

Entre pollen et aliment : à la croisée des sensibilisations allergiques

Pascal PONCET

INSTITUT PASTEUR

*Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Laboratoire de Biochimie
Equipe Allergie & Environnement*

Paris, FRANCE



25 - 30 % de personnes allergiques

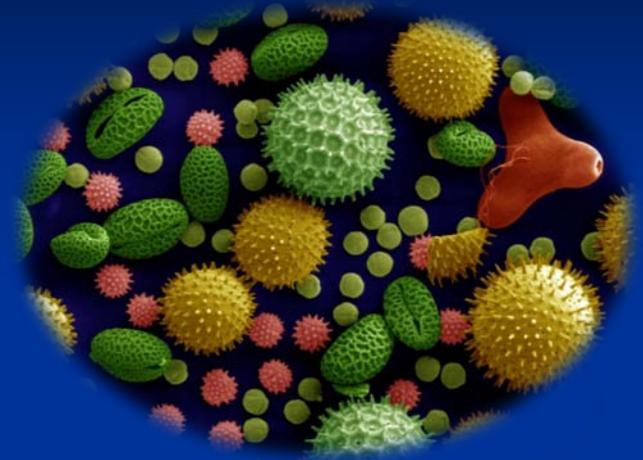


ACARIENS

POLLEN

ALIMENTS
Moisissures
Médicaments
Venin

ANIMAUX



Multi-sensibilisation/co-sensibilisation

Test cutané

Dosage biologique



1. Résumé des résultats des dosages d'IgE spécifiques positifs

Composants alimentaires principalement spécifiques d'espèces

Arachide	Ara h 1	Prot. de stockage, globuline 7S	0,8 ISU-E	
Soja	Gly m 5	Prot. de stockage, Bêta-conglycinine	0,4 ISU-E	

Composants aéroallergènes principalement spécifiques d'espèces

Pollen de graminées

Chiendent digité	Cyn d 1	Graminées, groupe 1	3,7 ISU-E	
Phléole	Phl p 1	Graminées, groupe 1	49 ISU-E	
	Phl p 2	Graminées, groupe 2	2,8 ISU-E	
	Phl p 4	Réticuline oxydase	2 ISU-E	

Pollen d'arbres

Cèdre du Japon	Cry j 1	Pectate lyase	0,8 ISU-E	
Cyprès	Cup a 1	Pectate lyase	1,7 ISU-E	
Pollen d'olivier	Ole e 1	Oléacées, groupe 1	36 ISU-E	
Platane	Pla a 2	Polygalacturonase	1,7 ISU-E	

Animaux

Chien	Can f 5	Arginine-estérase	0,4 ISU-E	
Chat	Fel d 1	Utéroglobine	11 ISU-E	

Acarie

D. farinae	Der f 1	Cystéine protéase	23 ISU-E	
D. pteronyssinus	Der p 1	Cystéine protéase	45 ISU-E	

Mécanisme de l'allergie



- 1^{ère} phase: **SENSIBILISATION**

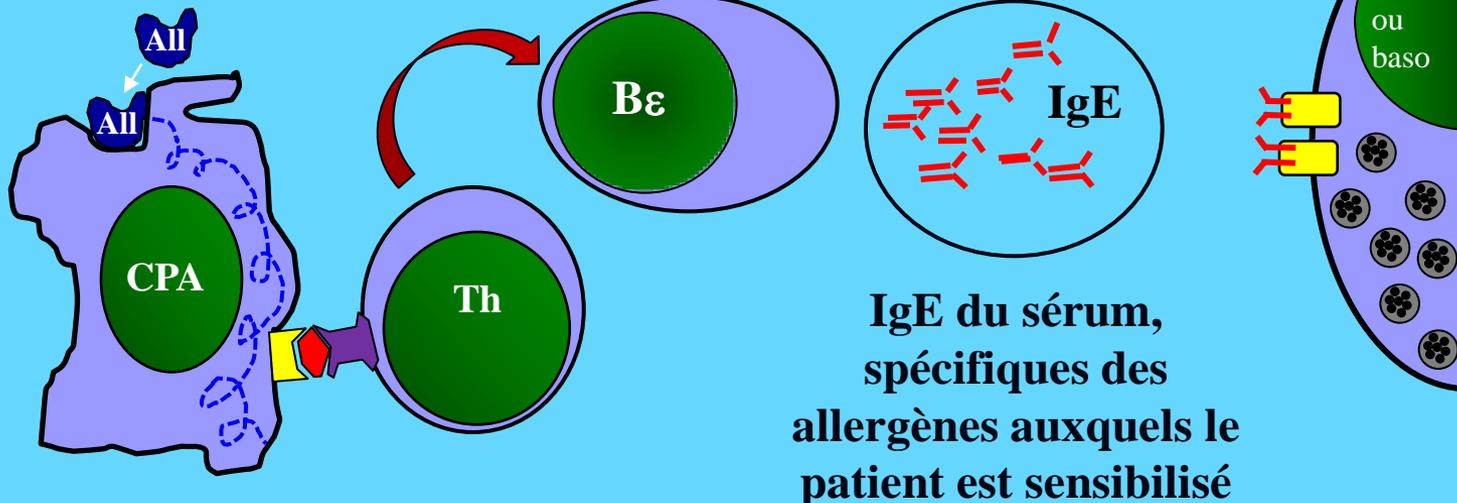
l'allergène induit une réponse immunitaire

