



Modèles animaux d'allergies



Bouchaud Grégory, CR

L'unité de recherche de l'institut du thorax
Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291
Nantes, France



Gregory.bouchaud@inrae.fr



Modèles animaux d'allergie

- **INRAE** BIA UR1268 Equipe allergie
- **INSERM** U1087: Institut du thorax : Equipe III: vasculaire et pulmonaire

**-Les mécanismes de l'allergie alimentaire
et l'asthme sévère allergique.**



Axe Intestin-poumons

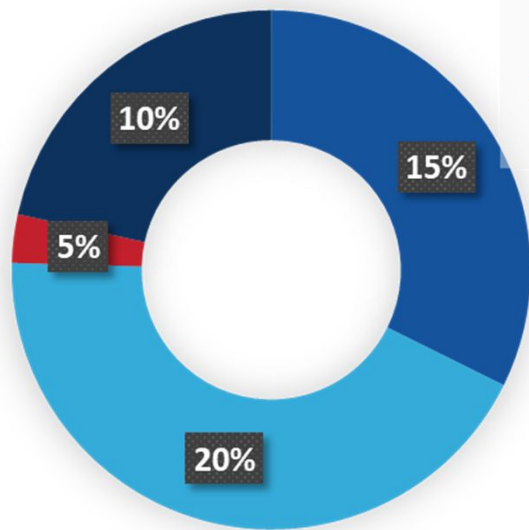
Modèles animaux d'allergie

- **Les allergies respiratoire/alimentaire**
- **Expérimentation animale**
- **Asthme : OVA Vs HDM**
- **Allergie alimentaire : Blé, œuf, lait**
- **Utilisation des modèles**
- **Modèle de Marche atopique**



Les allergies

- Aujourd'hui 25 à 30% de la population générale est porteur d'une allergie



■ dermatite atopique
■ rhinite allergique



D'ici 50 ans 1 personne sur 2 sera allergique

Aucun traitement curatif

Allergies alimentaires et asthme

- **Allergie alimentaire** : 5% de la population infantile
- 90% des allergies alimentaires chez l'enfant :
- **Symptômes** : la peau, l'intestin, anaphylaxie.

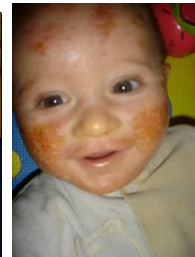
(Koplin et al., Current opinion in allergy, 2015; Prescott et al., WAO journal, 2013)

- **Asthme** : 10% de la population mondiale
- **Symptômes** : Uniquement respiratoire (asthme, rhinite)

(GINA, 2016; Jarvis et al., JACI 2012)

