

LA TOLÉRANCE ALIMENTAIRE CHEZ LE NOURRISSON :

nouvelles données immunologiques et implications pratiques

J.P. LANGHENDRIES (1)

RÉSUMÉ : Les premiers mois de la vie constituent une période clé dans la mise en place de l'immunité postnatale. Il apparaît que cette induction immunitaire passe avant tout par l'optimisation de l'interface entre l'immunité innée et l'immunité adaptative au niveau du chorion sous-muqueux. La meilleure compréhension de ces mécanismes complexes pourrait déboucher sur des modalités d'administration plus adéquate de l'antigène alimentaire en bas âge favorisant ainsi sa meilleure tolérance. Cela permettrait peut-être de diminuer le risque de déviations immunitaires ultérieures observées ces dernières années.

MOTS-CLÉS : Nouveau-né - Nourrisson - Tolérance orale - Immunité - Flore

DIETARY ANTIGEN TOLERANCE IN THE EARLY STAGE

SUMMARY : The first months of life have to be seen as a crucial period in term of implementation of the postnatal immunity. This immunological induction will be made possible through an optimization of the interface between innate and adaptive immunities in the submucosal area. A better understanding of those complex mechanisms should allow finding the best way to introduce the dietary antigen in the early stage. Maybe, it should favour a optimal tolerance to the dietary antigen and reduce the now observed increase of immune deviances later on.

KEYWORDS : Neonate - Infant - Oral tolerance - Immunity - Microflora

MÉCANISMES IMMUNITAIRES IMPLIQUÉS DANS L'ACQUISITION DE LA TOLÉRANCE À L'ANTIGÈNE ALIMENTAIRE

La compréhension des mécanismes qui régissent l'acquisition de la tolérance à l'antigène alimentaire a fait d'énormes progrès au cours des dernières années (1). Grâce aux différentes études expérimentales, il est d'abord apparu que la flore intestinale colonisatrice néonatale y joue un rôle clé (2). L'entérocyte du nouveau-né semble particulièrement bien préparé à l'établissement initial d'un dialogue biochimique réciproque avec les bactéries envahissantes (3). Celui-ci permet la modulation génique de cette cellule muqueuse et la création de niches spécifiques grâce à la glycosylation spécifique du glycocalix sous l'action des enzymes bactériens (4, 5). C'est cette interaction qui débouchera progressivement sur la mise en place d'une interface entre immunité innée et adaptative (6-8).

Celle-ci va permettre deux réponses *a priori* opposées : 1) l'initiation des mécanismes de défense vis-à-vis des bactéries pathogènes par une activation des immunités cellulaire (Th1) et humorale (Th2) associée à une tolérance progressive de la flore commensale (9-13); 2) la mise en place des lymphocytes régulateurs (Th3, Tr1, et CD25+) capables de contrôler une réponse excessive de ces deux bras de l'immunité adaptative (14-21). Ces deux réponses conjointes vont permettre l'acquisition progressive de la tolérance à l'antigène alimentaire et sa mémorisation.

L'entérocyte est la première cellule qui participe à l'établissement de cette tolérance à l'antigène alimentaire. Cette cellule qui n'exprime que les antigènes d'histocompatibilité de type I (MHC-I) agit comme une cellule présentatrice d'antigène aspécifique (Fig. 1a). Elle est toutefois capable de reconnaître la nature de l'antigène et d'activer directement les lymphocytes intra-épithéliaux $\gamma\delta$ TCD8+ de type suppresseur. Ceux-ci font intégralement partie de l'immunité innée du chorion sous-muqueux et sont en quantité très importante dès le très jeune âge. Leur activation particulièrement sollicitée en présence d'une grosse charge antigénique permet la suppression de la réaction immunitaire suite à l'apoptose cellulaire locale induite. C'est le premier mécanisme de tolérance décrit (1). Cette réaction est rapide mais ne débouche pas sur l'activation des lymphocytes effecteurs CD4+ et ne permet donc ni l'acquisition de la mémorisation à la tolérance ni le contrôle de la réponse immunitaire via les lymphocytes CD4+ de type régulateur. Le deuxième mécanisme décrit fait intervenir les cellules M, ces cellules entérocytaires très spécialisées qui surplombent le pôle supérieur des plaques de Peyer. Les cellules épithéliales M qui recouvrent les plaques de Peyer, ont la faculté d'internaliser et d'exprimer à leur pôle basal des épitopes antigéniques de toute nature, jouant ainsi un rôle d'informateur à l'égard des cellules dendritiques aussi appelées Cellules Présentatrices d'Antigène (CPA) du chorion sous-muqueux (7-11). Très tôt dans la vie foetale, ces CPA se trouvent en concentration élevée dans la *lamina propria*. Il apparaît que ces cellules dendritiques sont d'une nature différente que celle retrouvée ailleurs dans l'or-

(1) Pédiatre-Néonatalogue, Service de Néonatalogie, CHC Saint-Vincent, Rocourt.

