



Caractéristiques non allergéniques des allergènes Non-allergenic characteristics of allergens

C. Duez

Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) U774, IFR 142, institut Pasteur de Lille,
1, rue du Pr-Calmette, B.P. 245, 59019 Lille, France

Résumé

Les allergènes sont capables d'induire une production d'IgE spécifiques et d'être reconnus par ceux-ci afin d'activer les cellules exprimant leurs récepteurs, en particulier les mastocytes et basophiles qui expriment le FcεRI, récepteur de haute affinité. Cependant, ils sont également capables de stimuler directement certaines cellules de la muqueuse respiratoire, notamment par une voie dépendante des protéases. Ainsi, de nombreux allergènes comme les acariens de la poussière de maison (*Dermatophagoides pteronyssinus* et *Dermatophagoides farinae*) présentent une activité protéasique impliquée dans l'activation des cellules épithéliales bronchiques, des cellules dendritiques, des lymphocytes T, des cellules B, des éosinophiles et des cellules musculaires lisses. L'ensemble de ces activations amplifie la polarisation Th2, le recrutement et l'activation de cellules de l'inflammation, ainsi que la contraction des cellules musculaires lisses. Des récepteurs comme les *protease-activated receptor* (PAR) ont été impliqués dans ces fonctions. *Protease-activated receptor-2* (PAR-2) qui intervient dans l'activation dépendante des protéases de nombreux allergènes, est surexprimé dans les biopsies bronchiques des patients asthmatiques. Ces deux phénomènes pourraient participer au développement et à l'amplification de la réaction asthmatique allergique.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Allergens are capable of inducing specific IgE production and are recognized by IgE-receptor bearing cells, more particularly mast cells and basophils expressing FcεRI, the high affinity IgE receptor. However, they are also capable of directly stimulating certain cells of the bronchial mucosa, especially in a protease-dependent way. For example, many allergens such as those from house dust mites (*Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae*) have protease activity which is involved in the activation of bronchial epithelial cells, dendritic cells, T lymphocytes, B cells, eosinophils and airway smooth muscle cells. Overall, these activations amplify Th2 polarization, recruitment and activation of inflammatory cells, and airway smooth muscle cell contraction. Receptors such as the *protease-activated receptor* (PAR) have been involved in these functions. PAR-2, which has a role in protease-dependent activation by many allergens, is over-expressed in bronchial biopsies from asthmatic patients. Both phenomena may be involved in the development and amplification of allergic asthma.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Allergène ; Protéase ; Muqueuse pulmonaire ; Cellules épithéliales bronchiques ; *Protease-activated receptor*

Keywords: Allergen; Protease; Asthma; Pulmonary mucosa; Bronchial epithelial cells; *Protease-activated receptor*

Le terme d'allergénicité définit la capacité de protéines à induire la production d'IgE spécifiques et à activer les mastocytes et les basophiles sensibilisés par les IgE liés à leur récepteur de haute affinité (FcεRI). Cependant, d'autres mécanismes que ceux liés à la capture et à la présentation antigénique sont impliqués dans la capacité d'allergènes à induire de puissantes réactions allergiques. Ceux-ci font

intervenir l'action directe de certains allergènes à activité protéasique sur des cellules de la muqueuse respiratoire. Par exemple, les allergènes du groupe 1 des acariens de la poussière de maison *Dermatophagoides pteronyssinus* et *Dermatophagoides farinae* (Der p 1, Der f 1) ont une activité cystéine protéase, alors que les allergènes des groupes 3, 6 et 9 sont des sérine protéases [1]. De nombreuses études montrent que cette activité protéolytique amplifie l'asthme allergique.

Adresse e-mail : catherine.duez@pasteur-lille.fr.

