

Pénétration des allergènes protéiques par voie cutanée

Protein allergen penetration through skin

A. Hennino ^a, J.-P. Marty ^b, J.-F. Nicolas ^{c,d,*}

^a Inserm U404, IFR 128, 69365 Lyon cedex 07, France

^b Laboratoire de dermopharmacologie et cosmétologie, faculté de pharmacie, université Paris Sud, 92296 Chatenay-Malabry, France

^c Immunologie clinique et allergologie, CHU de Lyon Sud, 69495 Pierre-Benite cedex, France

^d Inserm U503, IFR 128, 69365 Lyon cedex 07, France

Reçu le 5 octobre 2004 ; accepté le 15 octobre 2004

Mots clés : Dermatitis de contact ; Dermatitis atopique ; Tolérance ; Peau

Keywords: Contact dermatitis; Atopic dermatitis; Tolerance; Skin

1. Introduction

En raison de l'importance de sa surface et de son accessibilité directe à toutes les molécules présentes dans l'air et en contact direct avec elle, la peau constitue quantitativement l'organe le plus important en relation avec le milieu extérieur. Cette « barrière protectrice » n'est pas absolue ; la peau est perméable à pratiquement toutes les substances, seul le degré de perméabilité varie. Il est lié principalement à l'état physiologique de la peau, aux propriétés physicochimiques des composés dont elle est supposée restreindre l'entrée et à la nature du véhicule dans lequel ces substances sont amenées au contact de la peau. L'épiderme humain est particulièrement bien adapté pour jouer sa fonction essentielle de « barrière ». Il limite l'entrée des agents extérieurs et participe à l'homéostasie générale de l'organisme en régulant la perte en eau trans-épidermique. C'est la couche cornée qui est responsable de la plus grande partie de la fonction barrière de l'épiderme [17,12].

La pénétration cutanée des allergènes est bien établie pour les chimiques non protéiques de petite taille, les haptènes, qui sont responsables chez des individus sensibilisés d'hyper-sensibilité retardée de contact (eczéma de contact ou syn. dermatite allergique de contact) [21]. Longtemps la peau a été considérée comme imperméable aux molécules volumineu-

ses (de haut poids moléculaire) et donc imperméable aux protéines allergéniques comme celles des pneumallergènes ou trophallergènes.

Le problème de la pénétration cutanée des allergènes se résume donc au franchissement de la couche cornée. Dès celle-ci traversée les molécules pénétrantes sont en contact direct avec le réseau de cellules dendritiques épidermiques, les cellules de Langerhans (CL), qui vont prendre en charge ces molécules et les véhiculer jusqu'aux ganglions lymphatiques drainant le site de pénétration. Compte-tenu du réseau très dense des dendrites des CL, il est en effet inconcevable qu'une molécule franchissant la couche cornée puisse pénétrer sans être en contact direct avec les CL. Les travaux récents montrent d'une part la réalité de la pénétration de protéines au niveau cutané, mais aussi la possibilité d'induire une sensibilisation par exposition de protéines allergéniques au niveau cutané exclusivement.

2. Pénétration des protéines au niveau cutané

Longtemps considéré comme impossible, la pénétration des molécules protéiques (molécules de haut poids moléculaire) est possible à travers la peau normale. Elle est majorée dans certains états pathologiques, en particulier chez les patients porteurs de dermatite atopique (DA) présentant une xérose constitutionnelle sévère. Les protéines responsables des réactions allergiques sont en plus douées de propriétés enzymatiques, favorisant la pénétration à travers les épithéliums.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : jean-francois.nicolas@chu-lyon.fr (J.-F. Nicolas).

2.1. Pénétration des protéines à travers la peau

La démonstration de la possibilité de pénétration de protéines à travers une peau normale vient des observations cliniques d'urticaire et d'eczéma de contact aux protéines [16,27]. L'urticaire de contact au latex chez des patients porteurs d'hypersensibilité immédiate survient dans les minutes qui suivent l'enfillement des gants en latex. Le contact cutané à lui seul peut induire chez des patients très sensibilisés des manifestations systémiques (œdème de Quincke, choc anaphylactique). L'eczéma de contact aux protéines observées chez les bouchers est reproduit par les tests épicutanés aux viandes bovines et/ou porcine. Les patients porteurs de DA développent fréquemment des tests épicutanés positifs aux pneumallergènes et/ou trophallergènes avec un aspect clinique et histologique typique de dermatite de contact [4,20]. Ces tests sont positifs même quand ils sont réalisés en dehors des poussées de DA, sur la peau normale du dos.

