



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie 49 (2009) 58–61

Revue critique

Les protéines de transfert des lipides : des allergènes importants des fruits

Lipid transfer proteins as relevant fruit allergens

P. Rougé^{a,*}, J.-P. Borges^a, R. Culerrier^a, C. Brulé^a, A. Didier^c, A. Barre^{a,b}

^a UMR, CNRS 5546, université de Toulouse, 24, Chemin de Borde-Rouge, 31326 Castanet Tolosan cedex, France

^b Faculté de pharmacie, 35, Chemin des Maraîchers, 31062 Toulouse cedex 09, France

^c Clinique des voies respiratoires, CHU Larrey, 24, Chemin de Pourvoirville, 31059 Toulouse cedex 09, France

Reçu le 7 janvier 2009 ; accepté le 11 janvier 2009

Disponible sur Internet le 21 février 2009

Résumé

Les protéines de transfert des lipides (Lipid Transfer Proteins [LTP]) sont des phytoallergènes importants des fruits de Rosacées (prunoïdées). En raison de leur caractère ubiquitaires, les LTP sont distribuées dans d'autres organes (feuilles, racines, graines). Ce sont des protéines de petite taille (10 kDa) d'environ 90 acides aminés constituées d'hélices α qui adoptent une structure compacte en forme de saxophone. Quatre ponts disulfures conservés relient les différentes régions de la chaîne polypeptidique assurant à ces protéines une résistance remarquable à la dénaturation thermique (cuisson) et à l'attaque des protéases digestives. Cette résistance rend compte en grande partie de leur allergénicité. L'allergénicité des LTP est liée à trois épitopes liant les IgE exposés en surface. L'épitope 2 est un épitope consensus conservé dans de nombreuses LTP de fruits (raisin), du latex (Hev b 9) ou de graines (Cor a 8 de la noisette). Les réactivités croisées entre LTP d'origine très différente sont fréquentes en raison de cette communauté épitopique. Les profils cliniques des patients allergiques à la pêche diffèrent énormément entre le Nord et le Sud de l'Europe. En Espagne, la sensibilisation à la pêche se fait par contact direct avec la LTP (Pru p 3) du fruit et n'est généralement pas associée à une pollinose. Elle se traduit souvent par des réactions généralisées. Aux Pays-Bas et en Autriche, la sensibilisation s'effectue par l'intermédiaire de Bet v 1 du pollen de bouleau et l'allergie à la pêche dépend d'une réaction croisée entre Bet v 1 et son homologue Mal d 1 de pomme.

© 2009 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Protéines de transfert des lipides ; Allergènes des fruits ; Pru p 3 ; Mal d 3 ; Réactivité croisée

Abstract

Lipid transfer proteins (LTP) have been identified as important phytoallergens, especially in fruits from the Rosaceae (Prunoïdæ). However, due to their ubiquitous character, they are widely distributed in other plant organs (leaves, roots, seeds). They correspond to small sized proteins of approximately 90 amino acid residues (10 kDa) consisting of four α helices organized in a tightly packed "saxophone like" fold. Four conserved disulfide bridges linking different regions of the polypeptide chain make these proteins extremely resistant to both heat denaturation (cooking) and proteolysis by digestive enzymes. Such a resistance to denaturation significantly account for their allergenicity. Allergenicity of fruit LTP depends on the occurrence of three IgE-binding epitopes at the surface of the proteins. Epitope #2 consists of a consensus epitope nicely conserved in many other LTP from fruits (grape), tree rubber latex (Hev b 9), seeds (Cor a 8 of chestnut). According to this epitopic community, IgE-binding cross-reactions frequently occur between LTP of different origin. Anaphylactic reactions to peach/apple readily differ in patients from Northern and Western European countries. In Spain, patients become sensitized by skin contact with the fruit Pru p 3 and often develop strong anaphylactic reactions (anaphylactic shock) without associated pollinosis. In the Netherlands and Austria, sensitization is associated to the birch pollen Bet v 1 allergen and allergic reactions to apple result from the IgE-binding cross-reactivity of Bet v 1 with the apple Mal d 1 PR-10 protein. Besides Rosaceae allergy, LTP are involved in many other food allergies and thus appear as particularly relevant food panallergens.

© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Lipid transfer proteins; Fruit allergens; Pru p 3; Mal d 3; IgE-binding cross-reactivity

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : rouge@scsv-ups-tlse.fr (P. Rougé).

1. Structure et propriétés des *lipid transfer proteins* (LTP)

Découvertes par J.C. Kader dans les années 1990 [1], les LTP d'origine végétale correspondent à deux catégories de protéines : les LTP1 (de séquence longue) et LTP2 (de séquence plus courte). Les LTP1, qui ont des propriétés allergéniques [2,3], sont des protéines de petite taille (environ 90 acides aminés) riches en acides aminés basiques (arginine et lysine) ce qui leur confère un point isoélectrique (pI) élevé, généralement de l'ordre de 9 ou supérieur. Les LTP des fruits de Rosacées* sont très conservées et possèdent des séquences très voisines (Fig. 1). Cette conservation de séquence s'accompagne d'une conservation structurale : elles adoptent une structure tridimensionnelle dite « saxophone like » constituée d'un cœur formé de quatre hélices α reliées par des boucles prolongées par une longue extrémité C-terminale flexible [4] (Fig. 2C). Huit résidus de cystéine forment quatre ponts disulfure extrêmement conservés qui sous-tendent cette structure et lui confèrent une extrême solidité. Les LTP sont ainsi de petites protéines compactes extrêmement résistantes à la dénaturation thermique (cuisson) et très difficilement attaquées par les protéases (pepsine, trypsine, chymotrypsine) digestives [4]. Ces propriétés structurales contribuent fortement à leur l'allergénicité.

2. Localisation et répartition des LTP dans les fruits de Rosacées

Dans les fruits de Rosacées (pomme, pêche, prune, abricot, cerise), les LTP correspondent à des allergènes extracellulaires. Dans la pomme et la pêche, ils se concentrent essentiellement dans la peau et beaucoup moins dans la chair (pulpe) du fruit [5]. Certaines variétés de pommes (Granny Smith, Golden delicious, Fuji) sont particulièrement riches en LTP et la disparité peau/chair peut être très importante : environ 30 fois plus de LTP dans la peau de Granny Smith que dans la chair, seulement dix fois plus dans la peau de Golden delicious ou de Fuji. En cas d'allergie légère à la pomme, il n'est pas inutile de recommander d'éplucher les fruits avant consommation, ce qui permet d'éliminer une grande partie des LTP (Mal d 3). Dans la pêche, ce sont les poils formant le revêtement duvetoux du fruit

qui sont les plus riches en Pru p 3 [5] (Fig. 2A et B). Là encore, l'épluchage des pêches avant consommation peut considérablement réduire l'apport de Pru p 3. Cette disparité peau/chair n'est cependant pas générale, dans la prune ou l'abricot, les teneurs en LTP de la peau et de la chair sont équivalentes.

3. LTP et allergies croisées

L'allergénicité des LTP dépend de l'existence d'épitopes liant les IgE distribués à la surfaces de ces protéines. Les épitopes des LTP de Rosacées (Mal d 3, Pru p 3, Pru av 3, Pru ar 3) ont été identifiés [6] : ils sont au nombre de trois et correspondent à des régions chargées positivement (car riches en arginine et lysine) bien exposées à la surface des allergènes (Fig. 2D et E). L'épitope 2, qui possède une séquence très conservée dans toutes les LTP de Rosacées, présente une conformation quasi identique chez toutes ces LTP responsable de nombreuses réactions croisées (Fig. 2F–H). Ces homologies de séquence et de structure s'étendent au-delà des LTP des fruits de Rosacées et se retrouvent, bien que souvent atténuées, dans des LTP d'autres organes végétaux, graines (graminées, noisette, haricot), feuilles (laitue) ou tubercule (navet). Le latex de l'arbre à caoutchouc (*Hevea brasiliensis*) renferme également une LTP (Heb v 9) correspondant à un allergène mineur [7]. Des réactivités croisées sont à attendre de ces homologies entre LTP d'origine très différente. De ce point de vue, les LTP sont des panallergènes qui se comportent comme les profilines.