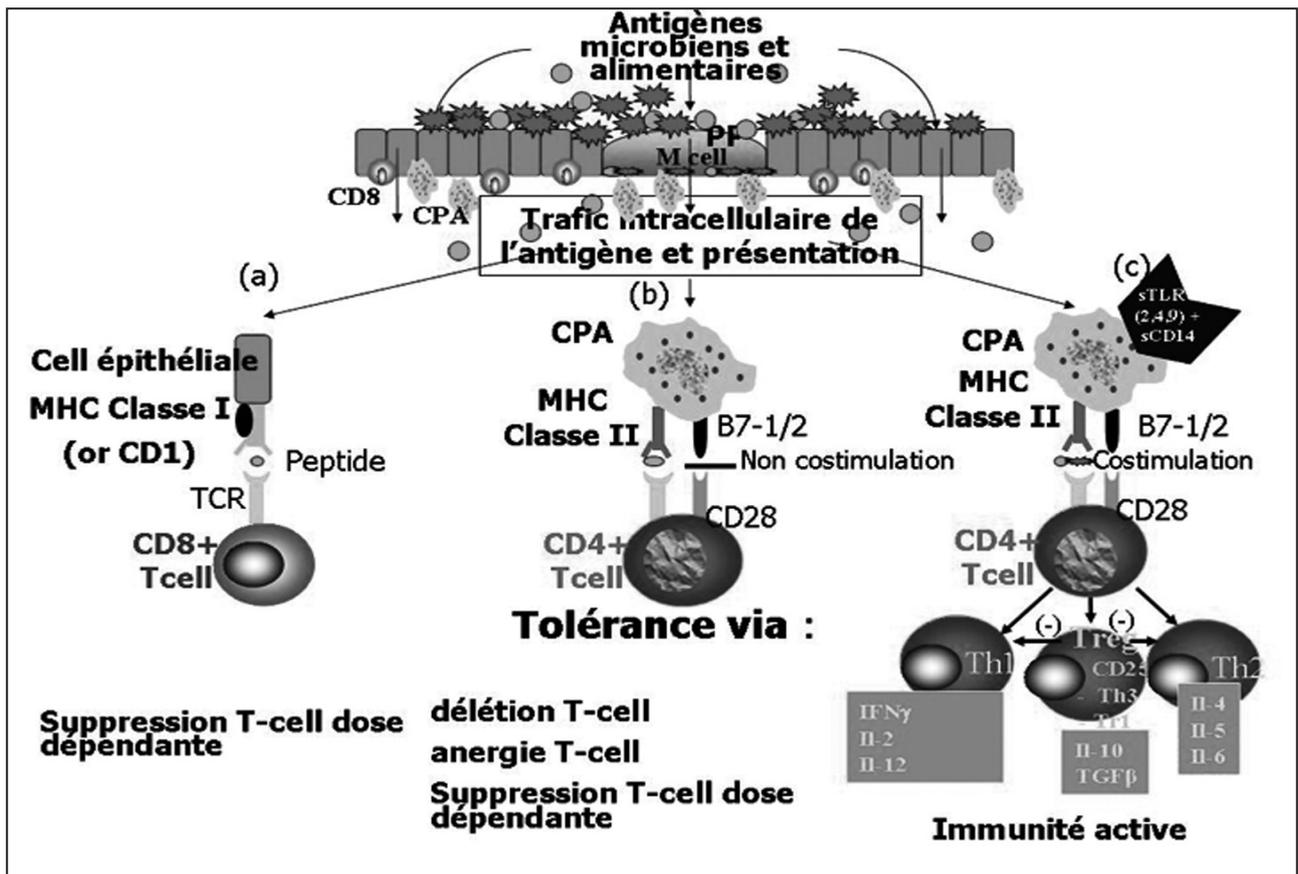


Figure 1. Mécanismes d'acquisition de la tolérance à l'antigène alimentaire. CD : Cluster of Differentiation; M Cell : Cellule M; CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène; MHC : Major Histo-Compatibility Class; II : Interleukines; IFN : Interféron; sTLR's : Toll Like Récepteurs sécrétoires; TGF : Transforming Growth factor; PP : Plaques de Peyer; T-cell CD4+ : cellule T CD4+; T-reg : cellule T régulatrice CD4+ (1).

