

Les allergènes recombinants : évolution des idées

Bernard David

► **To cite this version:**

Bernard David. Les allergènes recombinants : évolution des idées. 33ème journée du GAICRM-Groupement d'Allergologie et d'Immunologie clinique du Rhône moyen, Mar 2010, Suze-la-Rousse (Drôme, France), France. pasteur-01349078

HAL Id: pasteur-01349078

<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr/pasteur-01349078>

Submitted on 26 Jul 2016

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

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



33^e journée du GAICRM
Symposium du 20 mars 2010
Suze la Rousse

LES ALLERGENES RECOMBINANTS : EVOLUTION DES IDEES

Professeur Bernard DAVID

Institut Pasteur

Communément on appelle allergène toute substance organique provenant des animaux (acariens, chat, cheval...) et des végétaux (pollens, légumes...) capable de donner une réaction allergique, par inhalation, ingestion ou contact. Or ces éléments qui représentent des entités animales ou végétales, largement répandues dans notre environnement. Lorsqu'ils pénètrent dans notre organisme se comportent comme des antigènes et sont parfaitement inoffensifs chez des sujets sains, ce qui a priori ne justifie pas qu'ils soient dénommés allergènes. Ce terme est donc restrictif, car il ne prend son sens que chez le sujet...allergique ! Cette ambiguïté existe depuis le début du siècle.

Il faudra plus d'un demi-siècle pour comprendre que la plupart des très nombreuses substances hétérogènes de notre environnement induisent une réponse immunitaire en fonction de multiples concours de circonstances. Avant de définir la notion d'allergène, on parlera plus volontiers de sources allergéniques favorisant un état d'hypersensibilité immédiate dont le mécanisme consiste à synthétiser des IgE spécifiques. Par la suite, d'une part le développement de la génétique moléculaire et l'immunogénétique va confirmer le rôle primordial de notre patrimoine héréditaire dans l'établissement d'un état d'hypersensibilité dont la régulation est soumise à l'exposition de notre environnement et d'autre part la pharmacogénétique apportera sa contribution pour explorer toutes les interactions des médiateurs de l'inflammation. Quant à l'allergène, généralement une protéine, où se situe « sa recherche » ? Là aussi, l'évolution fut lente puisqu'il fallut attendre que les progrès réalisés sur la chimie analytique des protéines permettent de les séparer et les isoler afin de pouvoir définir quelle stratégie adoptée afin de décortiquer ces « allergènes ».

La biochimie et la biologie moléculaire seront les deux matrices qui feront progresser la recherche dans le domaine des protéines repérées comme molécules allergéniques. Ainsi grâce à ces travaux fondamentaux, on est passé en cinquante ans du concept de poussière de maison (grossièrement déjà nommée allergène) à la notion de molécules allergéniques issues des acariens domestiques. Il en sera de même pour toutes les sources animales ou végétales libérant des protéines dont certaines vont se comporter comme des allergènes chez des sujets génétiquement programmés. Grâce à la purification d'extraits allergéniques provenant de ces sources d'allergènes, à l'analyse de leurs propriétés biochimiques, à l'isolement de leurs molécules, à leur clonage et à la résolution de leur structure tridimensionnelle, il a été établi un large répertoire de ces molécules allergéniques dont la plupart ont été clonées (allergènes recombinants) et répertoriés dans des banques de données. Il existe une nomenclature internationale qui précise les propriétés physicochimiques et enzymatiques de ces allergènes et leur attribue un nom et un numéro ex : Der p 1, Der P 2....Der p 23 pour l'acarien *Dermatophagoïdes pteronyssinus*, Bet v 1 pour le pollen de bouleau *Betula verrucosa* etc...).

Pour donner un exemple de l'évolution sur la détection et l'isolement des molécules allergéniques responsables des sensibilisations, rappelons quelques démarches historiques. L'isolement des premiers allergènes majeurs par des techniques biochimiques (chromatographie) et électrophorétiques a débuté en 1962-64 (AgE du ragweed (*Ambrosia*) *Amb a I* par TP King), puis en 1967-1971 (Antigène M de la morue *Gad c I* (*Gadus*) K. Aas, S Elsayed), enfin les allergènes des acariens *D.Pteronyssinus* *Der p I* en 1980 (MD Chapman, TA Platts-Mills) et *D. Farinae* *Der f I* en 1982 (B David, JP Dandeu)) et par la suite des centaines de molécules allergéniques ont été isolées dans le monde.