→ Production d'anticorps IgE

→ fixation des IgE sur les mastocytes et basophiles

**1er contact avec
l'allergène**

Sensibilisation



Mécanisme de l'allergie

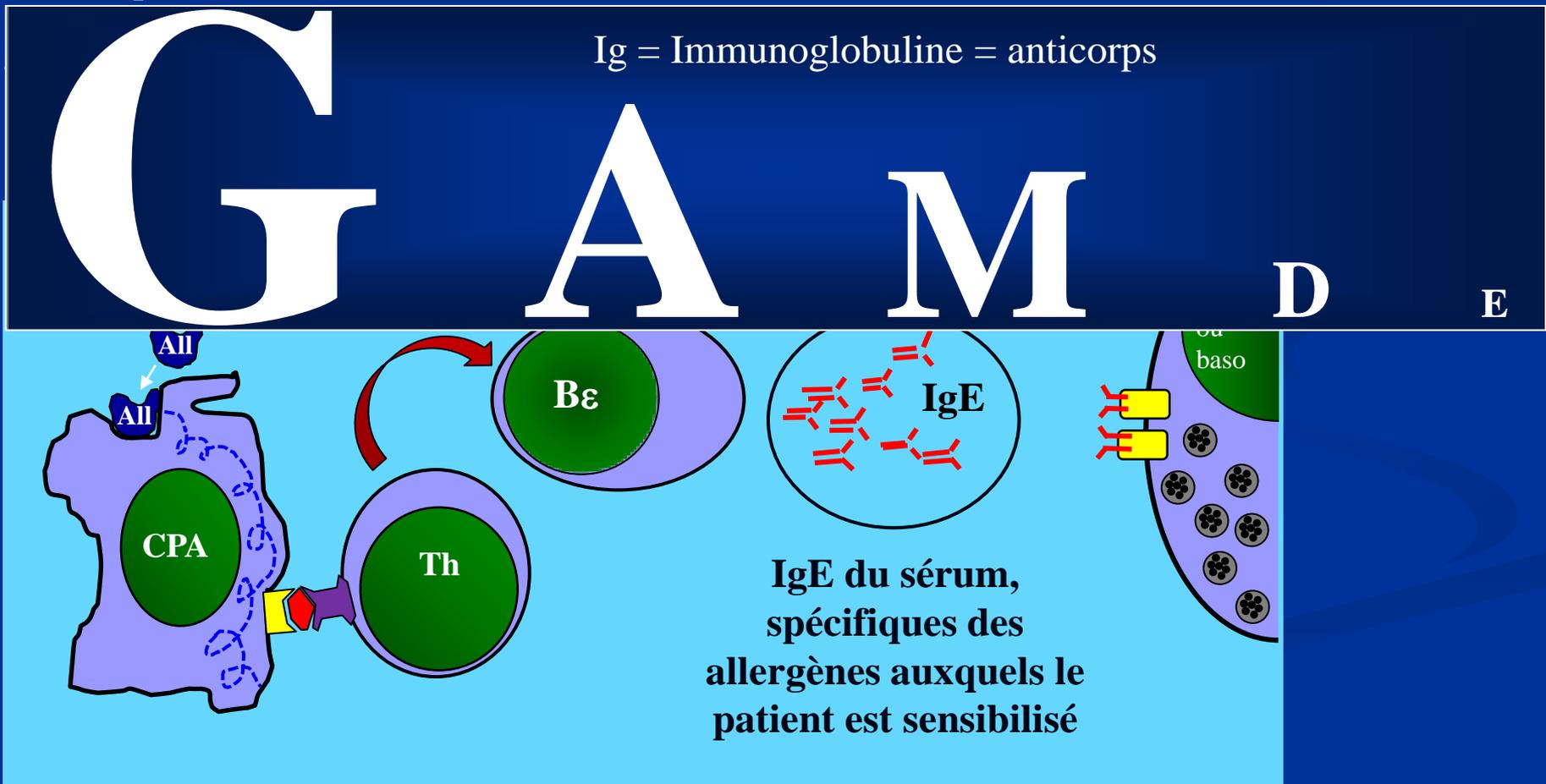


- 1^{ère} phase: **SENSIBILISATION**

l'allergène induit une réponse immunitaire

→ Production d'anticorps IgE

→ fixation des IgE sur les mastocytes et basophiles



Mécanisme de l'allergie



- 1^{ère} phase: **SENSIBILISATION**
l'allergène induit une réponse immunitaire
→ Production d'anticorps IgE
→ fixation des IgE sur les mastocytes et basophiles
- 2^e phase: **SYMPTOMES**
→ dégranulation

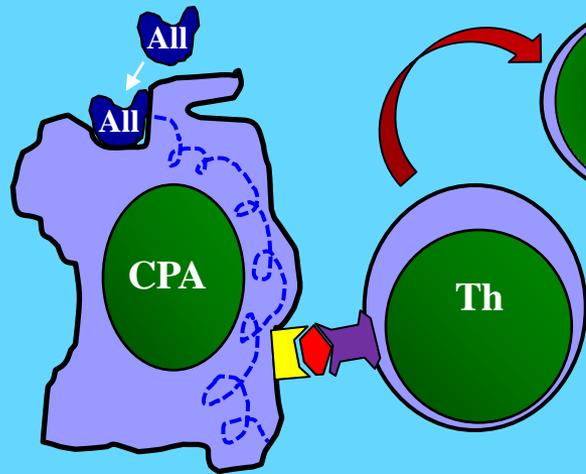
Oedèmes
Vasodilatation
Démangeaisons
Eczéma, urticaire
Bronchoconstriction
Choc anaphylactique

Symptômes cliniques

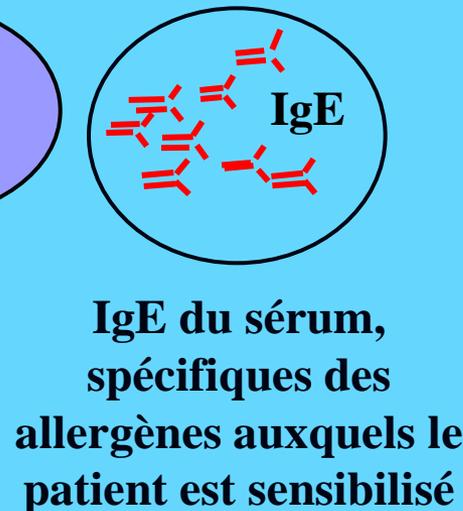
↑

dégranulation

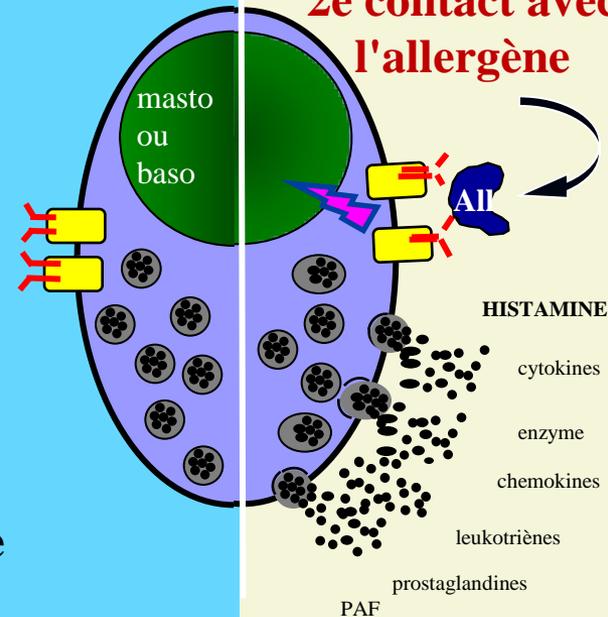
1er contact avec l'allergène



Sensibilisation



2e contact avec l'allergène



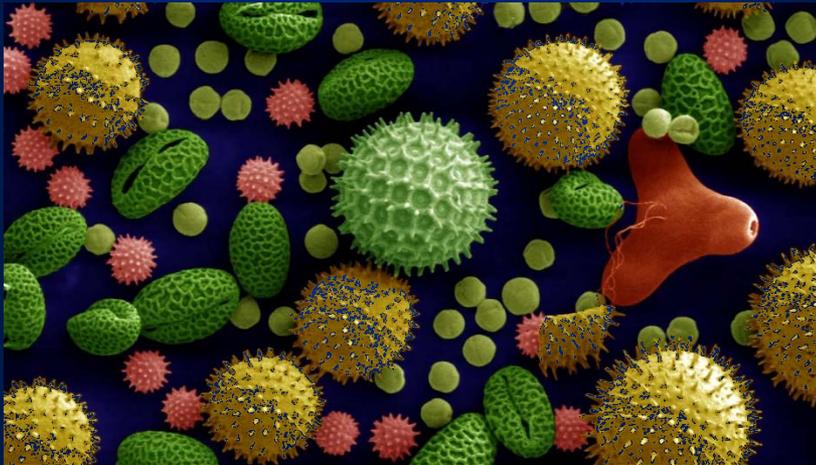
Co-sensibilisation préférentielle

Observations cliniques chiffrées et étayées par des **tests biologiques**

→ **Syndromes associés** entre deux sources allergéniques



INHALEE: les grains de pollen



INGEREE: les aliments



Les allergies associées... ou croisées

Werfel et al., 2015, Allergy

Communément rencontrées

Pollen d'arbre

Pomme, cerise, nectarine, pêche, noisettes, carotte, céleri, soja, arachide, pomme de terre, kiwi, jacquier, kaki

Moins communément rencontrées

Pollen d'armoise

Epices, carotte, céleri, mangue, graines de tournesol, raisin, pêche

Non clairement démontrées

Pollen de graminées

Farine de céréales, son (céréales), tomate, légumes

Pollen d'armoise et d'ambrosie

Melon, aubergine, concombre, banane

Allergies croisées pollen - aliments

- Allergie aux pollen: 20 à 30%
- Allergie alimentaire: - enfants 5 à 8%
(dermatite atopique à <1an: 1980: 5% 2008: 20%)
 - adultes: 1 à 3%

60% des allergies alimentaires (adolescents et adultes) sont associés à des allergies au pollen

SYMPTOMES des allergies croisées pollen - aliment

- syndrome oral (prurit bucco-pharyngé, œdème labial)
- liés aux allergies respiratoires (conjonctivite, rhinite, asthme)
- œdème de Quincke
- urticaire
- gastro-intestinaux (nausées, crampes, vomissements, diarrhées)
- choc anaphylactique

