

Intitulé du projet : Tolérance immunitaire induite par l'allaitement maternel

Les auteurs

- Nicolas Glaichenhaus (1), Professeur à l'Université de Nice-Sophia Antipolis, Nicolas.glaichenhaus@unice.fr, tel : 04 93 95 77 85
- Valérie Julia (1), Chargée de Recherche à l'INSERM, julia@ipmc.cnrs.fr
- Valérie Verhasselt (1), Chargée de Recherche à l'INSERM, verhasse@unice.fr
- Eric Mosconi (1), Doctorant à l'Université de Nice-Sophia Antipolis
- David Dombrowicz (2) Directeur de Recherche à l'INSERM

Les laboratoires

- (1) UMR_S 924, Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, 660 Route des Lucioles, 06560 Valbonne, France
- (2) UMR_S 547, Institut Pasteur de Lille, Université de Lille, 1 Rue du Dr. Roux, Lille F-59000, France

Organismes de rattachement

- (1) et (2) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
- (1) Université de Nice-Sophia Antipolis
- (2) Université de Lille et Institut Pasteur de Lille

Situation du sujet

L'asthme allergique est une maladie respiratoire chronique qui se caractérise par l'infiltration des voies respiratoires par plusieurs types cellulaires dont des éosinophiles et des lymphocytes T. Cette maladie est la conséquence d'une réponse immunitaire inappropriée contre des substances présentes dans l'air appelées « allergènes ». Chez les individus allergiques, cette réponse immunitaire est caractérisée par la présence d'une population de lymphocytes T, appelés Th2, qui ont la particularité de produire de l'interleukine (IL)-4, IL-5 et IL-13 lorsqu'ils sont en présence des allergènes dont ils sont spécifiques. La production de ces cytokines est à l'origine d'une cascade d'événements moléculaires et cellulaires qui sont à l'origine de la pathologie.

La prévalence de l'asthme est en augmentation constante depuis le début du 20^{ème} siècle, notamment dans les pays industrialisés. Ainsi, alors que l'asthme n'existait pratiquement pas en Europe à la fin du 19^{ème} siècle, 10 à 15% des enfants sont actuellement asthmatiques. Ces résultats, de même que de très nombreuses études épidémiologiques, suggèrent que l'augmentation de l'asthme est étroitement liée à l'évolution du mode de vie dans les pays industrialisés. Parmi les facteurs souvent incriminés, on peut notamment citer (1) une meilleure hygiène et donc une exposition moins fréquente à certains agents infectieux notamment pendant la petite enfance, (2) une exposition plus fréquente et plus importante aux acariens qui sont particulièrement « allergisants », (3) la surcharge pondérale observée chez une proportion importante de la population et (4) une modification des pratiques alimentaires. Si il est encore difficile de déterminer dans qu'elle mesure et surtout comment ces différents facteurs contribuent à l'augmentation de l'incidence de l'asthme dans les pays industrialisés, il est certain que un ou plusieurs facteurs environnementaux jouent un rôle déterminant dans cette évolution.

Chez les mammifères, le lait maternel est une source essentielle de facteurs nutritifs qui sont

nécessaires au développement et à la croissance du nouveau-né. Toutefois, le lait peut également contenir des allergènes environnementaux qui ont été ingérés ou inhalés par la mère. Ainsi, quelques heures après un repas, de nombreux antigènes alimentaires peuvent être détectés dans le lait. En d'autres termes, une mère qui est exposée à des allergènes environnementaux peut transmettre ces allergènes à son enfant par l'intermédiaire du lait maternel. D'un point de vue immunologique, la période néonatale est un moment crucial pendant lequel le système immunitaire d'un individu apprend à faire la distinction entre les molécules qui sont présentes naturellement dans l'organisme (ce que les immunologistes appellent le « soi ») et les molécules qui lui sont étrangères. Ainsi, on peut imaginer que si un nouveau-né est exposé à des allergènes de l'environnement via le lait maternel, il va développer un état de « tolérance immunitaire » comme si ces allergènes étaient une partie de lui-même. Une fois adulte, si l'individu est exposé à ce même allergène, son système immunitaire ne va pas le reconnaître comme étranger et il ne développera donc pas d'allergies. C'est cette hypothèse de travail que nous avons voulu vérifier dans le cadre de ce projet.