0335-7457/\$ – see front matter © 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

doi:10.1016/j.allerg.2008.01.014

1. Mise en évidence de l'importance de l'activité protéasique des allergènes dans des modèles in vivo

Les modèles expérimentaux d'allergie respiratoire ont permis l'identification de deux classes majeures d'antigènes, différant au niveau de leur capacité intrinsèque à contourner l'induction d'une tolérance respiratoire. Le chef de file de la première est l'ovalbumine, qui administrée exclusivement par voie d'inhalation est incapable d'induire les caractéristiques de l'asthme allergique, contrairement à une administration par voie systémique en présence d'adjuvant suivie d'une provocation pulmonaire [2]. À l'inverse la seconde classe d'allergène, principalement *Aspergillus fumigatus* dans les modèles animaux, administrée exclusivement dans les voies respiratoires et sans adjuvant, induit aisément une allergie pulmonaire : inflammation pulmonaire avec éosinophiles et lymphocytes Th2, production élevée d'IgE, hyperréactivité bronchique et surproduction de mucus [3]. La présence de protéases actives a été montrée être nécessaire et suffisante pour contourner la réponse tolérogénique d'un antigène inhalé et induire une inflammation pulmonaire Th2-dépendante [4]. De plus, l'administration intranasale de Der p 1 à des souris sensibilisées conduit à une inflammation pulmonaire et à la production d'IgE, contrairement à pro-Der p 1 dépourvu d'activité enzymatique [5].

2. Effet de l'activité protéasique des allergènes sur les cellules épithéliales bronchiques

L'activité enzymatique de certains aéroallergènes pourrait être impliquée dans la pathogenèse de l'asthme allergique par l'activation directe des cellules épithéliales bronchiques conduisant à la rupture des jonctions serrées qui augmente l'accessibilité aux cellules dendritiques et à la production de médiateurs pro-inflammatoires.

Ainsi, Der p 1, Der p 3 et Der p 9 augmentent la perméabilité épithéliale et rompent les jonctions serrées par protéolyse de l'occludine et de ZO-1, dans des cultures de lignées de cellules épithéliales bronchiques [6,7]. Des peptidases d'allergènes de pollen (sérine et cystéine protéases) sont aussi capables de dégrader l'occludine et de rompre les jonctions serrées [8].

Der p 1, Der p 3 et Der p 9 induisent également la libération, dépendante des protéases, de médiateurs pro-inflammatoires comme l'IL-6, le CXCL8, le CCL11, le granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF), ou le CCL5 par des lignées épithéliales bronchiques [9–11]. De plus, Der p 1 augmente la production des chimiokines CCL-2, CCL-5, CXCL-10 et CCL20 par des cellules épithéliales bronchiques en lignée ou en culture primaire, permettant le recrutement de cellules dendritiques in vitro. À l'inverse, la proenzyme proDer p 1 dépourvue d'activité enzymatique n'a aucun effet, et l'inhibiteur de protéases E64 bloque l'effet de Der p 1 [12]. D'autres allergènes (*Aspergillus fumigatus*, *Blattella germanica*, *Penicillium citrinum*) stimulent les cellules épithéliales par leur activité protéasique et induisent la production de cytokines [13–17].

Ces allergènes protéasiques agissent par l'intermédiaire de récepteurs *protease-activated receptor* (PAR) [9,11,14–18].

Protease-activated receptor-2 (PAR-2) est augmenté sur l'épithélium des patients asthmatiques [19] et intervient dans l'infiltration des éosinophiles et l'hyperréactivité bronchique dans des modèles d'inflammation allergique respiratoire chez la souris [20,21]. Der p 3, Der p 9, ou des extraits de blattes induisent la production de CXCL8, de GM-CSF et de CCL11 par des cellules épithéliales bronchiques humaines en stimulant PAR-2 [9,11,15,16]. L'action de Der p 1 sur PAR-2 semble controversée [9,18].

3. Rôle de l'activité protéasique des allergènes sur d'autres cellules de l'inflammation pulmonaire allergique

D'autres cellules impliquées dans l'inflammation pulmonaire allergique sont la cible de l'activité protéasique des allergènes. Ainsi, celle-ci favorise la polarisation Th2, la production d'IgE, la dégranulation des éosinophiles et la contraction des cellules musculaires lisses.