Classification des allergènes

- Selon la voie d'entrée

- inhalation → aéroallergènes
- ingestion → trophallergènes
- piqûres, morsures
- contact

- Selon la source

- végétaux (pollen, latex, ...)
- moisissures
- animaux (phanères, venins, acariens, ...)
- médicaments
- aliments

- Selon la famille de protéine

Classification des allergènes

- Selon la voie d'entrée

- inhalation → aéroallergènes
- ingestion → trophallergènes
- piqûres, morsures
- contact

- Selon la source

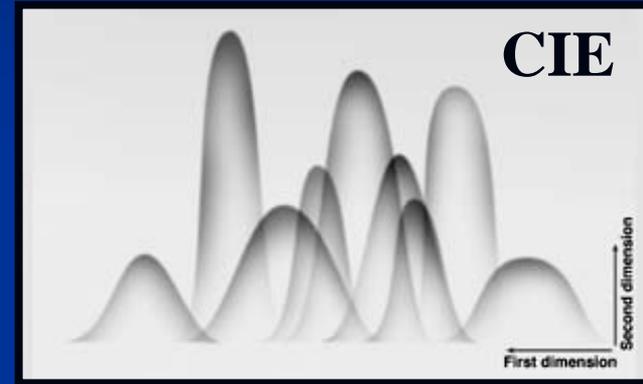
- végétaux (pollen, latex, ...)
- moisissures
- animaux (phanères, venins, acariens, ...)
- médicaments
- aliments

- Selon la famille de protéine

Progrès dans les techniques de purification et d'analyse biochimiques et immunochimiques

- Chromatographies en colonne, sur papier, hydrolyses enzymatiques, par la chaleur,...

- Années 70 : techniques électrophorétiques



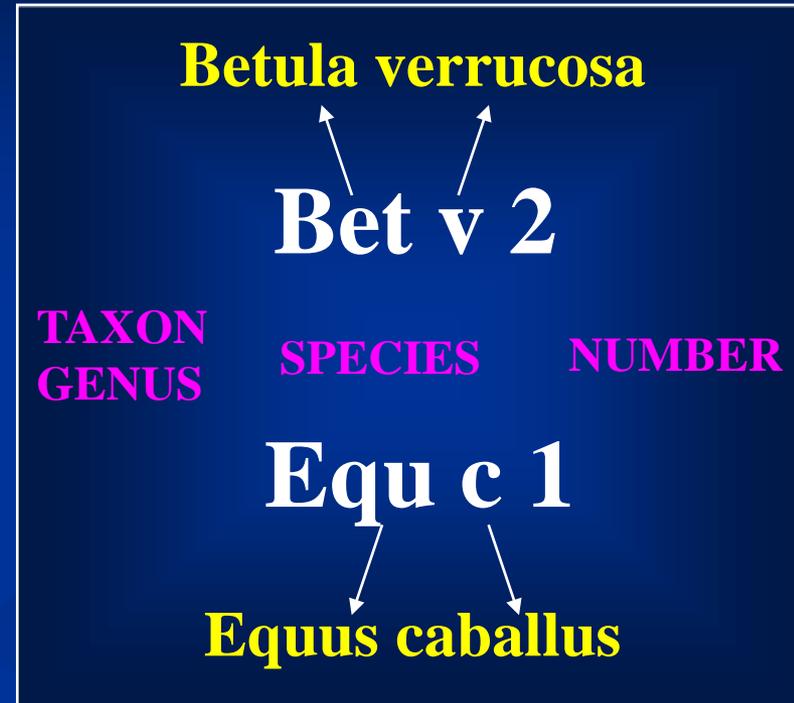
⇒ les sources allergéniques sont qualitativement riches en protéines

- Années 80 : immunoempreintes appliquées à l'analyse des allergènes

⇒ les sources allergéniques sont riches en allergènes et en protéines non-allergènes

Caractérisation des allergènes moléculaires

- Caractérisation physico-chimique
 - Pi, Mr, structure tridimensionnelle, ...
- Purification
- Séquençage amino-acide
- Production d'anticorps monoclonaux
- Caractérisation des épitopes (B et T)
- Séquençage nucléotidique
- Clonage
- Production d'allergènes recombinants



<http://www.allergome.org> : (juin 2019)

- **3695** sources allergéniques
- **3182** allergènes décrits
 - 918 caractérisés et agréés par l'IUIS (<http://www.allergen.org>)
- **1602** allergènes produits sous forme recombinante



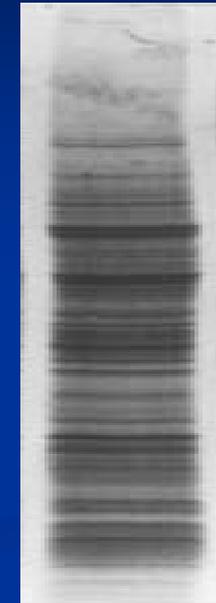
Poussière de maison



acariens

1964

Voorhost, Spieksma,
Spieksma-Boezman
(Netherland)