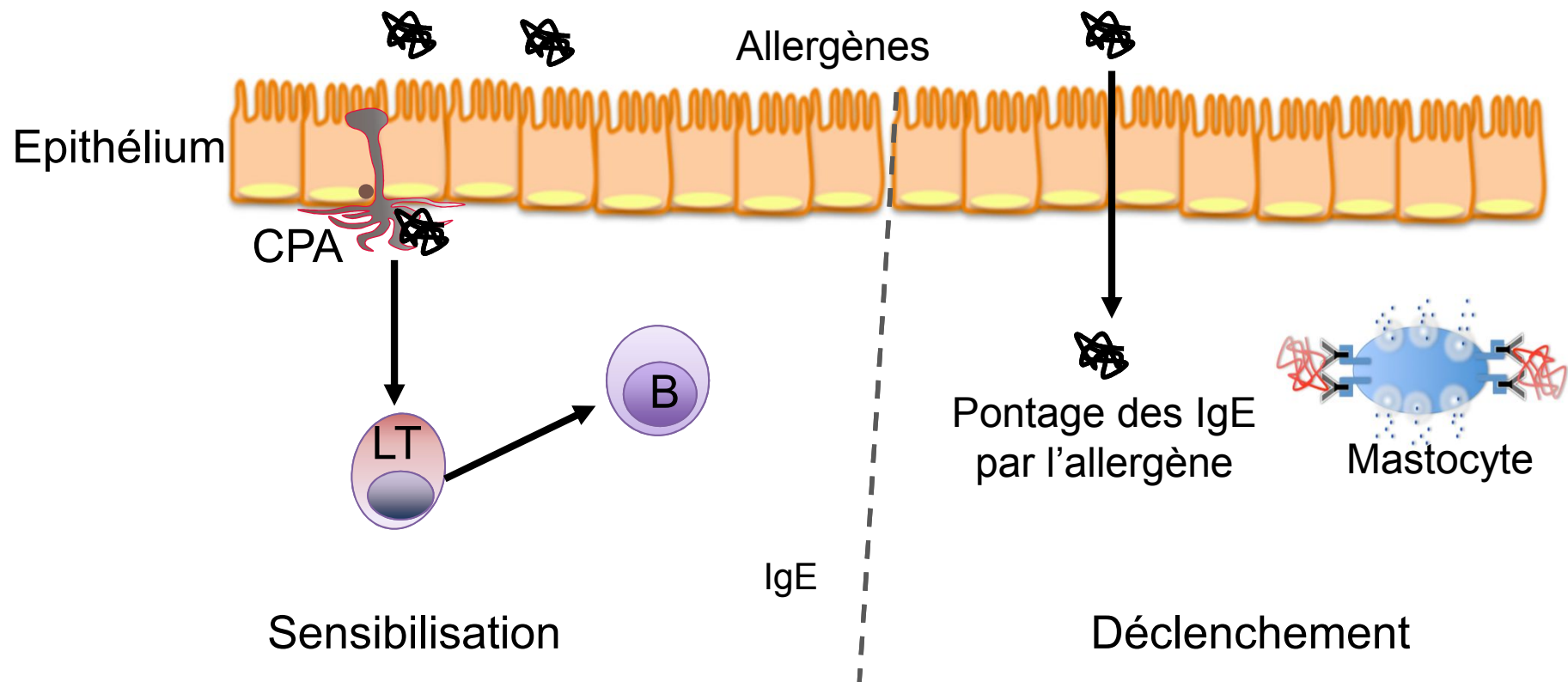


INRA
SCIENCE & IMPACT

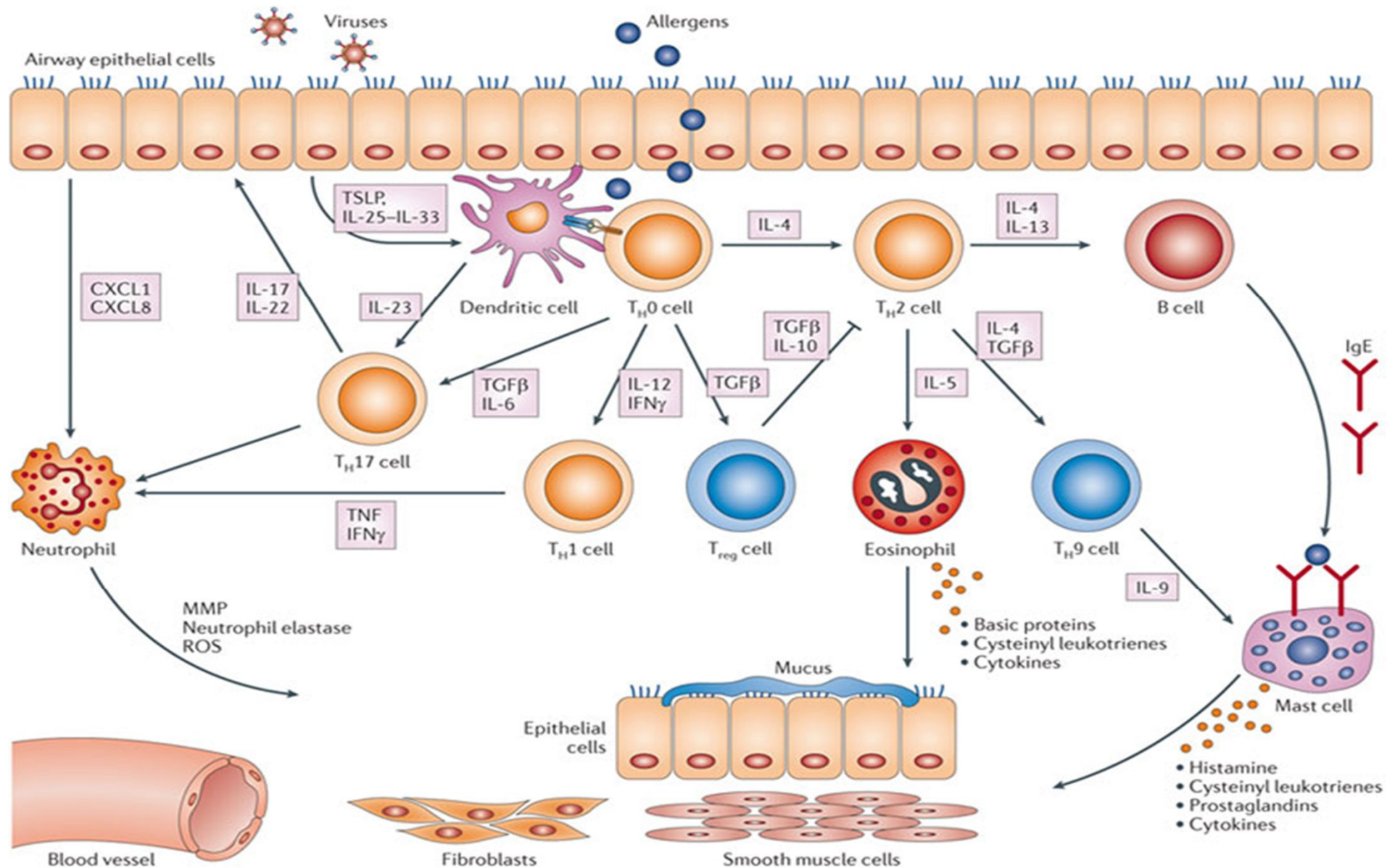


La réaction allergique

- Problème majeur de santé publique