Der p 1 clive la sous-unité alpha du récepteur de l'IL-2 (IL-2R or CD25) à la surface des lymphocytes T humains, provoquant une diminution de leur prolifération et de la sécrétion d'IFN-gamma. Comme l'IL-2R est crucial pour la prolifération des lymphocytes Th1, son clivage par Der p 1 pourrait dévier la réponse immune vers un profil Th2 [22]. Der p 1 clive également le CD40, ce qui aboutit à une diminution de la production d'IL-12 par les cellules dendritiques [23]. De plus, en présence de Der p 1, les cellules dendritiques dérivées des monocytes de patients allergiques à *Dermatophagoides pteronyssinus* produisent plus d'IL-6, d'IL-10, de CCL-17/TARC et de CCL-22/MDC mais moins d'IL-12 que les cellules dendritiques des donneurs non allergiques, et favorisent la production d'IL-4 par des lymphocytes T autologues. Ces effets sont abolis en présence du précurseur inactif de Der p 1 ou d'un inhibiteur de cystéine protéase [24,25]. L'activité cystéine protéase de Der p 1 favorise donc à la fois la polarisation Th2 et le recrutement de lymphocytes Th2 chez les sujets allergiques.

Der p 1 clive sélectivement le CD23 à la surface des cellules B, ce qui peut entraîner une augmentation de la production d'IgE à la fois en supprimant un mécanisme de régulation négative et en activant la production par le CD23 soluble [26]. Der p 1 a également la capacité de cliver les CD23 et CD25 in vitro [27].

Der f 1 active les éosinophiles par le biais de son activité cystéine protéase et induit leur libération d'*eosinophil derived neurotoxin* (EDN) [28].

Enfin, les allergènes des acariens de la poussière de maison peuvent agir directement sur les cellules musculaires lisses : l'exposition à Der p 1 augmente la contraction induite par l'acétylcholine et limite la relaxation induite par l'isoprotérénol des cellules musculaires lisses de lapin in vitro [29].

4. Effets des protéases d'allergène sur des molécules impliquées dans l'homéostasie pulmonaire

Les protéases allergéniques sont capables de dégrader des protéines impliquées dans l'homéostasie pulmonaire, comme

l'angiotensine II, le peptide natriurétique atrial, le vasoactive intestinal peptide, la substance P, des inhibiteurs d'élastases (*human 1-proteinase inhibitor* (h-A1-Pi) et h-elafin) et du collagène [30–33].

Der p 1 et Der f 1 dégradent également les protéines du surfactant SP-A et SP-D [34], ayant un effet protecteur dans différents modèles de sensibilisation allergique [35–37].

Enfin, les allergènes de Der p et Der f affectent directement la réponse à l'IL-13 par libération et dégradation *in vitro* de l'IL-13R α 2 [38].

Par conséquent, l'activité protéasique des allergènes est impliquée dans de nombreuses modifications de la muqueuse respiratoire favorisant l'inflammation allergique pulmonaire. Cependant, tous les allergènes ne présentent pas d'activité protéasique et il n'est pas exclu qu'ils puissent avoir une action indépendante des protéases sur les cellules pulmonaires. Ainsi, Der p 5 augmente la production d'IL-6 et d'IL-8 et induit un rétrécissement de cellules épithéliales A549 par des voies dépendantes de la mobilisation du calcium intracellulaire mais indépendante des protéases [16]. Les activations dépendantes et indépendantes pourraient agir en synergie, aggravant ainsi la réponse inflammatoire au niveau des voies respiratoires de sujets asthmatiques.