*Protéines
d'acarien*

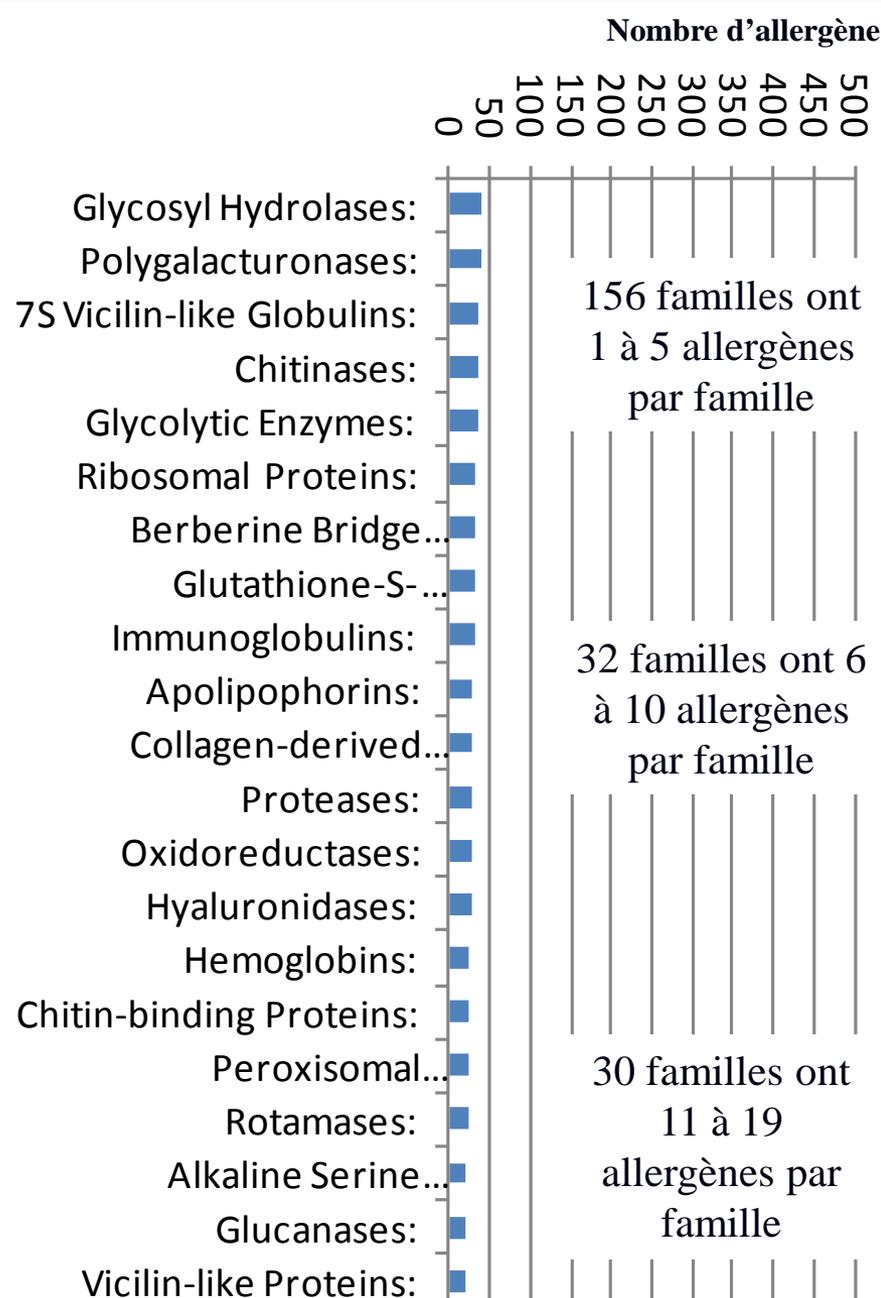
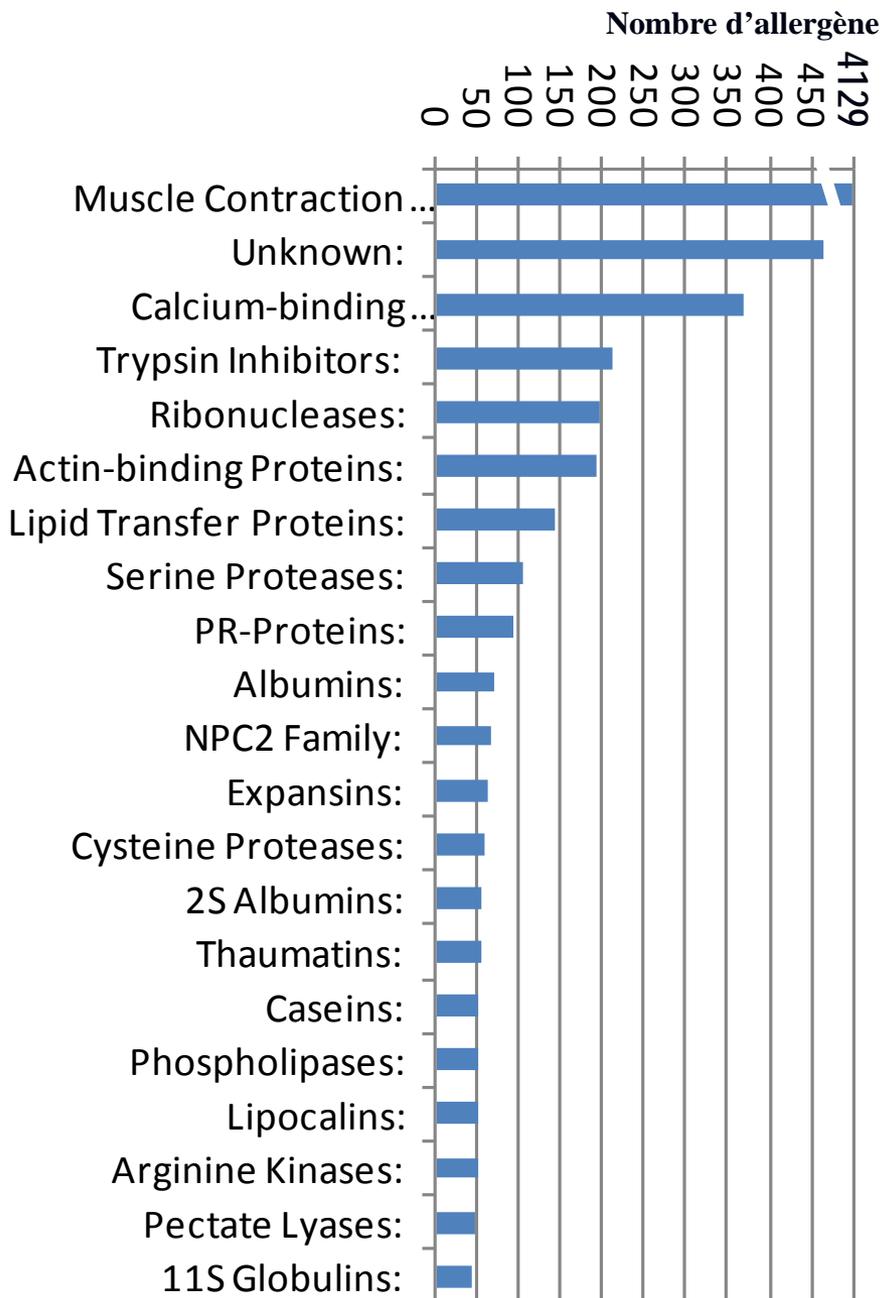


+ anticorps
IgE



*Allergènes
d'acariens*

Quelques familles d'allergènes



Syndromes et allergènes impliqués

Popescu, 2015, World J Methodol; Pauli and Metz-Favre, 2013, Rev Mal Respir

Les syndromes

Allergènes de pollen impliqués

Bouleau-pomme

PR10 (Bet v 1)

Bouleau-céleri

PR10 (Bet v 1), profiline (Bet v 2)

Chenopode-melon

Profiline (Che a 2)

Graminées-fruits

Profiline (Phl p 12)

Composées-fruits exotiques

Profiline

Armoise-céleri-épices

Profiline (Art v 4), Art v 60 kDa homologue de Api g 5

Armoise-pêche

Profiline (Art v 4), LTP (Art v 3)

Armoise-camomille

Défensine (Art v 1)

Armoise-moutarde

LTP (Art v 3), profiline (Art v 4), Art v 60 kDa

Ambroisie-melon-banane

LTP (Amb a 6), profiline (Amb a 8)

Platane-fruits

LTP (Pla a 3)

Cyprès-pêche

??

Syndrome bouleau-pomme

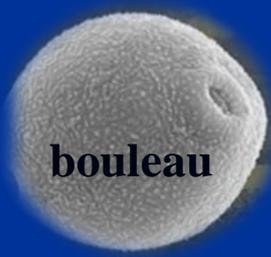
80% des bouleau + ont des symptômes avec les pommes)

pomme	cerise	poire	pêche	abricot	céleri	carotte	soja	noisette	arachide	kiwi	Haricot mungo
											
Mal d 1	Pru av 1	Pyr c 1	Pru p 1	Pru ar 1	Api g 1	Dau c 1	Gly m 4	Cor a 1	Ara h 8	Act d 8	Vig r 1

Syndrome pomme-bouleau

PR10

Bet v 1



bouleau

Syndrome bouleau-pomme

(80% des bouleau + ont des symptômes avec les pommes)

pomme	cerise	poire	pêche	abricot	céleri	carotte	H. mungo	noisette	arachide	kiwi	Haricot mungo
											
Mal d 1	Pru av 1	Pyr c 1	Pru p 1	Pru ar 1	Api g 1	Dau c 1	Gly m 4	Cor a 1	Ara h 8	Act d 8	Vig r 1