Quant au clonage de ces allergènes isolés, il est apparu pour la première fois en 1988 pour *Der p I* et en 1991 pour *Der f I* (8 ans plus tard), pour *Amb a I* en 1991 (30 ans plus tard) et pour *Gad c I* en 2003, (35 ans après l'identification de l'antigène M). Désormais, compte tenu des avancées technologiques, peu de temps s'écoule entre l'isolement d'une molécule et son clonage. Un exemple illustre ce fait, c'est celui concernant les allergènes provenant du cheval partiellement révélés en 1976. Ceux-ci n'ont été totalement identifiés, caractérisés et isolés qu'en 1993 et le clonage de l'allergène majeur *Equ c 1* effectué en 1996 dans notre laboratoire à l'Institut Pasteur.

La classification des substances considérées comme allergènes potentiels basées sur leur fonction biologique, leur appartenance à des « familles » de protéines supérieures à 10.000 et sur des analyses de mini séquences nucléiques demande à être révisée par des études plus scientifiques que par l'utilisation abusive des outils informatiques. Raisonnablement, considérons en priorité quels allergènes isolés, clonés et de structure moléculaire connue peuvent être utiles au médecin praticiens dans l'avenir : environ 200 allergènes recombinants.

Maintenant, la question se pose : qu'est-ce qu'un allergène ? Quelle est la particularité d'une protéine qui peut être considérée tantôt comme un antigène, tantôt comme un allergène ?

Les substances dites « allergéniques » sont, en réalité, des constituants naturels de notre environnement, inoffensifs pour la plupart des individus et le concept sur l'allergénicité d'une protéine nous amène à considérer qu'il n'existe pas d'allergènes dans la nature.....et que c'est l'organisme humain qui transforme une molécule non toxique et non pathogène en allergène.

On en déduit donc que toute substance immunogène devient allergène lorsque sont associés des facteurs génétiques individuels à certaines conditions de stimulation antigénique, modulées par l'environnement, aboutissant à une synthèse d'IgE spécifiques. Cependant, s'il est vrai que les conditions d'immunisation, le patrimoine génétique chez l'homme et en expérimentation animale démontrent le bien-fondé de cette assertion, il reste à s'interroger sur le comment de cette transformation d'un antigène banal en allergène nocif ? Est-ce, au cours de la présentation antigénique ou à un phénomène d'échappement immunologique lors de la commutation isotypique (IgE) en relation avec la structure moléculaire des protéines et leurs propriétés biochimiques éventuelles ou la conjonction de ces trois aspects ? Pour répondre à ces hypothèses, la méthode la plus rationnelle est de commencer par analyser les protéines dénommées « allergènes majeurs », responsables des manifestations allergiques les plus fréquentes ou les plus sévères et de rechercher s'il existe une relation entre la structure/fonction d'une protéine et son allergénicité.

Bases moléculaires des allergènes

Du fait du développement de la biotechnologie notamment dans le domaine de la recombinaison génétique qui a permis d'obtenir une production en grande quantité d'allergènes sous forme de protéines recombinantes par l'utilisation de systèmes d'expression, soit procaryote (plasmide/bactérie), soit eucaryote (plasmide/levure, virus/insecte), des progrès considérables ont été accomplis dans l'étude des molécules allergéniques avec comme objectif de mettre en évidence leurs structures moléculaires et de les comparer entre elles et à d'autres protéines connues pour leurs propriétés. A partir de l'analyse des séquences d'acides aminés des allergènes et des nucléotides de leurs gènes, des recherches ont été effectuées dans des banques de données de protéines partageant des similitudes ou des identités de séquences importantes au sein de structures tridimensionnelles identiques.

En effet, si l'analyse des propriétés biochimiques et la connaissance des structures tridimensionnelles des allergènes a permis d'établir des classes correspondant à des homologues de structure, à des séquences proches et à des fonctions identiques, il n'a pas encore été possible de relier l'allergénicité à la structure /fonction d'une protéine.

Cependant, il reste deux aspects extrêmement positifs de ces études au plan clinique dans les applications diagnostiques et thérapeutiques.

Applications au diagnostic de l'allergie

En premier lieu, les extraits allergéniques utilisés pour les tests cutanés et comme réactifs dans les tests biologiques pourront être standardisés par la mesure quantitative d'un ou de plusieurs allergènes majeurs présents dans le lot de fabrication des extraits allergéniques, à l'aide d'anticorps monoclonaux obtenus à partir des allergènes recombinants.

Mais c'est dans le domaine des allergies croisées que les allergènes recombinants ont apporté une meilleure compréhension des bases moléculaires des réactions croisées entre plusieurs allergènes en permettant de valider sur le plan biologique ce qui était observé en clinique.

En clinique, il a été observé depuis longtemps que des allergènes proches sur le plan taxonomique, étaient susceptibles de donner des réactions souvent comparables, mais il était difficile de discerner si les molécules étaient identiques (une seule sensibilisation), totalement différentes (deux sensibilisations) ou partageant un site antigénique (épitope) commun (réaction croisée)

Grâce à l'utilisation des allergènes recombinants, il est possible actuellement d'analyser allergène par allergène le degré de similitude entre des allergènes issus d'une même espèce animale (acariens) ou végétale (pollens) ou bien d'espèces éloignées (aliments/pollens) en comparant l'exploration clinique et les tests biologiques. Le point délicat reste à différencier une sensibilisation croisée d'une allergie commune.