Références

- [1] Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, Mills KL, O'Brien RM. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129(1):1–18.
- [2] Kips JC, Anderson GP, Fredberg JJ, Herz U, Inman MD, Jordana M, et al. Murine models of asthma. *Eur Respir J* 2003;22(2):374–82.
- [3] Kurup VP, Grunig G. Animal models of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Mycopathologia* 2002;153(4):165–77.
- [4] Kheradmand F, Kiss A, Xu J, Lee SH, Kolattukudy PE, Corry DB. A protease-activated pathway underlying Th cell type 2 activation and allergic lung disease. *J Immunol* 2002;169(10):5904–11.
- [5] Gough L, Campbell E, Bayley D, Van Heeke G, Shakib F. Proteolytic activity of the house dust mite allergen Der p 1 enhances allergenicity in a mouse inhalation model. *Clin Exp Allergy* 2003;33(8):1159–63.
- [6] Wan H, Winton HL, Soeller C, Taylor GW, Gruenert DC, Thompson PJ, et al. The transmembrane protein occludin of epithelial tight junctions is a functional target for serine peptidases from faecal pellets of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 2001;31(2):279–94.
- [7] Wan H, Winton HL, Soeller C, Tovey ER, Gruenert DC, Thompson PJ, et al. Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J Clin Invest* 1999;104(1):123–33.
- [8] Runswick S, Mitchell T, Davies P, Robinson C, Garrod DR. Pollen proteolytic enzymes degrade tight junctions. *Respirology* 2007;12(6):834–42.
- [9] Asokanathan N, Graham PT, Stewart DJ, Bakker AJ, Eidne KA, Thompson PJ, et al. House dust mite allergens induce proinflammatory cytokines from respiratory epithelial cells: the cysteine protease allergen, Der p 1, activates protease-activated receptor (PAR)-2 and inactivates PAR-1. *J Immunol* 2002;169(8):4572–8.
- [10] King C, Brennan S, Thompson PJ, Stewart GA. Dust mite proteolytic allergens induce cytokine release from cultured airway epithelium. *J Immunol* 1998;161(7):3645–51.
- [11] Sun G, Stacey MA, Schmidt M, Mori L, Mattoli S. Interaction of mite allergens Der p3 and Der p9 with protease-activated receptor-2 expressed by lung epithelial cells. *J Immunol* 2001;167(2):1014–21.
- [12] Pichavant M, Charbonnier AS, Taront S, Briche A, Wallaert B, Pestel J, et al. Asthmatic bronchial epithelium activated by the proteolytic allergen Der p 1 increases selective dendritic cell recruitment. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(4):771–8.
- [13] Borger P, Koeter GH, Timmerman JA, Vellenga E, Tomee JF, Kauffman HF. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce interleukin (IL)-6 and IL-8 production in airway epithelial cell lines by transcriptional mechanisms. *J Infect Dis* 1999;180(4):1267–74.
- [14] Chiu LL, Perng DW, Yu CH, Su SN, Chow LP. Mold allergen, pen C 13, induces IL-8 expression in human airway epithelial cells by activating protease-activated receptor 1 and 2. *J Immunol* 2007;178(8):5237–44.
- [15] Hong JH, Lee SI, Kim KE, Yong TS, Seo JT, Sohn MH, et al. German cockroach extract activates protease-activated receptor 2 in human airway epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(2):315–9.
- [16] Kauffman HF, Tamm M, Timmerman JA, Borger P. House dust mite major allergens Der p 1 and Der p 5 activate human airway-derived epithelial cells by protease-dependent and protease-independent mechanisms. *Clin Allergy Immunol* 2006;4:5.
- [17] Kondo S, Helin H, Shichijo M, Bacon KB. Cockroach allergen extract stimulates protease-activated receptor-2 (PAR-2) expressed in mouse lung fibroblast. *Inflamm Res* 2004;53(9):489–96.
- [18] Adam E, Hansen KK, Astudillo Fernandez O, Coulon L, Bex F, Duhant X, et al. The house dust mite allergen Der p 1, unlike Der p 3, stimulates the expression of interleukin-8 in human airway epithelial cells via a proteinase-activated receptor-2-independent mechanism. *J Biol Chem* 2006;281(11):6910–23.
- [19] Knight DA, Lim S, Scaffidi AK, Roche N, Chung KF, Stewart GA, et al. Protease-activated receptors in human airways: upregulation of PAR-2 in respiratory epithelium from patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5):797–803.
- [20] Schmidlin F, Amadesi S, Dabbagh K, Lewis DE, Knott P, Bunnett NW, et al. Protease-activated receptor 2 mediates eosinophil infiltration and hyperreactivity in allergic inflammation of the airway. *J Immunol* 2002;169(9):5315–21.
- [21] Takizawa T, Tamiya M, Hara T, Matsumoto J, Saito N, Kanke T, et al. Abrogation of bronchial eosinophilic inflammation and attenuated eotaxin content in protease-activated receptor 2-deficient mice. *J Pharmacol Sci* 2005;98(1):99–102.
- [22] Schulz O, Sewell HF, Shakib F. Proteolytic cleavage of CD25, the alpha subunit of the human T cell interleukin 2 receptor, by Der p 1, a major mite allergen with cysteine protease activity. *J Exp Med* 1998;187(2):271–5.
- [23] Ghaemmaghami AM, Gough L, Sewell HF, Shakib F. The proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 conditions dendritic cells to produce less interleukin-12: allergen-induced Th2 bias determined at the dendritic cell level. *Clin Exp Allergy* 2002;32(10):1468–75.
- [24] Hammad H, Charbonnier AS, Duez C, Jacquet A, Stewart GA, Tonnel AB, et al. Th2 polarization by Der p 1 pulsed monocyte-derived dendritic cells is due to the allergic status of the donors. *Blood* 2001;98(4):1135–41.
- [25] Hammad H, Smits HH, Ratajczak C, Nithiananthan A, Wierenga EA, Stewart GA, et al. Monocyte-derived dendritic cells exposed to Der p 1 allergen enhance the recruitment of Th2 cells: major involvement of the chemokines TARC/CCL17 and MDC/CCL22. *Eur Cytokine Netw* 2003;14(4):219–28.
- [26] Hewitt CR, Brown AP, Hart BJ, Pritchard DI. A major house dust mite allergen disrupts the immunoglobulin E network by selectively cleaving CD23: innate protection by antiproteases. *J Exp Med* 1995;182(5):1537–44.
- [27] Takai T, Kato T, Ota M, Yasueda H, Kuhara T, Okumura K, et al. Recombinant Der p 1 and Der f 1 with *in vitro* enzymatic activity to cleave human CD23, CD25 and alpha1-antitrypsin, and *in vivo* IgE-eliciting activity in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137(3):194–200.
- [28] Miike S, Kita H. Human eosinophils are activated by cysteine proteases and release inflammatory mediators. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(4):704–13.
- [29] Grunstein MM, Veler H, Shan X, Larson J, Grunstein JS, Chuang S. Proasthmatic effects and mechanisms of action of the dust mite allergen, Der p 1, in airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116(1):94–101.
- [30] Bagarozzi Jr DA, Travis J. Ragweed pollen proteolytic enzymes: possible roles in allergies and asthma. *Phytochemistry* 1998;47(4):593–8.