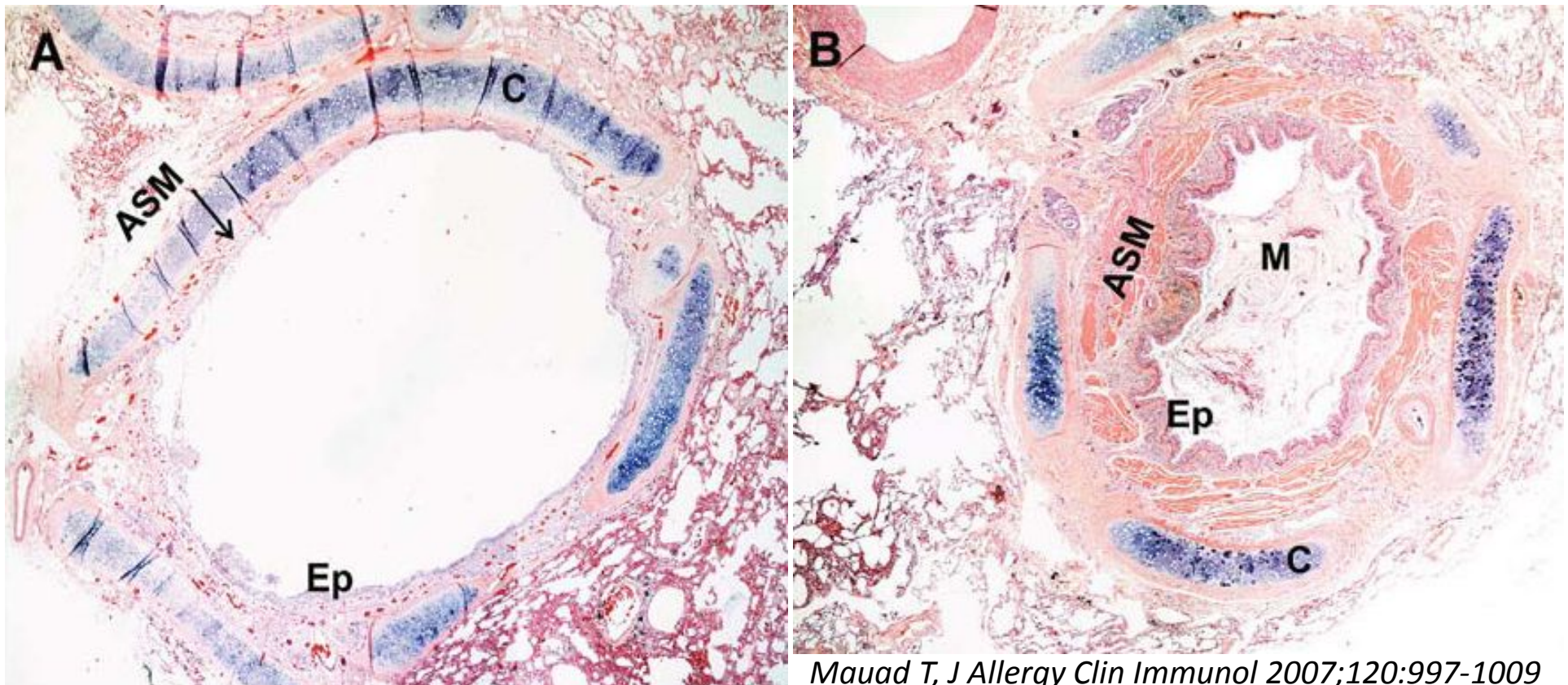
La réaction allergique : Asthme



Asthme : symptôme

➤ Inflammation de l'épithélium:

- Epaissement et irrégularité de l'épithélium
