

| Une vision moléculaire de l'allergologie

Les technologies des protéines recombinantes permettent d'élaborer des allergènes ciblés, conduisant à la possibilité d'immunothérapies spécifiques "à la carte". Bien qu'ils ne soient pas encore disponibles pour les tests cutanés, les allergènes recombinants offrent des perspectives d'utilisation dont l'élaboration d'un étalon international pour la standardisation des dosages d'immunoglobulines E (IgE).

Il y a 30 ans, lorsqu'un patient présentait des symptômes d'allergie, nous étions capables de lui dire qu'il était allergique, par exemple à la poussière. Puis, nous avons découvert les allergènes de la poussière : acariens le plus souvent, ou phanères d'animaux.

Depuis les années 2000, nous sommes le plus souvent capables de dire à quelle protéine d'acariens notre patient est sensibilisé (21 protéines d'acariens susceptibles d'être à l'origine d'une allergie sont identifiées en 2007). Grâce au génie génétique, nous pouvons les synthétiser et déterminer les épitopes B contre lesquels les IgE du patient sont spécifiquement dirigées.

Le diagnostic allergologique

Le diagnostic reste actuellement fondé sur un interrogatoire minutieux, un examen clinique détaillé et l'utilisation des extraits allergéniques – les extraits naturels le plus souvent pour les tests cutanés à lecture immédiate, le dosage d'IgE

spécifiques sériques, les tests de provocation nasale, bronchique ou conjonctivale, ainsi que les tests d'histamino-libération des basophiles et d'activation des basophiles en cytométrie de flux. Mais ces extraits allergéniques naturels ont le défaut d'être de composition variable et hétérogène puisqu'il s'agit d'un mélange de protéines allergéniques et non allergéniques, obtenues à partir de sources complexes et dont la composition varie en fonction des procédés d'extraction, de purification et de stockage utilisés, ainsi qu'en fonction des propriétés d'hydrosolubilité des protéines allergéniques. Ces écueils sont à l'origine de faux diagnostics, le plus souvent de faux diagnostics négatifs, alors que la clinique est probante.

Certes, des progrès ont été réalisés : les industriels ont fait des efforts de standardisation des extraits *in vitro* et *in vivo* et la composition en protéines est connue. Mais il n'est pas possible, lorsqu'un test cutané est positif avec l'un de ces extraits, de savoir si le test est positif parce que le patient reconnaît un allergène majeur (reconnu par plus de 50 % des patients allergiques à cet allergène) ou un allergène mineur (reconnu par moins de 50 % des patients) ; il n'est également pas possible de quantifier les IgE spécifiques dirigées contre les différents composés moléculaires.

Intérêts des allergènes recombinants

Production spécifique à grande échelle

Par transfert des gènes correspondant aux allergènes dans des cellules hôtes (bactéries, levures, plantes), il est possible de produire de grandes quantités de protéines recombinantes, parfaitement caractérisées au plan moléculaire.

Production d'anticorps monoclonaux spécifiques

Cette banque d'anticorps (Ac) monoclonaux spécifiques permet d'une part l'analyse des extraits allergéniques et, d'autre part, la quantification du contenu allergénique, notamment des protéines majeures. Elle permet également de sélectionner les variétés de sources d'allergènes. Par exemple, en Espagne, il existe 250 sortes d'oliviers ; de fait, nous retrouvons l'allergène majeur *Ole 1* dans tous les extraits, mais en quantités différentes ; les tests cutanés actuellement réalisés avec les extraits provenant de différentes sources donnent des réponses variables.



© BSIP/Aubert

| Tubes pour test de dépistage des IgE permettant de tester les sérums de patients vis-à-vis de pneumallergènes différents (pollen, acariens), d'où le code couleurs.

Une plus grande maîtrise de la préparation allergénique

La meilleure connaissance de la composition des préparations offre la possibilité d'enrichir une préparation en une protéine déficitaire : par exemple, le latex qui est enrichi en *hev b 5* ou la noisette enrichie en *Cora 1.04*, ce qui augmente la sensibilité du test. De plus, il devient possible de s'orienter vers des préparations plus ciblées : soit un mélange de protéines recombinantes majeures pour des allergènes de préparation difficile (aliments d'origine végétale), soit un allergène majeur unique, pertinent cliniquement, dans le cas d'allergènes de source rare (allergènes de la tique du pigeon, par exemple).

Préparation d'allergènes recombinants modifiés

Afin d'augmenter la spécificité d'une désensibilisation, il est possible de préparer des extraits limités à quelques séquences recombinantes qui correspondent soit aux épitopes responsables de l'allergie, soit à des isoformes ou des fragments de molécules.