- [31] Brown A, Farmer K, MacDonald L, Kalsheker N, Pritchard D, Haslett C, et al. House dust mite Der p 1 downregulates defenses of the lung by inactivating elastase inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29(3 Pt 1):381–9.
- [32] Matheson N, Schmidt J, Travis J. Isolation and properties of an angiotensin II-cleaving peptidase from mesquite pollen. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12(4):441–8.
- [33] Ring PC, Wan H, Schou C, Kroll Kristensen A, Roepstorff P, Robinson C. The 18-kDa form of cat allergen *Felis domesticus* 1 (Fel d 1) is associated with gelatin- and fibronectin-degrading activity. *Clin Exp Allergy* 2000;30(8):1085–96.
- [34] Deb R, Shakib F, Reid K, Clark H. Major House Dust Mite Allergens *Dermatophagoides pteronyssinus* 1 and *Dermatophagoides farinae* 1 Degrade and Inactivate Lung Surfactant Proteins A and D. *J Biol Chem* 2007;282(51):36808–19.
- [35] Liu CF, Chen YL, Shieh CC, Yu CK, Reid KB, Wang JY. Therapeutic effect of surfactant protein D in allergic inflammation of mite-sensitized mice. *Clin Exp Allergy* 2005;35(4):515–21.
- [36] Madan T, Kishore U, Singh M, Strong P, Clark H, Hussain EM, et al. Surfactant proteins A and D protect mice against pulmonary hypersensitivity induced by *Aspergillus fumigatus* antigens and allergens. *J Clin Invest* 2001;107(4):467–75.
- [37] Takeda K, Miyahara N, Rha YH, Taube C, Yang ES, Joetham A, et al. Surfactant protein D regulates airway function and allergic inflammation through modulation of macrophage function. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(7):783–9.
- [38] Daines MO, Chen W, Tabata Y, Walker BA, Gibson AM, Masino JA, et al. Allergen-dependent solubilization of IL-13 receptor alpha2 reveals a novel mechanism to regulate allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(2):375–83.