ganisme (10-13) et vont jouer le rôle clé d'activation de la réponse immunitaire en fonction de l'information qui leur est donnée. Grâce à un contact étroit entre la cellule M et l'entérocyte, d'une part, et les CPA d'autre part, l'information sur la nature des antigènes est transmise, permettant la mise en route de l'immunité innée du chorion sous-muqueux. Ces CPA vont décoder l'information reçue des cellules M sur la nature d'un antigène et en informer les lymphocytes T effecteurs CD4+ naïfs du chorion sous-muqueux qui sont responsables de l'immunité adaptative. Par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques exprimés à la surface du lymphocyte et liés au MHC de type II, la transformation en un lymphocyte effecteur sera tributaire de l'information reçue par les CPA. Si la nature alimentaire de l'antigène est reconnue, et donc en l'absence de reconnaissance de lipopolysaccharides bactériens, il se produit une anergie/apoptose lymphocytaire par non co-stimulation d'un de ses récepteurs (CD28). La tolérance à l'antigène alimentaire est en conséquence à nouveau assurée (Fig. 1b).

Cependant, pour qu'il y ait tolérance optimale à l'antigène alimentaire et mémorisation de cette

tolérance, il faut obligatoirement une activation lymphocytaire qui constitue le troisième mécanisme impliqué. (7, 9, 14). Grâce à la présence de la co-stimulation décrite plus haut et induite par une protéine exprimée à la surface de la CPA (B7) sur le récepteur CD28 du lymphocyte CD4+ effecteur naïf, celui-ci va subir une transformation cellulaire adaptative soit dans le sens de l'immunité cellulaire (Th1) avec sécrétion de cytokines spécifiques (IL2, Interféron gamma, IL12) ou soit dans le sens de l'immunité humorale (Th2) avec sécrétion d'autres cytokines (IL 4, IL 5, IL 10) (Fig. 1c). Le mode d'activation du lymphocyte T CD4, soit de type Th1, soit de type Th2, va dépendre, d'une part, des «Toll-like Receptors» (TLR) activés et, d'autre part, du type de CPA activées (CPA myéloïdes, «myeloid Dendritic Cells» (mDC's) ou CPA plasmacytoïdes, «plasmacytoïd Dendritic Cells» (pDC's)) (15, 16). C'est ici que les bactéries vont jouer un rôle fondamental grâce à la reconnaissance de leur paroi lipo-polysaccharidique par ces TLR's. En effet, le matériel bactérien est reconnu par la cellule épithéliale, mais aussi par l'ensemble des cellules immunocompétentes du chorion

sous-muqueux, grâce à l'expression par celles-ci de ces TLR's (15-21). Ces récepteurs présents sur toutes ces cellules - notamment les TLR-2 et TLR-4 au pôle baso-latéral de la cellule épithéliale - reconnaissent la nature bactérienne de l'antigène et permettent à la cellule la transcription du facteur nucléaire NF- κ B qui entraîne la cascade pro-inflammatoire. Grâce à une réponse lymphocytaire équilibrée des CPA informées sur la nature bactérienne de la flore, le système immunitaire du chorion sous-muqueux reçoit en priorité une impulsion pro-inflammatoire de type Th1, guidée par la sécrétion des cytokines IL2 et IL12. L'acquisition de la mémorisation de la tolérance liée à l'effet inducteur immunitaire parallèle de l'antigène alimentaire et le contrôle de la réaction d'hypersensibilité retardée (HSR) sont particulièrement favorisés par cette activation de type Th1 de la cellule CD4+ via la sécrétion de l'interféron gamma (INF- γ). Celui-ci contrôle également la réponse Th2 concomitante, par un effet inhibiteur puissant en cas d'excès de la réaction Th2. Ainsi, le matériel bactérien intervient dans le contrôle d'un éventuel excès de réaction Th2 vis-à-vis des antigènes alimentaires.