C'est pourquoi dans le domaine des allergies croisées, si les allergènes recombinants permettent de donner des informations incontestables, il reste que le recueil des symptômes est la preuve d'une relevance possible de ces sensibilisations dans les tableaux cliniques observés.

Perspectives thérapeutiques

Comme il a été mentionné plus haut pour le diagnostic, l'utilisation des allergènes recombinants du fait de l'utilisation d'allergènes majeurs comme outils de standardisation ont contribué à l'amélioration des extraits allergéniques avec une plus grande spécificité et surtout plus reproductibles. Mais on peut également envisager, comme perspective thérapeutique, des extraits standardisés ne contenant que des allergènes recombinants en nombre limité après des études épidémiologiques en vue de pratiquer des désensibilisations mieux ciblées, fondées sur le profil de sensibilisation de chaque patient.

D'autres approches fondées sur l'utilisation des allergènes recombinants en immunothérapie ont été l'objet de nombreuses études avec des résultats parfois encourageants, parfois décevants. Par exemple, les molécules allergéniques modifiées par mutation dirigée sur les épitopes B (allergoïdes) ou par fragmentation (peptides T), l'utilisation d'adjuvants stimulant l'IL-10 associés à ces allergènes recombinants ou encore le gène de la protéine recombinante insérée dans un plasmide avec une séquence d'ADN bactérien pour faire un « vaccin » pourraient constituer les futures bases de nouvelles immunothérapies

Références générales

Chapman M.D., Smith A.M., Vailes L.D. et al., Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease, *J. Allergy Clin. Immunol.* 106 (2000) 409-418.26

David B., L'allergie et ses mécanismes. In : *Annales de l'Institut Pasteur/actualités : mieux comprendre les maladies allergiques*, B. David, Elsevier Ed, Paris 2003, pp 11-26

David B., Rabillon J., Goubran-Botros H., Allergènes : structure et fonction. In : *Traité d'allergologie*, D. Vervloet, A. Mangan, Flammarion Méd. Sci. Ed., Paris 2003, pp. 5-22.

Pauli G., Allergènes recombinants : application au diagnostic et au traitement. In : Annales de l'Institut Pasteur/ actualités : mieux comprendre les maladies allergiques, B. David, Elsevier Ed, Paris 2003, pp 211-223

Pauli G., Deviller P., Allergènes recombinants. In : Traité d'allergologie : D. Vervloet, A. Magnan, Flammarion Méd. Sci. Ed, Paris 2003, pp 23 - 40.

Articles originaux chronologiques

Isolement des 4 premiers allergènes majeurs

Antigène E (Ragweed) **nom. Amb a I** (Ambrosia): **TP King** Biochemistry (1962, 1964)
 Antigène M (cod= morue) **nom Gad c I** (*Gadus*) : **K. Aas, S Elsayed** Int. Arch Allergy (1967,1971)
 Antigène P1 (Derm. Pteronyssinus) **nom Der p I** : **MD Chapman, TA Platts-Mills** J. Immunol (1980)
 Antigène 11 (Derm. Farinae) **nom Der f I** : **B David, JP Dandeu** et coll, Immunology (1982)
 Antigène maj. (Dact.glomerata) **nom Dac g 1** : **équipe B. David, S Mécheri** et coll Int.Allergy (1985)
 Antigène. (Dact.glom) **nom Dac g 3** : **équipe B. David, C. Guérin-Marchand** et coll Mol Imm (1988)

Etc.....

Leur clonage

Der p I (Derm. Pteronyssinus) : **KY Chua** et coll, J Exp Med (1988)
Der f I (Derm. Farinae): **RJ Dillworth, KY Chua** et coll, Clin Exp Allergy (1991)
Amb a I (Ambrosia) ou Antigène E (Ragweed): **T Rafnar** et coll, J Biol Chem (1991)
Gad c I (*Gadus*) ou Antigène M (cod= morue): **T Van Doo, S Elsayed** et coll, Mol Immunol(2003)
 Etc.....

Isolement et clonage de l'allergène majeur du cheval : Equ c1

Isolement d'Equ c 1 : **équipe B David** avec **JP Dandeu** et coll J of Chromato (1993)

Clonage d'Equ c 1 : **équipe B David** avec **C Grégoire, JP Dandeu** et coll

Avec la collaboration de l'équipe de **F. Rougeon** J Biol Chem (1996)

Avec la collaboration de l'équipe de **P. Alzari** Acta Crystallogr (1999)