'envisager plusieurs voies d'intervention thérapeutique susceptible de limiter la rétention dans l'hépatocyte, de prévenir une hépatopathie mais risque probablement de n'augmenter que très peu la concentration plasmatique des déficitaires en alpha-1 antitrypsine.

## RÉFÉRENCES

- [1] Laurell CB, Eriksson S. The electrophoretic alpha1-globulin pattern of serum in alpha1-antitrypsin deficiency. COPD 2013;10 Suppl 1:3-8.
- [2] Irving JA, Pike RN, Lesk AM, et al. Phylogeny of the serpin superfamily: implications of patterns of amino acid conservation for structure and function. Genome Res. 2000;10:1845-64.
- [3] Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. N Engl J Med. 2000 ; 343:269-80.
- [4] Ferrarotti I, Thun GA, Zorzetto M, et al. Serum levels and genotype distribution of alpha1-antitrypsin in the general population. Thorax. 2012;67:669-74.
- [5] Seixas S, Garcia O, Trovoada MJ, et al. Patterns of haplotype diversity within the serpin gene cluster at 14q32.1: insights into the natural history of the alpha1-antitrypsin polymorphism. Hum Genet. 2001;108:20-30.
- [6] Berndt A, Leme AS, Shapiro SD. Emerging genetics of COPD. EMBO Mol Med. 2012; 4:1144-55.
- [7] Obeidat M, Wain LV, Shrine N, et al. A comprehensive evaluation of potential lung function associated genes in the SpiroMeta general population sample. PLoS One. 2011;6:e19382.
- [8] Bernspang E, Diaz S, Stoel B, et al. CT lung densitometry in young adults with alpha-1-antitrypsin deficiency. Respir Med. 2011;105:74-9.
- [9] Tanash HA, Nilsson PM, Nilsson JA, et al. Clinical course and prognosis of never-smokers with severe alpha-1-antitrypsin deficiency (PiZZ). Thorax. 2008;63:1091-5.
- [10] Eriksson S. Alpha 1-antitrypsin deficiency: lessons learned from the bedside to the gene and back again. Historic perspectives. Chest. 1989;95:181-9.

- [11] Brantly ML, Paul LD, Miller BH, et al. Clinical features and history of the destructive lung disease associated with alpha-1-antitrypsin deficiency of adults with pulmonary symptoms. *Am Rev Respir Dis.* 1988;138:327-36.
- [12] Larsson C. Natural history and life expectancy in severe alpha1-antitrypsin deficiency, *Pi Z. Acta Med Scand.* 1978;204:345-51.
- [13] Piitulainen E, Eriksson S. Decline in FEV1 related to smoking status in individuals with severe alpha1-antitrypsin deficiency (PiZZ). *Eur Respir J.* 1999;13:247-51.
- [14] Wood AM, Needham M, Simmonds MJ, et al. Phenotypic differences in alpha 1 antitrypsin-deficient sibling pairs may relate to genetic variation. *COPD.* 2008;5:353-9.
- [15] Wilson JS, Galvin JR. Normal diffusing capacity in patients with PiZ alpha(1)-antitrypsin deficiency, severe airflow obstruction, and significant radiographic emphysema. *Chest.* 2000 ; 118:867-71.
- [16] McElvaney NG, Stoller JK, Buist AS, et al. Baseline characteristics of enrollees in the National Heart, Lung and Blood Institute Registry of alpha 1-antitrypsin deficiency. *Alpha 1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group.* *Chest.* 1997;111:394-403.
- [17] Parr DG, Stoel BC, Stolk J, et al. Pattern of emphysema distribution in alpha1-antitrypsin deficiency influences lung function impairment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:1172-8.
- [18] Anonyme. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:818-900.
- [19] Ferrarotti I, Scabini R, Campo I, et al. Laboratory diagnosis of alpha1-antitrypsin deficiency. *Transl Res.* 2007;150:267-74.
- [20] Wencker M, Marx A, Konietzko N, et al. Screening for alpha1-Pi deficiency in patients with lung diseases. *Eur Respir J.* 2002;20:319-24.
- [21] Joly P, Francina A, Lacan P, et al. Place de l'analyse genotypique en complement du phenotype et du dosage de l'alpha-1 antitrypsine serique. *Ann Biol Clin (Paris).* 2011;69:571-6.
- [22] Aboussouan LS, Stoller JK. Detection of alpha-1 antitrypsin deficiency: a review. *Respir Med.* 2009;103:335-41.
- [23] Mittman C, Barbela T, Lieberman J. Alpha 1 —antitrypsin deficiency as an indicator of susceptibility to pulmonary disease. *J Occup Med.* 1973;15:33-8.
- [24] Lyons PA, Rayner TF, Trivedi S, et al. Genetically distinct subsets within ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med.* 2012;367:214-23.
- [25] Wewers MD, Casolaro MA, Sellers SE, et al. Replacement therapy for alpha 1-antitrypsin deficiency associated with emphysema. *N Engl J Med.* 1987;316:1055-62.
- [26] Lieberman J. Augmentation therapy reduces frequency of lung infections in antitrypsin deficiency: a new hypothesis with supporting data. *Chest.* 2000;118:1480-5.
- [27] Anonyme. Survival and FEV1 decline in individuals with severe deficiency of alpha1-antitrypsin. The Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:49-59.
- [28] Tonelli AR, Rouhani F, Li N, et al. Alpha-1-antitrypsin augmentation therapy in deficient individuals enrolled in the Alpha-1 Foundation DNA and Tissue Bank. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2009;4:443-52.
- [29] Stockley RA, Parr DG, Piitulainen E, et al. Therapeutic efficacy of alpha-1 antitrypsin augmentation therapy on the loss of lung tissue: an integrated analysis of 2 randomised clinical trials using computed tomography densitometry. *Respir Res.* 2010;11:136.
- [30] Mullins CD, Wang J, Stoller JK. Major components of the direct medical costs of alpha1-antitrypsin deficiency. *Chest.* 2003;124:826-31.