Matériels et méthodes, et principaux résultats

Au cours des dernières années, les immunologistes ont mis au point plusieurs protocoles expérimentaux permettant de rendre des animaux asthmatiques, et notamment des rongeurs. Dans l'un de ces protocoles, des souris sont immunisées deux fois à une semaine d'intervalle par une injection d'ovalbumine de poule (OVA) et d'hydroxyde d'aluminium (Alum) dans le péritoine. Deux semaines plus tard, ces souris sont exposées pendant une heure tous les jours et pendant 5 jours à des aérosols d'OVA. Ce traitement provoque chez la souris une infiltration d'éosinophiles et de lymphocytes dans les voies respiratoires, une hyperréactivité bronchique et l'apparition dans le sang d'immunoglobulines de type IgE.

Dans une première série d'expérience, nous avons modifié ce protocole expérimental afin de déterminer si l'exposition d'une mère à des allergènes pendant la période d'allaitement pouvait induire un état de tolérance immunitaire chez ses petits. En pratique, nous avons exposé des mères à des aérosols d'OVA pendant la période d'allaitement, c'est à dire pendant trois semaines après la naissance des petits. Une fois devenus adultes, ces souris ont été immunisées avec de l'OVA puis exposées à des aérosols du même antigène. Contrairement à des souris d'un groupe contrôle qui avaient été allaités par des mères n'ayant jamais été exposées à de l'OVA, ces souris ne sont pas devenues asthmatiques, un résultat qui validait notre hypothèse de travail.

Nous nous sommes ensuite attachés à élucider les mécanismes moléculaires et cellulaires responsables de cet état de tolérance immunitaire. En accord avec notre hypothèse de travail, nous avons pu détecter la présence d'OVA dans le lait des mères qui avaient été soumises à des aérosols de cet antigène. Nous avons également pu montrer que la tolérance immunitaire induite par l'allaitement maternel était associée au développement chez le nouveau-né d'une population particulière de lymphocytes T appelés « lymphocytes T régulateurs » qui présentent la particularité de pouvoir inhiber l'activité d'autre population cellulaires, et notamment celle des lymphocytes Th2 qui sont responsables du développement de l'asthme. Enfin, nous avons pu montrer la tolérance immunitaire induite par l'allaitement maternel était plus profonde et persistait plus longtemps lorsque les mères étaient elles-mêmes allergiques à l'OVA. Dans ce dernier cas de figure, l'OVA est présent dans le lait maternel, non pas sous forme libre, mais associé à des immunoglobulines de type IgG. Ces complexes immuns OVA-IgG sont particulièrement stables et sont notamment capables de traverser la barrière intestinale via à un

mécanisme de transport actif qui fait intervenir le récepteur Fc néonatal (FcRn). Les complexes immuns sont ensuite captés par des cellules présentatrices d'antigènes, un phénomène qui conduit au développement de lymphocytes T régulateurs réagissant sélectivement avec l'OVA.

En résumé, les expériences que nous avons effectuées chez la souris nous ont permis de démontrer que des allergènes présents dans l'environnement pouvaient être transférés d'une mère à un nouveau-né via le lait maternel. Ce transfert s'accompagne chez le nouveau-né du développement d'un état de tolérance immunitaire qui est associé à la différenciation et/ou à l'expansion sélective de lymphocytes T régulateur réagissant avec l'allergène. Ces lymphocytes T régulateurs restent présents chez l'adulte et sont capables de prévenir le développement de l'asthme si les souris sont exposées à ce même allergène.

Principales publications issues de ce travail (les noms des membres de l'équipe financée sont soulignés)

- Verhasselt, V., V. Milcent, J. Cazareth, A. Kanda, S. Fleury, D. Dombrowicz, N. Glaichenhaus, and V. Julia. (2008). Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. *Nat Med* 14:170-175.
- Mosconi, E., A. Rekima, B. Seitz-Polski, A. Kanda, S. Fleury, E. Tissandie, R. Monteiro, D., D. Dombrowicz, V. Julia, N. Glaichenhaus, and V. Verhasselt. (2010). Breast milk immune complexes are potent inducers of oral tolerance in neonates and prevent asthma development. *Mucosal Immunol.* 3: 461-74.

Faits marquants, les retombées prévisibles et les perspectives de valorisation

Outre son intérêt dans le domaine de l'immunologie fondamentale, les résultats que nous avons obtenus dans le cadre de ce projet pourraient permettre de définir de nouvelles stratégies de prévention de l'asthme en modifiant par exemple les pratiques d'allaitement et la qualité des laits artificiels.