L'utilisation de modèles expérimentaux murins permet de confirmer les observations cliniques. L'application de la protéine ovalbumine sur le tégument d'animaux non sensibilisés aboutit à la génération d'IgE spécifiques, ce qui signifie qu'il y a eu pénétration et activation de LB et de LT de type 2 spécifiques d'ovalbumine [30]. Si l'application de la protéine est répétée, une dermatite de contact se développe avec toutes les caractéristiques histologiques d'une DA : prédominance de LT, infiltration d'éosinophiles, production de cytokines de type 2 (IL-4, IL-5) et d'IFN γ [11]. Ces travaux vont encore plus loin, puisque les auteurs montrent qu'une fois les souris sensibilisées par voie cutanée par l'ovalbumine, les animaux peuvent déclencher une hyperréactivité bronchique par une simple inhalation de la protéine [24]. Ainsi, l'ovalbumine peut pénétrer une peau saine, induire une réponse immunitaire humorale (IgE) et cellulaire (LT) spécifique et des signes cliniques d'allergie cutanée (DA) et respiratoire (asthme).

2.2. Activité enzymatique des allergènes protéiques

Peu de choses sont actuellement connues sur les facteurs qui déterminent l'allergénicité des protéines de l'environnement naturel [3,10]. Une des grandes avancées dans ce domaine a été la découverte des propriétés enzymatiques (protéases, chitinases, lyases, amylases) de plusieurs allergènes respiratoires et alimentaires [15,23]. Ainsi, le concept actuel est que l'activité enzymatique des allergènes favorise leur pénétration à travers les épithéliums de revêtement permettant un accès direct aux cellules présentatrices d'antigène.

Le groupe d'allergènes le plus étudié est celui de la poussière de maison qui est colonisée par l'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p) dont les allergènes sont concentrés dans les matières fécales. Le contact des matières fécales avec les épithéliums respiratoires par inhalation ou avec l'épiderme par contact direct est responsable des réponses allergiques. Der p1, l'allergène majeur, est une cystéine pep-

tidase partageant des homologies de séquence avec le site catalytique d'une enzyme végétale, la papaine. Au moins trois autres allergènes de Der p (Der p 3, Der p 6 et Der p 9) sont des enzymes protéolytiques dont la séquence en acides aminés suggère leur appartenance au groupe des sérines peptidases. Les allergènes de Der p sont des enzymes protéolytiques qui sont capables d'augmenter la perméabilité à travers les cellules épithéliales bronchiques par ouverture des jonctions serrées qui participent aux systèmes d'adhésion intercellulaire et de régulation de la perméabilité paracellulaire [28,29]. Les cibles moléculaires des Der p sont les occludines de la famille des claudines, protéines transmembranaires des jonctions serrées [29]. Ainsi, les enzymes de Der p permettent la pénétration des allergènes à travers les épithéliums de revêtement autorisant leur prise en charge par les cellules présentatrices d'antigène (CPA).

La pénétration facilitée des allergènes n'est pas le seul facteur capable d'expliquer leur pouvoir allergénique. Der p 1 polarise la réponse immunitaire vers le phénotype de type 2 [5] alors que Der p 9 induit la production de cytokines inflammatoires par les cellules épithéliales [8]. L'ensemble de ces observations suggère que la présence dans l'air de protéines à activité enzymatique capables d'altérer la barrière épithéliale va non seulement favoriser la pénétration de ces protéines mais aussi de toutes les protéines présentes dans l'environnement et qui sont dénuées de pouvoir allergénique et/ou enzymatique propre.

2.3. Altération de la barrière cutanée dans la DA

La physiopathologie de la DA est complexe associant des anomalies cutanées et immunitaires [7,9,11,26]. Les principales altérations cutanées concernent l'épiderme et en particulier la couche cornée et sont responsables de la sécheresse cutanée (xérose) caractéristique de la maladie. La xérose est responsable de l'aspect typique des patients porteurs de DA : peau sèche, écailleuse, rugueuse, terne avec des ridules. Elle est responsable du prurit qui accroît la pénétration des pneumallergènes.

Le stratum corneum des patients DA est plus fin que celui des sujets normaux, et contient moins de lipides intercellulaires [32]. L'organisation lamellaire des cornéocytes est altérée [19]. Le film hydrolipidique de surface est moins abondant et les lavages aggravent ce déficit [32]. Les anomalies lipidiques touchent principalement les céramides dont la teneur dans la couche cornée est très diminuée probablement par déficit fonctionnel en sphingomyéline acylase [14].

L'altération de la barrière cutanée chez le patient porteur de DA est attestée par la diminution du contenu en eau du stratum corneum et par l'augmentation de la perte insensible en eau. Ces anomalies sont observées sur les zones inflammatoires mais aussi sur les zones cutanées d'aspect cliniquement normal [22,31].