4. Diagnostic biologique

L'implication d'une LTP dans une allergie alimentaire reste difficile à diagnostiquer car jusqu'à présent, on ne dispose pas de LTP recombinantes, en dehors de celle de pêche (rPru p 3) commercialisée par Phadia et disponible en immuno-CAP. Plusieurs LTP ont été exprimées avec succès dans la levure [8] ou dans *Escherichia. coli* (Borges J.P. et al., résultats non publiés) mais elles ne sont pas encore disponibles pour le diagnostic. La caractérisation d'une LTP en tant qu'agent causal d'une allergie alimentaire repose sur les techniques classiques de protéomique : identification par spectrométrie de masse Maldi-Tof des peptides résultant de l'hydrolyse trypsique des fractions protéiques

Pru p 3	ITCGQVSSSLAPCIPYVRGGGAVPPACCGIRNVNLLARTTPDRQAACNCLK
Pru ar 3	ITCGQVSSSLAPCIGYVRGGGAVPPACCGIRNVNLLARTTPDRRTACNCLK
Pru d 3	ITCGQVSSNLAPCINIVKGGGAVPPACCGIRNVNLLARTTADRRAACNCLK
Pru av 3	LTCGQVSSNLAPCIAVVRGGGAVPPACCGIRNINLLAKTTADRQTACNCLK
Mal d 3	ITCGQVTSSLAPCIGYVRSGGAVPPACCGIRTINLLARTTADRQTACNCLK
	* * * *
Pru p 3	QLSASVPGVNPNNAAALPGKCGVSIPIYKISASTNCATVK
Pru ar 3	QLSGSISGVNPNNAALPGKCGVNIPIYKISASTNCATVK
Pru d 3	QLSGSIPGVNPNNAALPGKCGVNPYKISASTNCATVK
Pru av 3	QLSASVPGVNNANNAALPGKCGVNPYKISPSTNCATVK
Mal d 3	NLAGSISGVNPNNAAGLPGKCGVNPYKISTSTNCATVK
	* *

Fig. 1. Comparaison des séquences d'acides aminés des MTP de pêche (Pru p 3), d'abricot (Pru ar 3), de prune (Pru d 3), de cerise (Pru av 3) et de pomme (Mal d 3). Les acides aminés identiques sont surlignés en gris et les résidus conservés de cystéine qui forment des ponts disulfures sont indiqués par un astérisque (*).

*Selon la nomenclature officielle des LTP, les LTP de pomme (Mal d 3), de pêche (Pru p 3), de prune (Pru d 3), d'abricot (Pru ar 3) ou de cerise (Pru av 3) sont désignées par les trois premières initiales du nom de genre (Pru pour Prunus) suivies de la première (ou des deux premières) lettre du nom d'espèce (p pour persica) et d'un nombre (3) indiquant l'ordre chronologique de découverte de l'allergène dans l'espèce.