Syndrome pomme-bouleau

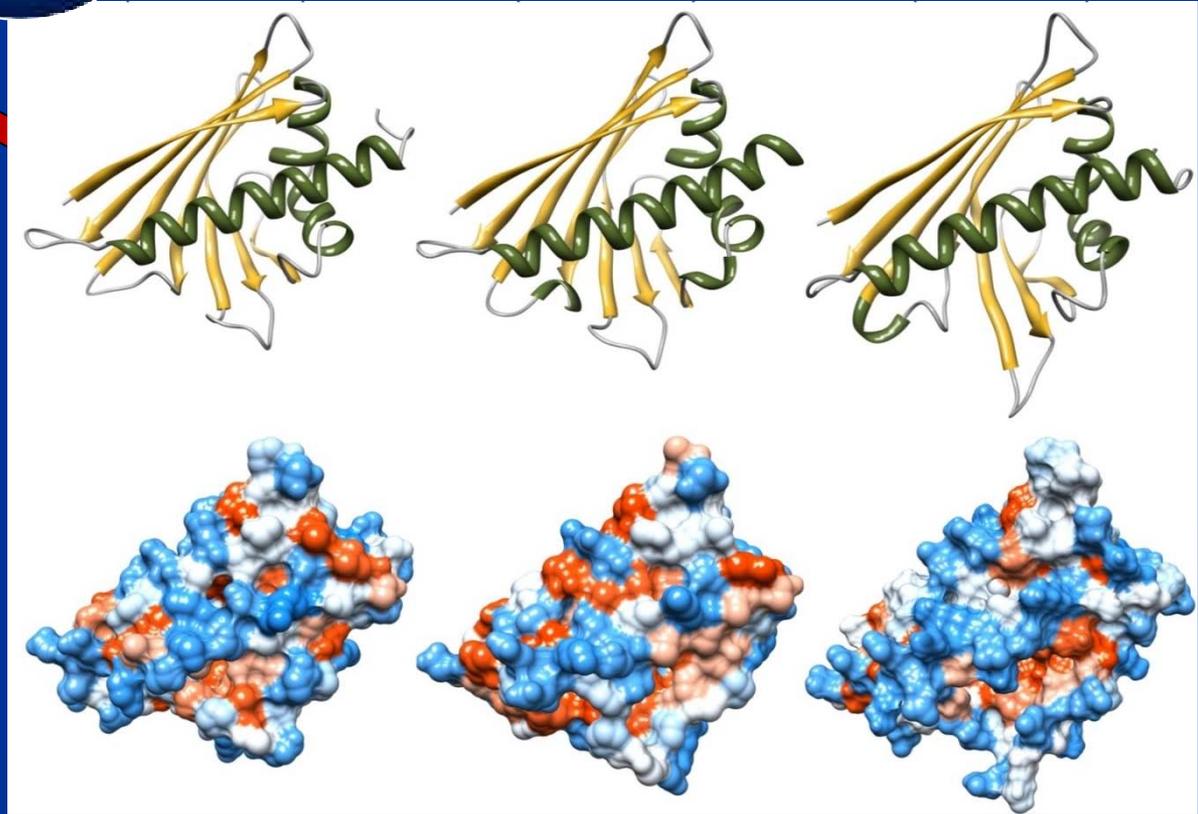
PR10

Bet v 1

Api g 1

Pru av 1

-  Hélices α
-  Feuillet β
-  "Loops" et "turns"
-  Résidus hydrophiles
-  Résidus hydrophobes



Hauser *et al.* Allergy, Asthma & Clinical Immunology 2010 6:1

Famille des PR10

Pathogenesis related protein 10

- Bet v 1 = allergène majeur du pollen de bouleau
- Mr: 16,6 à 17,5 kDa; pI: 4,4 (Gly m 4 Soja) à 6,1 (Cor a 1 noisette)
- Protéine de défense végétale
- Rôle dans le transport de stéroïde
- Son ligand naturel serait la **quercetine-3-O-sophoroside**, un flavonoïde considéré comme un puissant anti oxydant (préconisé dans le traitement des rhinites allergiques ...???) → peu d'influence sur l'allergénicité de Bet v 1 (*Seutter von Loetzen et al. 2014, Biochem J et 2015, PLoS One*)
- Elle peut aussi interagir avec **le fer** *Roth-Walter et al., 2014, J Biol Chem.*
- Détruite par les sucs gastriques et la chaleur
- En général **symptômes = syndrome oral**
- Identité de séquence avec d'autres PR10: 38% (Dau c 1 carotte) à 67% (Cor a 1 noisette)

Syndrome pollen-aliment

pomme	cerise	poire	pêche	abricot	céleri	carotte	soja	noisette	arachide	kiwi	Haricot mungo
											
Mal d 1	Pru av 1	Pyr c 1	Pru p 1	Pru ar 1	Api g 1	Dau c 1	Gly m 4	Cor a 1	Ara h 8	Act d 8	Vig r 1

PR10 Bet v 1

bouleau

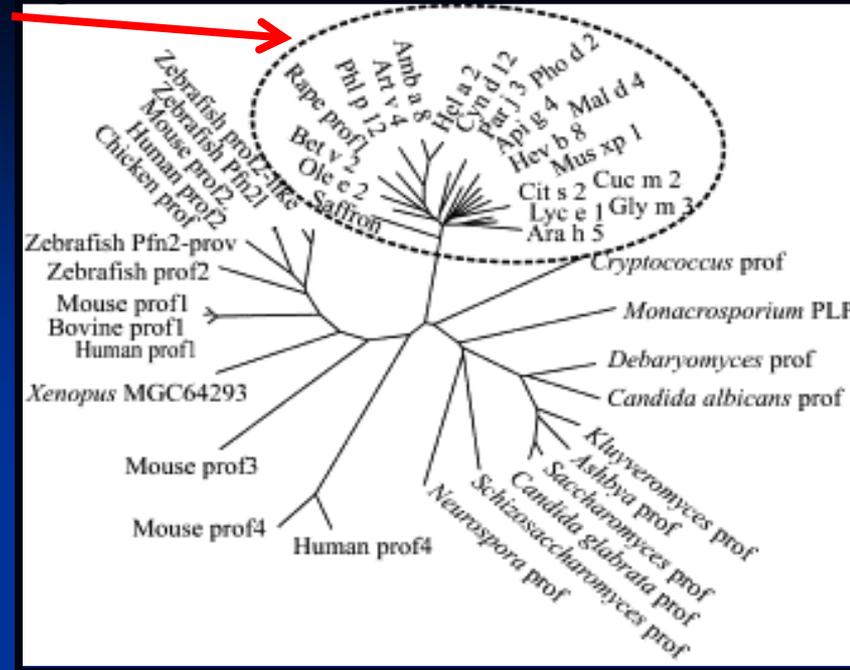
Bet v 2
profiline

Pru av 4	Gly m 3	Cor a 2	Ara h 5	Lit c 1	Lyc e 1	Mal d 4	Pyr c 4	Cap a 2	Ana c 1	Pru p 4	Api g 4
											
cerise	soja	noisette	arachide	litchi	tomate	pomme	poire	piment	ananas	pêche	céleri

>60% homologie

Profiline

- Ubiquitaire, faible diversité au sein d'un même règne
- Mr: 14 kDa ; pI: 4,5
- Protéine de liaison à l'**actine**
- Rôle au niveau du cytosquelette
- Sensibilise **5 à 7%** des gens en Scandinavie et **20 à 38%** des gens en Europe centrale et du sud
- Détruite généralement par les sucs gastriques et la chaleur (exception? Céleri...)
- En général **symptômes = syndrome oral** mais pas systématique avec une sensibilisation avérée, description aussi de symptômes systémiques plus graves



Radauer et al., JACI, 2006, 117: 141

Syndrome pollen-aliment

pomme	cerise	poire	pêche	abricot	céleri	carotte	soja	noisette	arachide	kiwi	Haricot mungo
											
Mal d 1	Pru av 1	Pyr c 1	Pru p 1	Pru ar 1	Api g 1	Dau c 1	Gly m 4	Cor a 1	Ara h 8	Act d 8	Vig r 1

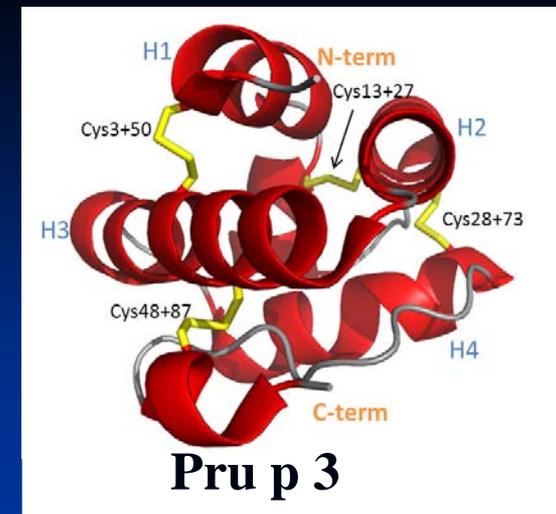
MAIS AUSSI...