On ne sait toujours pas si la diminution de la fonction barrière du stratum corneum est innée et préexiste au développement de la maladie ou si elle acquise et est la conséquence de l'inflammation cutanée chronique.

Les anomalies de la barrière cutanée observées dans la DA sont considérées par certains comme une anomalie primitive déterminée génétiquement [18,25]. Le modèle murin de DA spontanée se développant chez la souris NC/Nga Tnd donne des arguments en faveur de cette hypothèse puisque cet animal présente des anomalies de rétention d'eau et de composition des céramides épidermiques [1]. Cependant l'observation d'une normalisation de la perte insensible en eau et du contenu en eau du *stratum corneum* chez des patients « guéris » de DA depuis plusieurs années va à l'encontre d'une anomalie intrinsèque de barrière cutanée dans la DA [13].

L'altération de la fonction barrière pourrait aussi être la conséquence de l'inflammation cutanée liée à la pénétration des pneumallergènes. Une étude clinique a comparé l'altération de la barrière cutanée sur des sites de tests épicutanés aux pneumallergènes (*atopy patch tests*) et aux haptènes de contact chez des patients porteurs de DA et présentant un eczéma de contact au nickel [6]. L'étude a comparé chez le même individu les pertes insensibles en eau sur les sites des 2 types de tests par rapport à la peau normale et a montré que la fonction barrière de l'épiderme n'est diminuée que sur les sites des tests positifs aux pneumallergènes. Ces travaux montrent que l'inflammation cutanée de l'eczéma de contact (de type 1) n'est pas responsable d'une diminution de la fonction barrière même sur un terrain de DA alors que l'inflammation spécifique de protéine allergénique (de type 2) est capable de modifier profondément cette fonction. Ainsi, on peut imaginer que l'altération de la barrière cutanée induite par les pneumallergènes puisse accroître la quantité d'allergènes capables de pénétrer, aboutissant à un cercle vicieux et perpétuant les lésions d'eczéma.

3. Conclusions

La pénétration des molécules en contact avec la peau est un phénomène qui dépend de nombreux facteurs mais qui existe pour les molécules chimiques non protéiques de petite taille aussi bien que pour les protéines de poids moléculaire élevé. L'ensemble des travaux récents montre que la fonction barrière de l'épiderme ne contribue que peu aux capacités de sensibilisation par voie cutanée dans les principales maladies allergiques à expression cutanée [2]. Ceci s'explique par la localisation très superficielle, sous-cornée, des principales CPA responsables de la prise en charge des molécules ayant pénétré, les cellules dendritiques épidermiques de Langerhans. Dans la dermatite atopique, les événements physiopathologiques sont moins clairs que dans le cas de la dermatite allergique de contact. Il ne fait aucun doute que les lésions d'eczéma puissent être déclenchées par exposition cutanée aux pneumallergènes puisque les patients développent un eczéma de contact aux pneumallergènes appliqués sous forme de tests épicutanés. La possibilité d'une sensibilisation directe des patients par exposition cutanée aux pneumallergènes est plus controversée. Néanmoins, il est possible d'immuniser un animal par contact cutané exclusif avec des pro-

téines de haut poids moléculaire avec induction d'IgE spécifique et développement de lésions inflammatoires de DA [24]. Les travaux en cours permettront de déterminer si ces mécanismes participent au développement des lésions de DA chez l'homme et si la pénétration cutanée des allergènes est non seulement responsable de l'expression mais aussi de l'induction des réponses immunitaires allergiques [7,26].