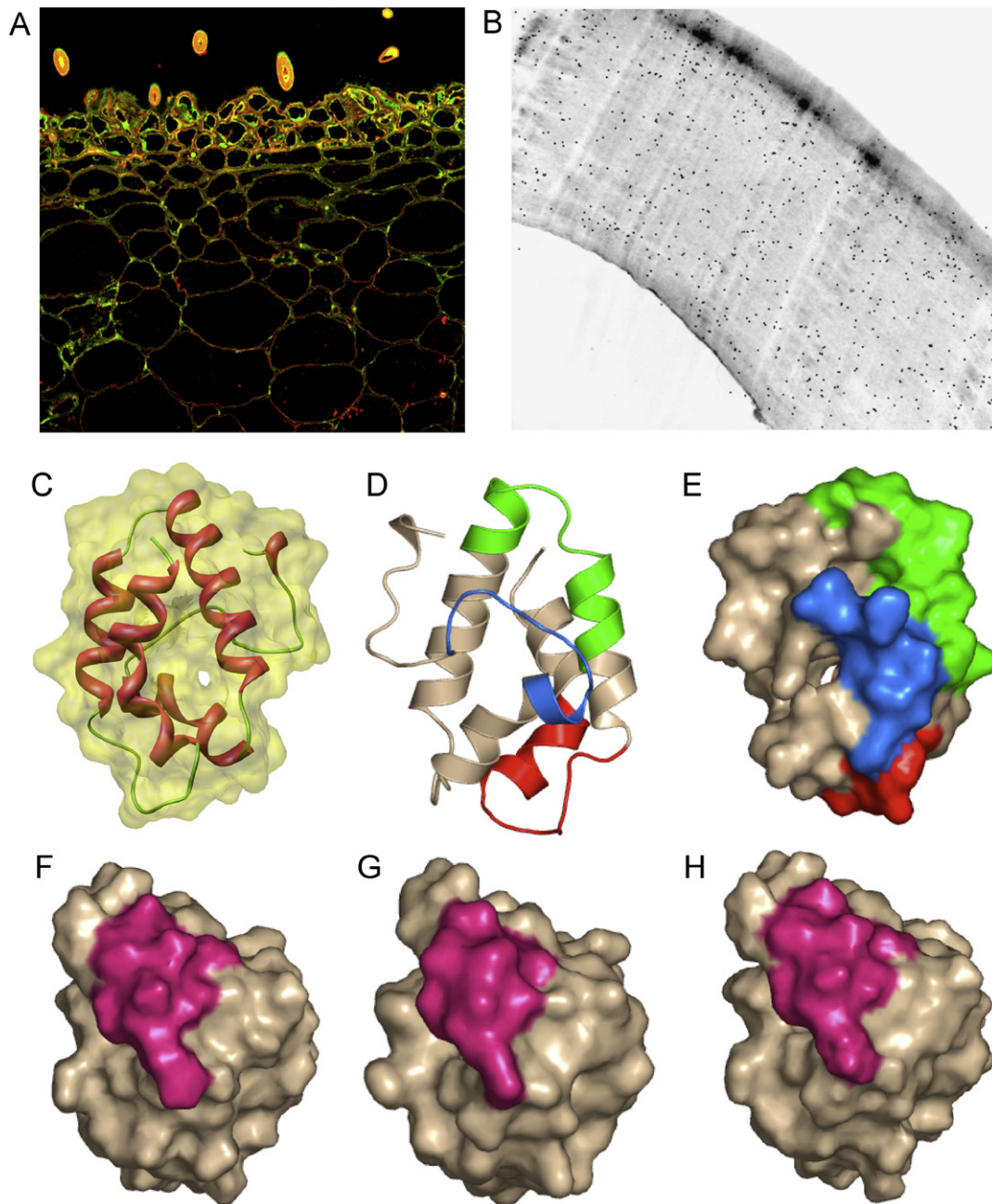


Fig. 2. A. Localisation immunocytochimique de Pru p 3 dans les poils du revêtement duveteux de la pêche et dans les assises cellulaires superficielles du fruit. B. Marquage à l'aide d'anticorps secondaires couplés à l'or colloïdal (granulation) de Pru p 3 dans la paroi des poils du revêtement duveteux du fruit. C. Modèle tridimensionnel de Mal d 3 montrant les quatre hélices α et le repliement compact de la LTP. D. Localisation des épitopes liant les IgE 1 (rouge), 2 (vert) et 3 (bleu) de Mal d 3. E. Surface occupée par les épitopes 1 (rouge), 2 (vert) et 3 (bleu) sur la surface moléculaire de Mal d 3. F, G, H. Conformation similaire de l'épitope 2 (coloré en rouge) de Mal d 3 (pomme), Pru p 3 (pêche) et Pru av 3 (cerise).

séparées par SDS-Page et interagissant avec les IgE du patient allergique après transfert sur membrane de nitrocellulose. Ces techniques ne sont actuellement disponibles que dans les laboratoires de recherche.