- Iso flavone réductase (Bet v 6,...)
- 1,3- β glucanase (Ole e 9, ...)
- thaumatin-like protein (Cup s 3, ...)
- *Carbohydrate Cross-reactive Determinant*
- LTP
- Oléosines (?)
- ...

Pru av 4	Gly m 3	Cor a 2	Ara h 5	Lit c 1	Lyc e 1	Mal d 4	Pyr c 4	Cap a 2	Ana c 1	Pru p 4	Api g 4
											
cerise	soja	noisette	arachide	litchi	tomate	pomme	poire	piment	ananas	pêche	céleri

Lipid Transfer Protein (LTP)

- Famille de protéine de défense PR14
- Sensibilisation préférentielle **pays méditerranéen**
- Symptomatologie sévère
- **Résistante** à la digestion et à la chaleur
- Mr : 7 à 14 kDa; pI: 8,5 à 10
- Plutôt localisée dans la **peau** des fruits. Prototype : **Pru p 3** (pêche) et **Mal d 3** (pomme)
- Allergéniques dans le pollen d'arbres et d'herbacées (pas de graminées)
- **Par j 1** et **Par j 2** sont les allergènes majeurs du pollen de **pariétaire** mais ne semblent pas impliqués dans des réactions croisées





L'allergie au pollen de Cupressacées dans le monde



Juniperus ashei



Hesperocyparis arizonica



Cupressus sempervirens



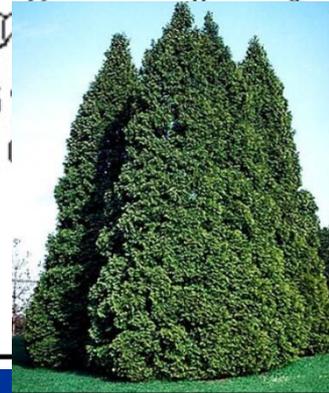
Juniperus oxycedrus



Cryptomeria japonica



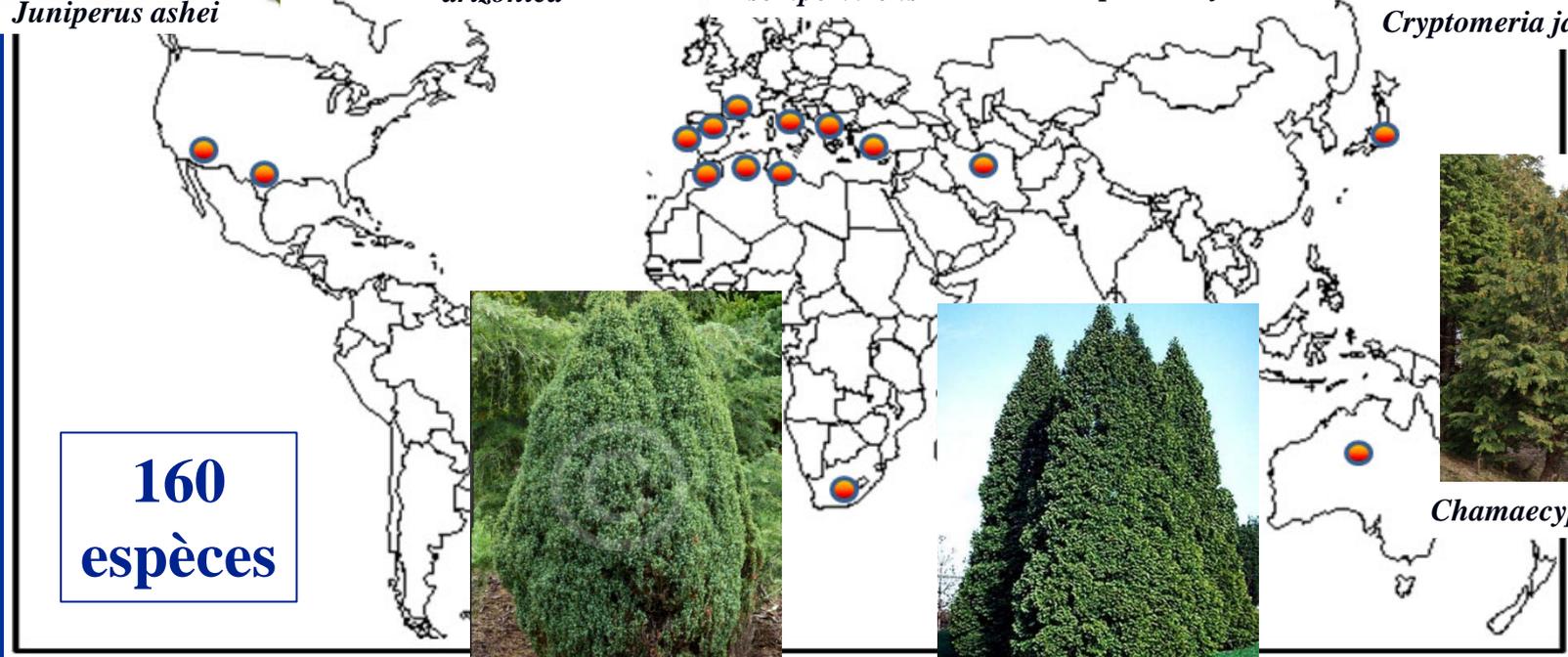
Chamaecyparis obtusa



Thuja occidentalis



Juniperus communis



160
espèces

L'allergie au pollen de Cupressacées dans le monde



Juniperus ashei



Hesperocyparis arizonica



Cupressus sempervirens



Juniperus oxycedrus



Cryptomeria japonica



Chamaecyparis obtusa



Juniperus communis



Thuja occidentalis



160
espèces

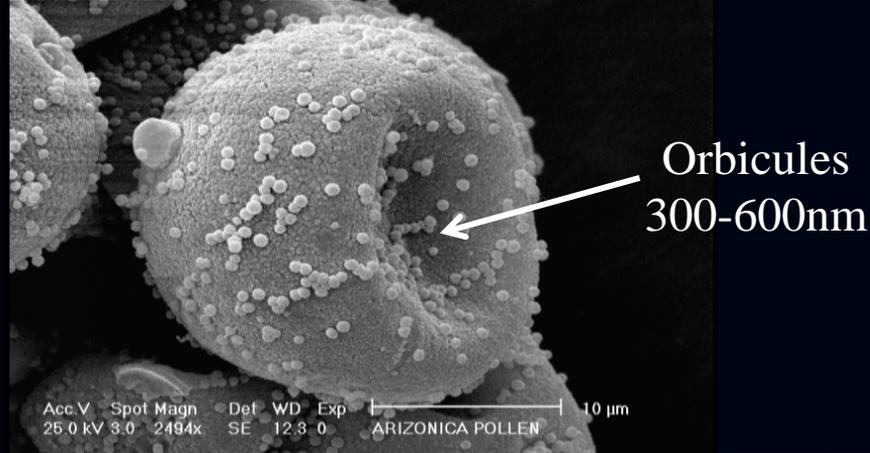
Famille botanique: Cupressacées

Pollinisation anémophile



pollen de Cyprès

20 - 30 μm



Orbicules
300-600nm

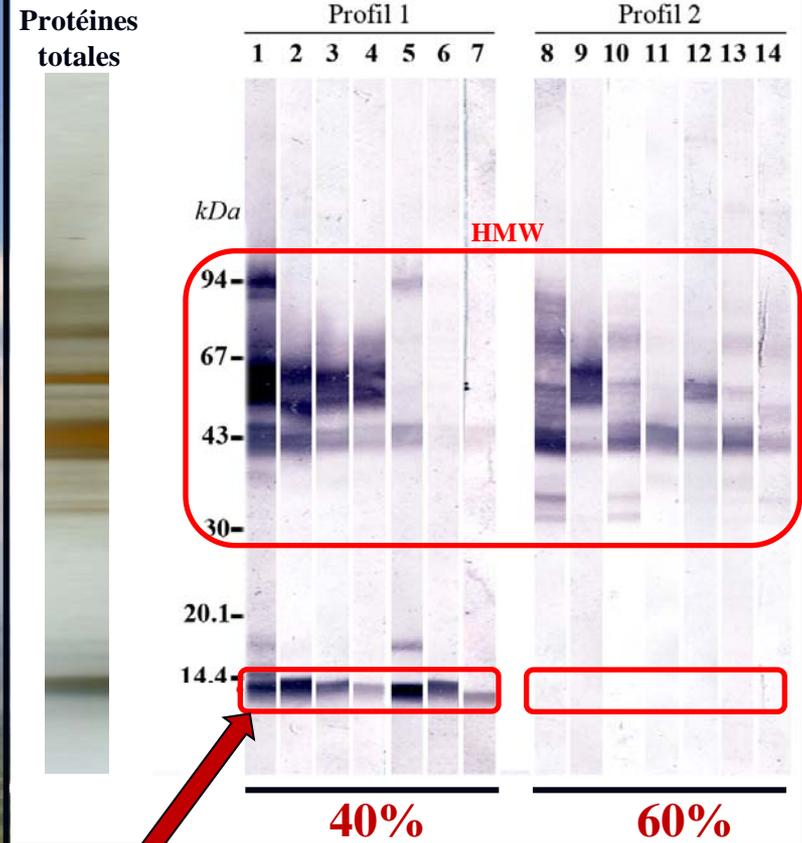
- saison pollinique hivernale
- >40% du spectre pollinique
- Pollinose affectant
 - 9 à 65% de la population
- Prévalence grandissante
- symptômes sévères

Allergènes

- Groupe 1 : pectate lyase (40-45 kDa)
- Groupe 2 : polygalacturonase (37-56 kDa)
- Groupe 3 : thaumatin like (23-34 kDa)
- Groupe 4 : Ca binding protein (17-24 kDa)

Extrait pollen de cyprès

(Ex: immunoempreintes 14 sérums)



BP14

Shahali et al.

WAO J (2010)

J Proteomics (2012)

FEBS (2012)

AAAI (2013)

Electrophoresis (2012)

Folia Biologica (2014)

BP14 est de la famille des *Snakin/Gibberellin-regulated protein*