La réaction Th2 concomitante induite au niveau du lymphocyte T CD4+ effecteur est également importante. Elle entraîne la sécrétion des interleukines IL-4, IL-5 et IL-10. Le lymphocyte T CD4+ orienté Th2 permet l'activation du lymphocyte B qui, après transformation en plasmocyte, devient capable de sécréter l'immunoglobuline pour laquelle il a été rendu compétent. Cette réaction humorale Th2 favorise la recolonisation du chorion sous-muqueux et des glandes exocrines par des plasmocytes mûrs sécréteurs d'immunoglobulines, et singulièrement d'IgA sécrétoires (sIgA). Le TGF- β , sécrété notamment par les cellules macrophagiques du chorion sous-muqueux, favorise la transformation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'IgA. Les sIgA sont principalement dirigées contre la flore intestinale, permettant un contrôle antibactérien, mais aussi, dans une moindre mesure, vers les antigènes alimentaires car la réponse humorale fait partie intégrante de la réponse immunitaire du chorion sous-muqueux.

INDUCTION DES CELLULES LYMPHOCYTAIRES RÉGULATRICES (T3, Tr1, CD25)

La mise en évidence au niveau du chorion sous-muqueux d'un nouveau profil de cellules régulatrices T immunosuppressives est une découverte essentielle qui a permis de mieux appréhender le contrôle de l'équilibre des réactions Th1 et

Th2. La transformation directe du lymphocyte T effecteur CD4+ en une cellule T suppressive permet un contrôle rapide de l'excès de l'une ou de l'autre réponse Th1 ou Th2 («Bystander suppression», suppression sentinelle). La mise en route de cette fonction suppressive se fait également sous l'impulsion du matériel bactérien via les TLR's, notamment TLR2 et TLR4 qui paraissent jouer un rôle déterminant (17-21). Les TLR's excrétés dans le milieu extra-cellulaire et donc sous forme sécrétoires (sTLR's) ainsi que d'autres glycoprotéines sécrétoires (sCD14+) exercent un effet régulateur sur la réponse pro-inflammatoire. Ces récepteurs sécrétés dans le milieu extracellulaire contrôlent également la transformation de ces cellules effectrices en cellules suppressives (20). Ces cellules suppressives de différents types (Tr1/Th3/CD25) jouent un rôle capital de contrôle d'un excès de réaction de type Th1 ou Th2 grâce à l'élaboration locale de deux cytokines, l'Il-10 et le TGF- β (Fig. 1c), Ce mécanisme semble un autre élément crucial pour éviter tout emballement inflammatoire et acquérir la tolérance alimentaire.

UNE MEILLEURE CONNAISSANCE DES MÉCANISMES RÉGISSANT LA TOLÉRANCE À L'ANTIGÈNE PEUT-ELLE DÉBOUCHER SUR UN CHANGEMENT DE NOS PRATIQUES D'ALIMENTATION DURANT LES PREMIERS MOIS DE LA VIE ?

Il est largement établi que tous les mécanismes cellulaires aptes à assurer cette réponse ne sont pas déficients chez le jeune nourrisson dans les premiers mois de la vie mais qu'ils sont encore immatures (22). En particulier, la sécrétion d'interféron gamma qui est la cytokine sécrétée par les lymphocytes CD4+ à orientation Th1 est moins marquée dans les premières semaines de la vie ce qui ne concourt pas à l'établissement d'une tolérance optimale à l'antigène alimentaire. La réponse humorale est également différente. La synthèse des sIgA's dont la stimulation est assurée par le TGF- β est retardée; ce sont surtout des IgM's que l'on retrouve dans les premières semaines au niveau du chorion sous-muqueux.

L'allaitement maternel exclusif permet d'optimiser les mécanismes d'acquisition de la tolérance à l'antigène alimentaire. Le lait maternel distille en effet certains épitopes antigéniques qui ne sont que le reflet de l'exposition environnementale de la mère et de son alimentation. Il contient un nombre impressionnant de biofacteurs immunologiques agissant de façon complémentaire et permettant de maximiser l'acquisition de la tolérance à ces antigènes (23,

24). Dans un modèle expérimental utilisant la souris, il a ainsi été démontré que l'exposition par nébulisation d'un antigène réputé allergisant à la mère allaitante était suivi de sa présence dans le lait quelque temps plus tard (25). Son administration au souriceau via le lait le rend plus apte à être toléré grâce à une activation optimale chez la mère des lymphocytes CD4⁺ régulateurs et l'augmentation concomitante de TGF- β dans le lait (25). Cette cytokine – faut-il le rappeler – représentée avec l'Il-10 les microprotéines essentielles sécrétées par les lymphocytes régulateurs CD4⁺, CD25⁺ qui contrôlent le risque d'emballement des réponses immunitaires décrites Th1 et Th2. Dans un autre modèle expérimental, l'administration orale de TGF- β paraît également potentialiser la tolérance à l'ovalbumine lorsque celle-ci est administrée oralement à des souris (26). Ceci renforce l'idée que ces cytokines remplissent un rôle fondamental dans l'homéostasie immunologique du chorion sous-muqueux.