5. Implication des LTP dans l'allergie : des profils cliniques très différents au Nord et au Sud de l'Europe

Avec les *thaumatin like proteins* (TLP) et les 1,3 β -glucanases, les LTP constituent les allergènes majeurs des

fruits de Rosacée. L'allergie aux fruits de Rosacées, pêche et pomme essentiellement, correspond à des profils de sensibilisation et à des tableaux cliniques très différents entre le Nord et le Sud de l'Europe (résultat du projet Safe financé par la CEE, portant sur 389 patients [9]). Dans le Sud de l'Europe (Espagne essentiellement, mais aussi Italie et pourtour méditerranéen), l'allergie à la pêche résulte d'une sensibilisation primaire vis à vis du fruit et provoque fréquemment des réactions anaphylactiques généralisées (œdème buccopharyngé, choc anaphylactique). Elle est souvent associée à une allergie à la pomme

due à une réactivité croisée entre Pru p 3 (LTP de pêche) et Mal d 3 (LTP de pomme). Les auteurs espagnols ont montré que la sensibilisation s'effectue par voie transcutanée chez le jeune [10] et serait vraisemblablement liée au contact des enfants avec le revêtement duveteux riche en LTP, mentionné plus haut (cf. Section 2). En revanche, dans le Nord de l'Europe (Pays-Bas, Autriche), l'allergie à la pomme résulte d'une sensibilisation primaire par Bet v 1 (protéine PR-10) du pollen de bouleau et s'explique par une réactivité croisée entre Bet v 1 et Mal d 1 (protéine PR-10 de la pomme). Ces allergies se traduisent par des manifestations bénignes (picotements autour des lèvres, rougeurs, prurit) sans réaction anaphylactique généralisée. Cette disparité entre les pays du Nord et du Sud de l'Europe est difficile à expliquer. Elle pourrait être liée à une susceptibilité différente des populations du Nord et du Sud de l'Europe (facteurs génétiques) mais également à la consommation en Espagne et dans le pourtour méditerranéen de variétés de pêches à revêtement duveteux plus développé et non conditionnées.

En pratique, une allergie à la pêche associée à une allergie pollinique sera le plus souvent liée à des allergènes différents des LTP (homologues de Bet v 1, 1,3b-glucanases, TLP, profilines) et sera essentiellement bénigne. En revanche, une allergie à la pêche sans allergie pollinique sera généralement due à Pru p 3 et sera potentiellement grave (risque de choc anaphylactique).

En raison de leur caractère ubiquitaire, les LTP ont été incriminées dans d'autres allergies, notamment dans l'allergie à la noisette. Là encore, une disparité apparaît entre le Nord et le Sud de l'Europe. Dans le Nord, l'allergie à la noisette dépend d'une réactivité croisée avec Bet v 1 (sensibilisation primaire par le pollen de bouleau) et Cor a 1 (protéine PR-10 de la noisette, homologue de Bet v 1). Dans ce cas, seule la noisette crue déclenchera une réaction allergique car les protéines PR-10 (Bet v 1) sont thermolabiles et ne résistent pas au grillage des noisettes. Dans le Sud de l'Europe, l'allergie à la noisette dépend d'une sensibilisation primaire par la pêche et résulte d'une réactivité croisée entre Cor a 8 (la LTP de noisette) et son homologue de la pêche Pru p 3. En raison de la thermostabilité des LTP, les noisettes crues ou grillées auront la même réactivité [11].