Analyse par spectrométrie de masse

Accession	PROTEIN						PEPTIDE		
	Function	Species	MW [kDa]	pI	#Peptides	SC [%]	Sequence	Range	Score
P86888	Peamaclein	<i>Prunus persica</i>	6.9	8.6	2	17.5	K.YCGICCEK.C R.CLKYCGICCEK.C	25 - 32 22 - 32	27.2 21.2
A0A061FCF7	Gibberellin-regulated prot	<i>Theobroma cacao</i>	11.4	10.1	1	9.3	R.CLKYCGICCK.K	47 - 56	27.1

Prunus persica



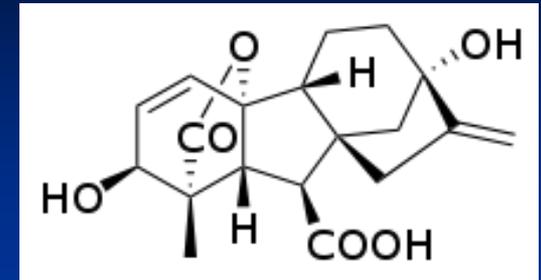
Péamacléine

allergène Pru p 7
de la pêche

La famille des snakin/ GRP

Gibbérellines :

famille d'hormone diterpénique tétracyclique présente dans toutes les plantes



Rôle:

- Maturation de la plante, de la graine, du fruit et du pollen (utilisée en agro-alimentaire)
- Mécanismes de défense contre le stress abiotique (sécheresse, température, salinité,...)
- ... et biotique (bactéries, virus, champignons, ...)
- Equilibre redox

Propriétés des GRP:

- Petites protéines (63 amino-acides) cationiques à activité anti-microbienne
- 12 cystéines, 6 ponts disulfures
- Résistantes à la trypsine et à la chaleur
- 4 allergènes décrits dans les fruits

Pisoschi et al. Eur J Med Chem, 2018.
Nahirnak et al. Plant Signal Behav 2012.
Tanaka et al. Mol Genet Genomics, 2004.
Kuddus et al. 2016, Protein Expr. Purif

Les allergènes de la famille des GRP

(« gibberellin regulated protein »)

Au niveau bio et immunochimique



Pêche (*Prunus persica*)

Péamacléine, Pru p 7

Tuppo et al. 2013, Clin Exp Allergy;

2014, Biopolymers;

Inomata et al. 2014, Ann Allergy Asthma

Immunol. 2016, 2017, J Dermat



Orange (*Citrus sinensis*)

Cit s 7

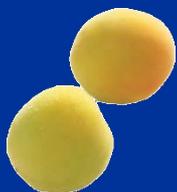
Inomata et al. 2018, Clin Exp Allergy



Grenade (*Punica granatum*)

Pommacléine, Pun g 7

Tuppo et al. 2017, J Agric Food Chem



Abricot japonais (*Prunus mume*)

Umeboshi

Pru m 7

Inomata et al. 2017, Immun Inflamm Dis



Les allergènes de la famille des GRP

(« gibberellin regulated protein »)

Au niveau bio et immunochimique



Pêche (*Prunus persica*)
Péamacléine, Pru p 7



Orange (*Citrus sinensis*)
Cit s 7



Grenade (*Punica granatum*)
Pommacléine, Pun g 7



Abricot japonais (*Prunus mume*)
Umeboshi
Pru m 7

Au niveau clinique

Syndrome pollen de cyprès/pêche

- Hugues et al. (2006) *Allergy*
- Delimi et al. (2007) *Rev Fr Allergol Clin Immunol*
- Caimmi et al. (2013) *Allergy*