Les données expérimentales déjà plus anciennes ont montré que l'administration de faibles doses répétées de l'antigène alimentaire par voie orale est de nature à maximiser l'activation des lymphocytes régulateurs alors que l'administration de fortes doses a tendance à activer les lymphocytes intra-épithéliaux suppresseurs de type $\gamma\delta$ TCD8⁺ et à supprimer la réponse Th1 en gardant effective la réponse Th2, entretenant ainsi un risque de déséquilibre de la réponse immunitaire adaptative (27). Les données plus récentes semblent confirmer que l'administration répétée de faibles doses d'antigène est de nature à favoriser l'interaction entre les CPA's et les lymphocytes naïfs CD4⁺ du chorion sous-muqueux (10, 13). Ce mode d'introduction de l'antigène paraît induire un meilleur contrôle de la réponse cellulaire Th1 sous l'influence du matériel bactérien permettant ainsi plus adéquatement une mémorisation de la tolérance à l'antigène. En outre, cette administration lente et progressive optimise les mécanismes de Bystander suppression qui permettent un meilleur contrôle des réponses Th1 et Th2 (17-21) via les lymphocytes régulateurs de type CD4⁺ (Th3, Tr1, CD25+).

CONCLUSION

Pour éviter les déviations de type immunitaire, les recommandations actuelles en matière d'alimentation de la première année sont de prôner un allaitement maternel exclusif durant les six premiers mois suivi d'un allaitement mixte lors de la phase de diversification solide de six mois à un an. Les quelques rares étu-

des bien conduites sur l'effet protecteur du lait maternel (28) ont en effet permis de démontrer l'effet protecteur de l'allaitement maternel exclusif en bas-âge sur l'émergence de l'atopie, particulièrement en cas de prédisposition génétique. Pour ce qui concerne la manière d'introduire la diversification, il n'existe qu'un consensus sur la limite de 4 mois en dessous de laquelle elle n'est pas recommandée (29, 30). La majorité des auteurs s'accordent pour dire que le retard trop important de l'exposition aux antigènes alimentaires ne serait pas de nature à favoriser leur tolérance et parlent d'une fenêtre immunitaire idéale pour l'exposition entre 4 et 10 mois de vie (31, 32). Par contre, aucun *consensus* n'existe sur la façon de l'initier ni sur la façon de progresser dans la diversification. De même, aucune étude n'a comparé l'effet sur les risques de déviations immunitaires entre une introduction rapide et massive de l'antigène (traditionnelle) avec l'introduction *step by step* qui repose sur quatre points : 1) un antigène à la fois; 2) donné à faibles doses; 3) doses répétées et 4) lentement progressives. Il pourrait dès lors être intéressant d'envisager une étude permettant de déterminer si une différence de progression dans la diversification alimentaire induit une différence de tolérance à l'antigène. A notre connaissance, cela n'a jamais été réalisé de façon prospective.

BIBLIOGRAPHIE

1. Strobel S, Mowat A Mcl.— Immune responses to dietary antigens : oral tolerance. *Immunol Today*, 1998, **19**, 173-181.
2. Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, et al.— The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol*, 1997, **159**, 1739-1745.
3. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al.— Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 2005, **307**, 1915-1920.
4. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, et al.— Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, 2001, **291**, 881-884.
5. Hooper LV, Midvedt T, Gordon JI.— How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr*, 2002, **22**, 283-307.
6. Brandtzaeg P.— Development of the mucosal immune system in humans. In : *Recent developments in Infant Nutrition*. Bindels JG, Goedhart AC, Visser HKA, eds. Dordrecht, the Netherlands. *Kluwer Academic Publishers*, 1996, 349-376.
7. Kelsall B, Strober W.— Gut-associated Lymphoid Tissue. Antigen Handling and T-Lymphocyte Responses. In : *Mucosal Immunology*. Eds : Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR. 2nd Ed. Academic press, 1999, New-York.