L'allergie à la salade [12], au vin rouge et au raisin [13], à la bière [14] font également intervenir des LTP. Récemment, la LTP du maïs (*Zea m 14*) s'est révélée être un allergène majeur [15]. En revanche, dans l'allergie au latex, Hev b 9 est considéré comme un allergène mineur [7]. Leur caractère de panallergènes apparaît ici nettement.

6. Conclusion

Les LTP sont actuellement considérées comme des panallergènes impliqués dans de nombreuses allergies alimentaires potentiellement graves. Elles se distinguent en cela des allergies dues à d'autres panallergènes comme les profilines qui sont généralement bénignes. Les allergies aux fruits de

Rosacées leur sont en grande partie imputables, avec les TLP et les 1,3b-glucanases, qui sont aussi largement distribués dans les organes végétaux. L'allergénicité des LTP n'ayant été reconnue qu'assez récemment, il est à prévoir qu'en raison de leur caractère ubiquitaire, d'autres allergies alimentaires imputables à des LTP seront caractérisées dans un proche avenir.

Remerciements

Les auteurs remercient la SFAIC pour son soutien financier (A.B.).

Références

- [1] Kader JC. Lipid transfer proteins in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1996;47:627–54.
- [2] Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Ispano M, Monza M, et al. The major allergen pf peach (*Prunus persica*) is a lipid transfer protein. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:520–6.
- [3] Sánchez-Monge R, Lombardero M, García-Sellés FJ, Barber D, Salcedo G. Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:514–9.
- [4] Gincel E, Simorre JP, Caille A, Marion D, Ptak M, Vovelle F. Three-dimensional structure in solution of a wheat lipid transfer protein from multidimensional 1H-NMR data. A new folding for lipid carriers. *Eur J Biochem* 1994;226:413–22.
- [5] Borges JP, Jauneau A, Brulé C, Culerrier R, Barre A, Didier A, et al. The lipid transfer proteins (LTP) essentially concentrate in the skin of Rosaceae fruits as cell surface exposed allergens. *Plant Physiol Biochem* 2006;44:535–42.
- [6] Borges JP, Barre A, Culerrier R, Granier C, Didier A, Rougé P. Lipid transfer proteins from Rosaceae share consensus epitopes responsible for their IgE-binding cross-reactivity. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;365:685–90.
- [7] Rolland JM, O'Hehir RE. Latex allergy: a model for therapy. *Clin Exp Allergy* 2008;38:898–912.
- [8] Zuidmeer L, van Leeuwen WA, Budde IK, Cornelissen J, Bulder I, Rafalska I, et al. Lipid transfer proteins from fruit: cloning, expression and quantification. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137:273–81.
- [9] Fernández-Rivas M. Les allergènes croissants à l'échelle moléculaire : comparaison nord-sud. *Rev Fr Allergol Clin Immunol* 2006;46:167–9.
- [10] Fernández-Rivas M, González-Mancebo E, Rodríguez-Pérez R, Benito C, Sánchez-Monge R, Salcedo G, et al. Clinically relevant peach allergy is related to peach lipid transfer protein Pru p 3, in the Spanish population. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:789–95.
- [11] Sánchez-Monge R, Blanco C, López-Torrejón G, Cumplido J, Recas M, Figueroa J, et al. Differential allergen sensitization patterns in chestnut allergy with or without associated latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:705–10.
- [12] San Miguel-Moncín M, Krail M, Scheurer S, Enrique E, Alonso R, Conti A, et al. Lettuce anaphylaxis: identification of a lipid transfer protein as the major allergen. *Allergy* 2003;58:511–7.
- [13] Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Fortunato D, Giuffrida MG, et al. Identification of grape and wine allergens as an endochitinase 4, a lipid-transfer protein, and a thaumatin. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:350–9.
- [14] García-Casado G, Crespo JF, Rodríguez J, Salcedo G. Isolation and characterization of barley lipid transfer protein and protein Z as beer allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:647–9.
- [15] Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ispano M, Scibilia E, Tambaioli C, et al. The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:744–51.