Syndrome pollen de cyprès/agrumes

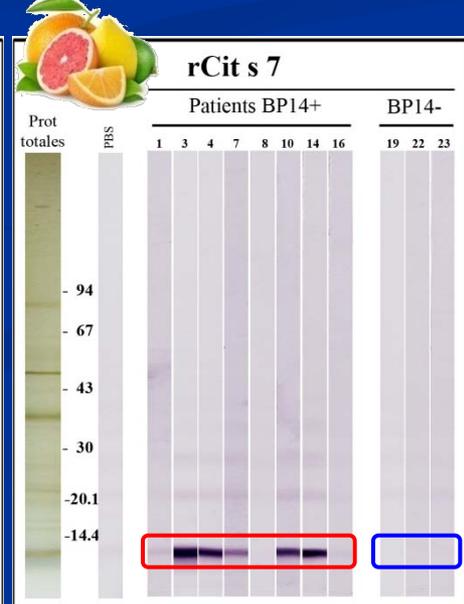
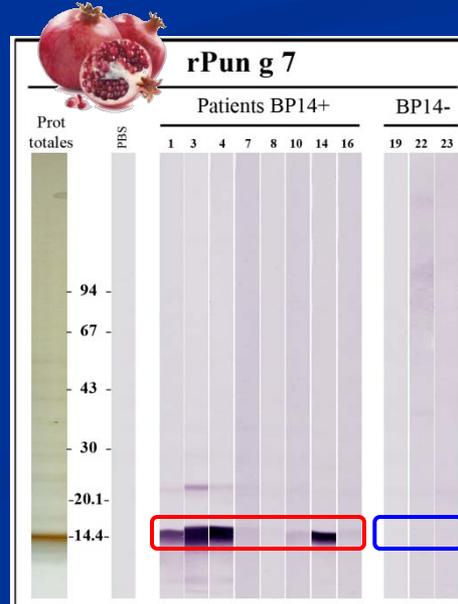
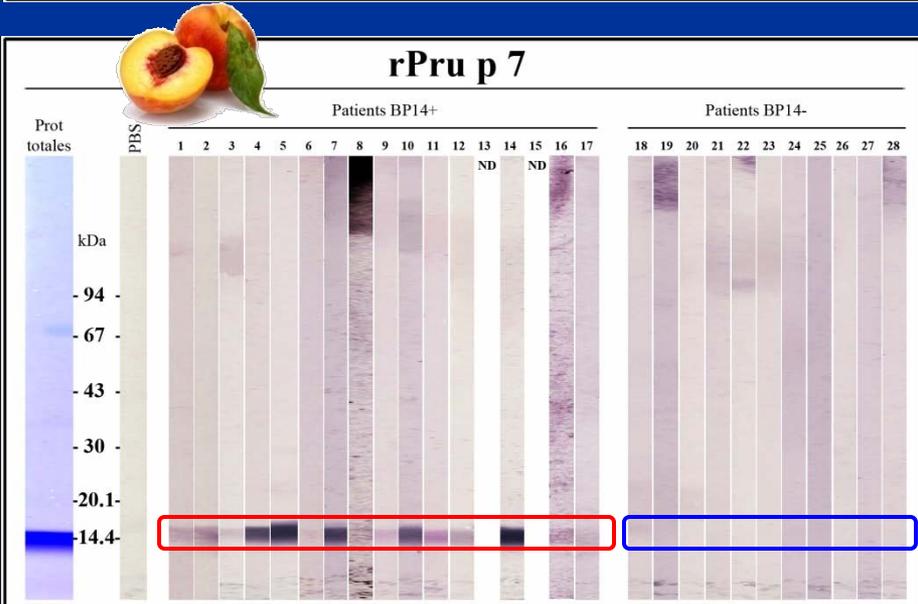
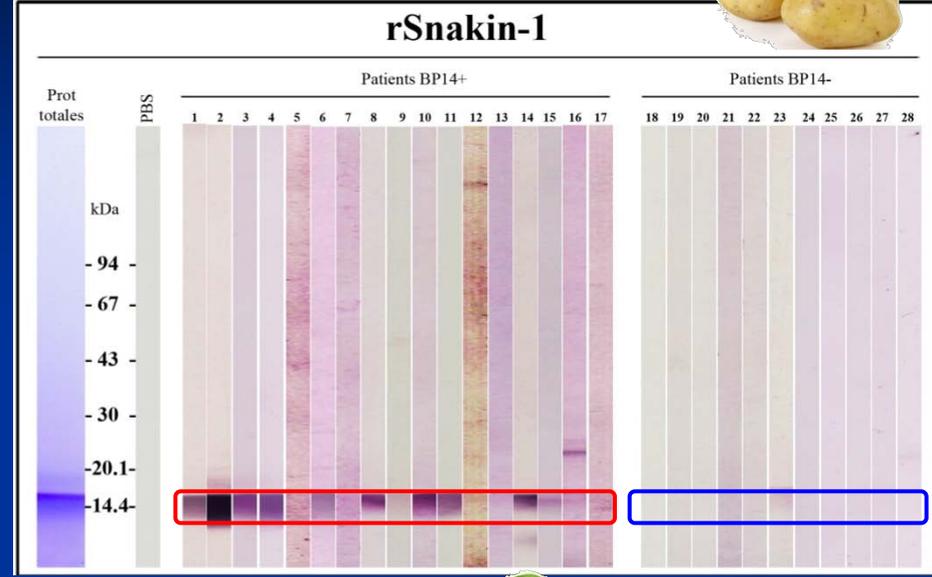
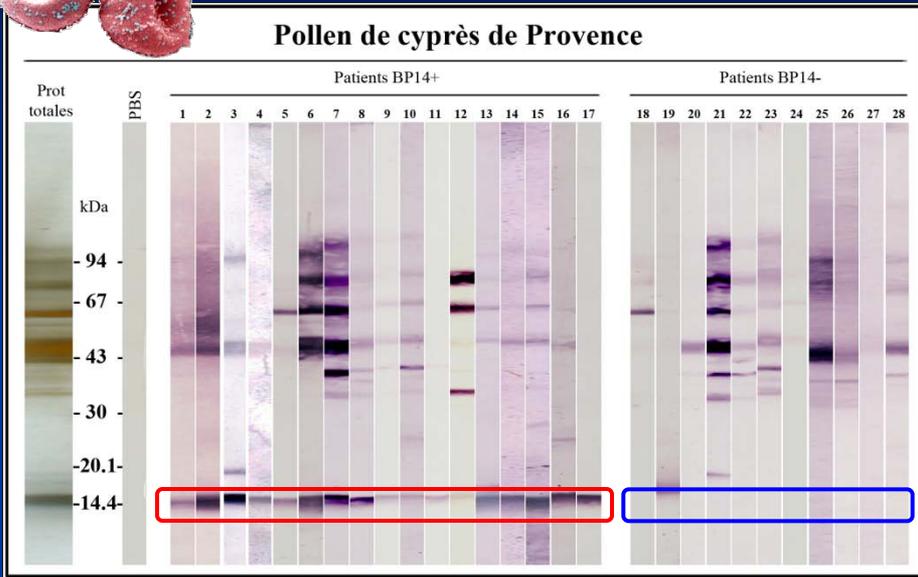
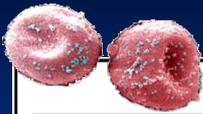
- Martinez et al. (2015) *Rev Fr Allergol*
- Martinez et al. (2015) *CFA, EAACI*

QUESTION

Les GRP de pollen de cyprès et de fruits croisent elles entre elles?

Ce qui expliquerait les syndromes cliniquement décrits

Immunoréactivité IgE comparatives de 28 sérums de patients allergiques au pollen de cyprès



CONCLUSIONS

- Les allergies associées ou croisées pollen/aliments sont le résultat de **croisements immunologiques** c'est-à-dire la reconnaissance par des anticorps IgE d'allergènes provenant de sources allergéniques **différentes** mais aux structures moléculaires **semblables**.
- La classification par famille de protéines, permet de distinguer 7 familles d'allergènes (voire 9) impliquées dans les réactions croisées pollen/aliments définissant **des syndromes**.
- Les **PR10**, les **profilines**, les **1,3-β glucanases**, les **iso-flavone réductases**, les protéines **thaumatin-like**, les **LTP**, les résidus oligosacharidiques des glycoprotéines (**CCD**) et à approfondir, les **oléosines** et les protéines **gibberellin-regulated** qui correspondent donc à une nouvelle famille d'allergènes.
- Les cliniciens observent que ces syndromes croisés pollen/aliment sont de plus en plus fréquents aussi bien chez **l'adulte**, se déclarant tardivement, que précocement, chez **l'enfant**. Les causes sont à rechercher au niveau des **habitudes alimentaires**, de **l'environnement** et la **qualité de l'air extérieur** qui sont autant d'**adjuvants** de la réponse inflammatoire et allergique auxquels sont soumis les pollens et les aliments.



Remerciements

Equipe de recherche « **Allergie & Environnement** »

Hélène SENECHAL
Marie-Ange SELVA

Julie LEGENDRE
Rémy COUDERC

Yucef SHAHALI
Olga RIVERA
Cyril LONGE

Jean-Pierre SUTRA
Andrea BRAZDOVA
Meng-Yu LI

Maxime ALTER
Maxime DUBAIL
Oumsaad NAAS
Alexis GOMES

Kimberley DINARD
Noémie GIRARD
Margaux ALLAIN
Daniele GOMES

Juliette ANDRIEU
Sanaz KEYKHOSRAVI

Mahdokht MOSSALAEI

Jocelyne JUST

Nos collègues toulousains,
tchèques, japonais, et
luxembourgeois.

Les **massistes** de Prague,
Chatenay Malabry, de
Cochin, de l'ESPCI et de
l'Institut Pasteur

Les **cliniciens** de France
(Paris et Province) et
d'Italie
Denis CHARPIN,
Marseille

Les **biologistes** de France
(Paris et Province)



Hôpitaux
Universitaires
Est Parisien

TROUSSEAU
LA ROCHE-GUYON