Références

- [1] Aioi A, Tonogaito H, Suto H, Hamada K, Ra C, Ogawa H, et al. Impairment of skin barrier function in NC/Nga Tnd mice as possible model for atopic dermatitis. *Brit J Dermatol* 2001;144:12–8.
- [2] Berard F, Marty JP, Nicolas JF. Allergen penetration through the skin. *Eur J Dermatol* 2003;13(4):324–30.
- [3] Bredehorst R, David K. What establish a protein as an allergen. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001;756:33–40.
- [4] Castelain M. Atopic dermatitis and delayed hypersensitivity to dust mites. *Clin Rev Allergy Immunol* 1995;13:161–72.
- [5] Comoy EE, Pestel J, Duez C, Stewart GA, Vendeville C, Fournier C, et al. The house dust mite allergen, *Dermatophagoides pteronyssinus*, promotes type 2 responses by modulating the balance between IL-4 and IFN-gamma. *J Immunol* 1998;160:2456–62.
- [6] Gfesser M, Rakoski J, Ring J. The disturbance of epidermal barrier function in atopy patch test reactions in atopic eczema. *Br J Dermatol* 1996;135:560–5.
- [7] Goerdt SBR, Dippel E, Orfanos CE. Beyond inflammation: tolerance, immunotherapy and more. *Eur J Dermatol* 1999;9:507–13.
- [8] King C, Brennan S, Thompson P, et al. Dust mite proteolytic allergens induce cytokine release from cultured airway epithelium. *J Immunol* 1998;161:3645–51.
- [9] Krasteva M, Jullien D, Choquet G, Nicolas J-F. Physiopathologie de la dermatite atopique. *Ann Dermatol Vénéréol* 1998;125:785–9.
- [10] Lehrer S, Horner W, Reese G. Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1996;36:553–64.
- [11] Leung DY, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 2003;361(9352):151–60.
- [12] Marty J, Dervault A. La couche cornée: barrière et réservoir. In: Thivolet SJ, editor. 7^e cours de Biologie de la Peau. 1993. p. 31–42.
- [13] Matsumoto M, Sugiura H, Uehara M. Skin barrier function in patients with completely healed atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2000;23:178–82.
- [14] Murata Y, Ogata J, Higaki Y, Kawashima M, Yada Y, Higuchi K, et al. Abnormal expression of sphingomyelin acylase in atopic dermatitis: an etiologic factor for ceramide deficiency. *J Invest Dermatol* 1996;106:1242–9.
- [15] Musu T, Grégoire C, David B, Dandeu J-P. The relationship between the biochemical properties of allergens and their immunogenicity. *Critical Review in Allergy and Immunology* 1997;15:485–98.
- [16] Neubauer H, Rytter M, Kleine-Tebbe J, Hausteiner U. Protein contact dermatitis induced by isolated delayed-type hypersensitivity to meat proteins. *Contact Dermatitis* 1999;41:113.
- [17] Norlen L. Skin barrier structure and function. *J Invest Dermatol* 2001;117:823–9.
- [18] Ogawa H, Yoshiike T. A speculative view of atopic dermatitis: barrier dysfunction in pathogenesis. *J Dermatol Sci* 1992;5:197–204.
- [19] Pilgram G, Vissers D, Van der Meulen H, Pavel S, Lavrijnsen S, Bouwstra J, et al. Aberrant lipid organisation in *stratum corneum* of patients with atopic dermatitis and lamellar ichthyosis. *J invest dermatol* 2001;117:710–7.
- [20] Reitamo S, Visa K, Kahonen K, Kayhko K, Stubb S, Salo OP. Eczematous reactions in atopic patients caused by epicutaneous testing with aeroallergens in atopic eczema. *Br J Dermatol* 1986;114:303–9.

- [21] Saint-Mézard P, Rosières A, Krasteva M, Berard F, Dubois B, Kaiserlian D, et al. Allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol* 2004;14(5): 284–95.
- [22] Seidenari S, Giusti G. Objective assessment of the skin of children affected by atopic dermatitis: a study of pH, capacitance and TEWL in eczematous and clinically uninvolved skin. *Acta Derm Venereol* 1995; 75:429–33.
- [23] Shakib F, Furmonaviciene R. The significance of enzymic and other biological activities of proteins in relation to their capacity to serve as allergens. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1056–7.
- [24] Spengel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, Martin TR, Bhan AK, Geha RS. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. *J Clin Invest* 1998; 101:1614–22.
- [25] Taieb A. Hypothesis: from epidermal barrier dysfunction to atopic disorders. *Contact Dermatitis* 1999;41:177–80.
- [26] Thestrup Pedersen K, Ellingsen AR, Olesen AB, Lund M, Kaltoft K. Atopic dermatitis may be a genetically determined dysmaturation of ectodermal tissue, resulting in disturbed T-lymphocyte maturation - A hypothesis. *Acta Derm Venereol [Stockh]* 1997;77:20–1.
- [27] Wakelin S. Contact urticaria. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:132–6.
- [28] Wan H, Winton HL, Soeller C, et al. Der p1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J Clin Invest* 1999; 104:123–33.
- [29] Wan H, Winton HL, Soeller C, Taylor G, Gruenert D, Thompson P, 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;31:279–94.
- [30] Wang LF, Lin JY, Hsieh KH, Lin RH. Epicutaneous exposure of protein antigen induces a predominant Th2-like response with high IgE production in Mice. *J Immunol* 1996;156:4079–82.
- [31] Werner Y, Lindberg M. Transepidermal water loss in dry and clinically normal skin in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1985;65:102–5.
- [32] White M, Jenkinson D, Lloyd D. The effect of washing on the thickness of the stratum corneum in normal and atopic individuals. *Br J Dermatol* 1987;116:525–30.