Préparation de qualité pharmaceutique constante

Ces préparations, qui répondent aux directives européennes actuelles, permettent d'obtenir des réponses monoclonales spécifiques d'une ou plusieurs protéines.

Au total

Nous observons actuellement un bouleversement des préparations des extraits allergéniques avec une qualité bien supérieure et, notamment, une augmentation importante de leur spécificité. Les extraits allergéniques recombinants ne sont pas encore disponibles *in vivo* pour les tests cutanés. Mais les perspectives, pour les cliniciens, sont la possibilité de réaliser des tests cutanés avec :

- un allergène natif, pour garder la sensibilité ;
- un mélange de protéines recombinantes isolées si celui-ci permet une bonne détection (par exemple, pour les *Betulaceae* : *Bet v 1*, *Aln g 1* ; pour les corylacées : *Cor a 1*, *Cor b 1* ; pour les fagacées : *Que a 1*) avec une prévalence de sensibilisation de 95 % de ces allergènes majeurs qui présentent 70 % d'homologie ;
- une seule protéine recombinante assez représentative (pour les allergènes de source rare, ou un allergène en cours d'étude structurale présentant une homologie avec un recombinant existant) ;
- une seule protéine recombinante, avant de mettre en place une désensibilisation spécifique.

In vitro, la liste des allergènes recombinants disponibles s'allonge rapidement. Nous disposons de recombinants uniques (par exemple pour la graminée phléole : *rPhl p 1*) ou multiples (association de *rPhl p 1*, 2, 5, 6). La préparation et la purification des molécules sont améliorées, mais toujours selon des procédés spécifiques à l'industriel. Aurons-nous bientôt des préparations universelles ? Nous pouvons imaginer une protéine recombinante qui servira d'étalon international pour la

standardisation des dosages d'IgE spécifiques. Peut-être alors les résultats seront-ils comparables d'un laboratoire et d'une technique à un(e) autre.

Des technologies d'avenir sont à l'étude, comme les nanotechnologies, avec la présentation de nombreux allergènes sur divers supports (*membrane spot*, *peptide microarray*, puces à allergènes, etc.), et la protéomique, qui offrirait une meilleure spécificité.

Vision moléculaire de l'allergologie

La meilleure connaissance des molécules allergéniques nous permet de mieux comprendre les réactions croisées, entre pneumallergènes appartenant à une même famille, mais aussi entre pneumallergènes de familles différentes (rôle des pan-allergènes tels que la profiline et la polcalcine), ainsi qu'entre pneumallergènes et trophallergènes (par exemple, *rBet v 1* du bouleau et *rMal d 1* de la pomme).

Les allergènes majeurs

Les allergènes majeurs sont responsables de 95 % des allergies. Il s'agit des pollens de bouleau, de charme et de noisetier (entre autres) qui font partie de la même famille de protéines, les protéines *Bet v 1-like* (des protéines de stress). Ceci explique qu'un patient peut être allergique simplement au pollen de bouleau, mais que ses tests cutanés et ses IgE spécifiques au bouleau, au charme et au noisetier seront positifs. En outre, ces protéines *Bet v 1-like* ont une homologie structurale de 70 à 80 % avec d'autres allergènes majeurs, comme celui de la pomme (*Mal d 1*) ou encore celui du céleri (*Api g 1*). Les cliniciens savent bien que 60 % environ des sujets allergiques au pollen de bouleau ont un syndrome oral en mangeant de la pomme. Aujourd'hui, nous comprenons mieux pourquoi.

Les panallergènes, que sont la profiline et la polcalcine, se trouvent dans la majorité des pollens et des aliments. Ainsi, certains patients qui auront une sensibilité à ces protéines (détectée lorsque les tests cutanés ou les IgE spécifiques seront positifs après utilisation d'extrait de bouleau, d'aulne ou de frêne [extraits qui contiennent ces panallergènes]) ne seront pas obligatoirement allergiques à ces pollens.

En pratique

Les allergènes recombinants sont des outils qui permettent d'améliorer l'interprétation des sensibilisations cutanées concomitantes et de guider l'immunothérapie spécifique. À l'avenir, nous pourrions proposer des stratégies de désensibilisation fondées sur le profil présenté par un patient vis-à-vis d'allergènes recombinants (désensibilisations "à la carte").

CAROLE ÉMILE

Biologiste, CH de Montfermeil (93)

carole.emile@free.fr

Source

Communication de C. Hamberger et C. Metz-Favre, lors du 24^e colloque Corata, Paris, juin 2007.