- [31] Hay JW, Robin ED. Cost-effectiveness of alpha-1 antitrypsin replacement therapy in treatment of congenital chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Public Health*. 1991;81:427-33.
- [32] Alkins SA, O'Malley P. Should health-care systems pay for replacement therapy in patients with alpha(1)-antitrypsin deficiency? A critical review and cost-effectiveness analysis. *Chest*. 2000 ; 117:875-80.
- [33] Sclar DA, Evans MA, Robison LM, et al. alpha 1-Proteinase inhibitor (human) in the treatment of hereditary emphysema secondary to alpha1-antitrypsin deficiency: number and costs of years of life gained. *Clin Drug Investig*. 2012;32:353-60.
- [34] Wilson AA, Murphy GJ, Hamakawa H, et al. Amelioration of emphysema in mice through lentiviral transduction of long-lived pulmonary alveolar macrophages. *J Clin Invest*. 2010 ; 120:379-89.
- [35] Tanash HA, Riise GC, Hansson L, et al. Survival benefit of lung transplantation in individuals with severe alpha1-anti-trypsin deficiency (PiZZ) and emphysema. *J Heart Lung Transplant*. 2011;30:1342-7.
- [36] McElvaney NG, Greene CM. Mechanisms of protein misfolding in conformational lung diseases. *Curr Mol Med*. 2012;12:850-9.
- [37] Hidvegi T, Mirnic K, Hale P, et al. Regulator of G Signaling 16 is a marker for the distinct endoplasmic reticulum stress state associated with aggregated mutant alpha1-antitrypsin Z in the classical form of alpha1-antitrypsin deficiency. *J Biol Chem*. 2007;282:27769-80.
- [38] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*. 2011;334:1081-6.
- [39] Sharp HL, Bridges RA, Krivit W, et al. Cirrhosis associated with alpha-1-antitrypsin deficiency: a previously unrecognized inherited disorder. *J Lab Clin Med*. 1969;73:934-9.
- [40] Dawwas MF, Davies SE, Griffiths WJ, et al. Prevalence and risk factors for liver involvement in individuals with PiZZ-related lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187:502-8.
- [41] Hodges JR, Millward-Sadler GH, Barbatis C, et al. Heterozygous MZ alpha 1-antitrypsin deficiency in adults with chronic active hepatitis and cryptogenic cirrhosis. *N Engl J Med*. 1981 ; 304:557-60.
- [42] Burrows JA, Willis LK, Perlmutter DH. Chemical chaperones mediate increased secretion of mutant alpha 1-antitrypsin (alpha 1-AT) Z: A potential pharmacological strategy for prevention of liver injury and emphysema in alpha 1-AT deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 ; 97:1796-801.
- [43] Marciniak SJ, Lomas DA. Alpha1-antitrypsin deficiency and autophagy. *N Engl J Med*. 2010 ; 363:1863-4.
- [44] Li C, Xiao P, Gray SJ, et al. Combination therapy utilizing shRNA knockdown and an optimized resistant transgene for rescue of diseases caused by misfolded proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:14258-63.
- [45] Stolk J, Stockley RA, Stoel BC, et al. Randomised controlled trial for emphysema with a selective agonist of the gamma-type retinoic acid receptor. *Eur Respir J*. 2012;40:306-12.
- [46] Ding J, Yannam GR, Roy-Chowdhury N, et al. Spontaneous hepatic repopulation in transgenic mice expressing mutant human alpha1-antitrypsin by wild-type donor hepatocytes. *J Clin Invest*. 2011;121:1930-4.
- [47] Yusa K, Rashid ST, Strick-Marchand H, et al. Targeted gene correction of alpha1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011;478:391-4.
- [48] de Serres FJ, Blanco I, Fernandez-Bustillo E. Genetic epidemiology of alpha-1 antitrypsin deficiency in southern Europe: France, Italy, Portugal and Spain. *Clin Genet*. 2003;63:490-509.

- [49] Hersh CP, Dahl M, Ly NP, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in alpha1-antitrypsin PI MZ heterozygotes: a meta-analysis. *Thorax*. 2004;59:843-9.
- [50] Dahl M, Hersh CP, Ly NP, et al. The protease inhibitor PI\*S allele and COPD: a meta-analysis. *Eur Respir J*. 2005;26:67-76.
- [51] Chappell S, Daly L, Morgan K, et al. Cryptic haplotypes of SERPINA1 confer susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Mutat*. 2006;27:103-9.
- [52] Qu BH, Thomas PJ. Alteration of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator folding pathway. *J Biol Chem*. 1996;271:7261-4.
- [53] Butters TD. Gaucher disease. *Curr Opin Chem Biol*. 2007;11:412-8.
- [54] Gray SG, Crowe J, Lawless MW. Hemochromatosis: as a conformational disorder. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41:2094-7.
- [55] Medicina D, Montani N, Fra AM, et al. Molecular characterization of the new defective P(brescia) alpha1-antitrypsin allele. *Hum Mutat*. 2009;30:E771-81.
- [56] Fra AM, Gooptu B, Ferrarotti I, et al. Three new alpha1-antitrypsin deficiency variants help to define a C-terminal region regulating conformational change and polymerization. *PLoS One*. 2012;7:e38405.