8. Cummings JH, Antoine JM, Azpiroz F, et al.— Gut health and immunity. *Eur J Nutr*, 2004, **43**, 118-173.
9. Kaparakis M, Philpott DJ, Ferrero RL.— Mammalian NLR proteins; discriminating foe from friend. *Immunol Cell Biol*, 2007, **85**, 495-502.
10. Alpan O, Rudomen G, Matzinger P.— The role of dendritic cells, B cells, and M cells in gut-oriented immune responses. *J Immunol*, 2001, **166**, 4843-4852.
11. Iwasaki A, Kelsall L.— Unique functions of CD11b+, CD8alpha, and double-negative Peyer's patch dendritic cells. *J Immunol*, 2000, **166**, 884-890.
12. Iwasaki A, Kelsall BL.— Localization of distinct Peyer's patch dendritic cell subsets and their recruitment by chemokines macrophages inflammatory protein (MIP)-3alpha, MIP-3beta and secondary lymphoid organ chemokine. *J Exp Med*, 2000, **11**, 1381-1394.
13. Williamson E, Bilsborough JM, Viney JL.— Regulation of mucosal dendritic cell function by receptor activator of NF-kb (RANK)/Rank ligand interactions. Impact on tolerance induction. *J Immunol*, 2002, **169**, 3606-3612.
14. Dabbagh K, Lewis DB.— Toll-like receptors and T-helper-1/T-helper-2 responses *Curr Opin Infect Dis* 2003; **16**:199-204. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, 2000, **406**, 782-787.
15. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al.— A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 2000, **408**, 740-745.
16. Stagg AJ, Hart AL, Knight SC, et al.— Interactions between dendritic cells and bacteria in the regulation of intestinal immunity. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2004, **18**, 255-270.
17. Caramalho I, Lopez-Carvalho T, Ostler D, et al.— Regulatory T Cells selectively express Toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med*, 2003, **197**, 403-411.
18. Singh B, Read S, Asseman C, et al.— Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. *Immunol Rev*, 2001, **182**, 190-200.
19. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, et al.— Recognition of commensal microflora by Toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*, 2004, **118**, 229-241.
20. Lang T, Mansell Ashley.— The negative regulation of Toll-like receptor and associated pathways. *Immunol Cell Biol*, 2007, **85**, 425-434.
21. Dai J, Liu B, Ngoi SM, Vella AT, Li Z.— TLR4 hyper-responsiveness via cell surface expression of heat shock protein gp96 potentiates suppressive function of regulatory T cells. *J Immunol*, 2007, **178**, 3219-3225.
22. Levy O.— Innate immunity of the newborn : basic mechanisms and clinical correlates. *Nature*, 2007, **7**, 379-390.
23. Newburg D, Walker A.— Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and o human milk. *Pediatr Res*, 2007, **61**, 2-8.
24. Field C.— The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr*, 2005, **135**, 1-4.
25. Verhasselt V, Milcent V, Cazareth J, et al.— Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. *Nature Med*, 2008, **14**, 170-175.
26. Ando T, Hatsushita K, Wako M, et al.— Orally administered TGF-β is biologically active in the intestinal mucosa and enhances oral tolerance. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, **120**, 916-923.
27. Friedman A.— Induction of anergy in Th1 lymphocytes by oral tolerance. Importance of antigen dosage and frequency of feeding. *Ann N Y Acad Sci*, 1996, **778**, 103-110.
28. Van Odijk J, Kull I, Borres MP, et al.— Breastfeeding and allergic disease : a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy*, 2003, **58**, 833-843.
29. ESPGHAN Committee on Nutrition.— Complementary feeding : a commentary by the ESPGHAN Committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2008, **46**, 99-110.
30. Chouraqui J-P, Dupont C, Bocquet A, et al.— Alimentation des premiers mois de vie et prévention de l'allergie. *Arch Pédiatr*, 2008, **15**, 431-442.
31. Greer FR, Sicherer SH, Burks AW, et al.— Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children : the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods and hydrolyzed formulas. *Pediatrics*, 2008, **121**, 183-191.
32. Snijders BEP, Thijs C, van Ree R, et al.— Age at first introduction of cow milks and other food products in relation to infant atopic manifestations in the first 2 years of life : the KOALA birth cohort study. *Pediatrics*, 2008, **122**, 115-122.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr J. Langhendries, Service de Néonatalogie, CHC Saint Vincent, 4000 Liège-Rocourt, Belgique.