- Dépôt de mucus
- Epaissement du muscle

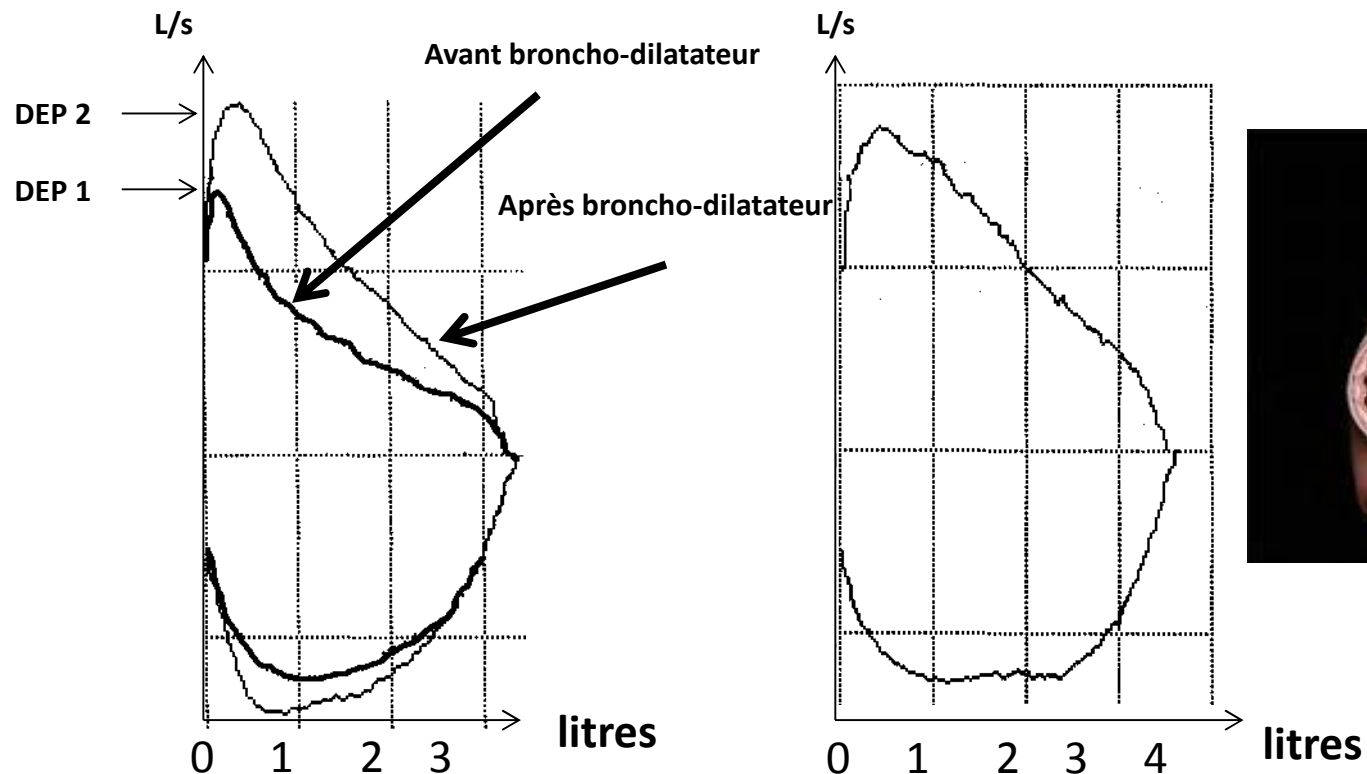


Mauad T, J Allergy Clin Immunol 2007;120:997-1009

Asthme : symptôme

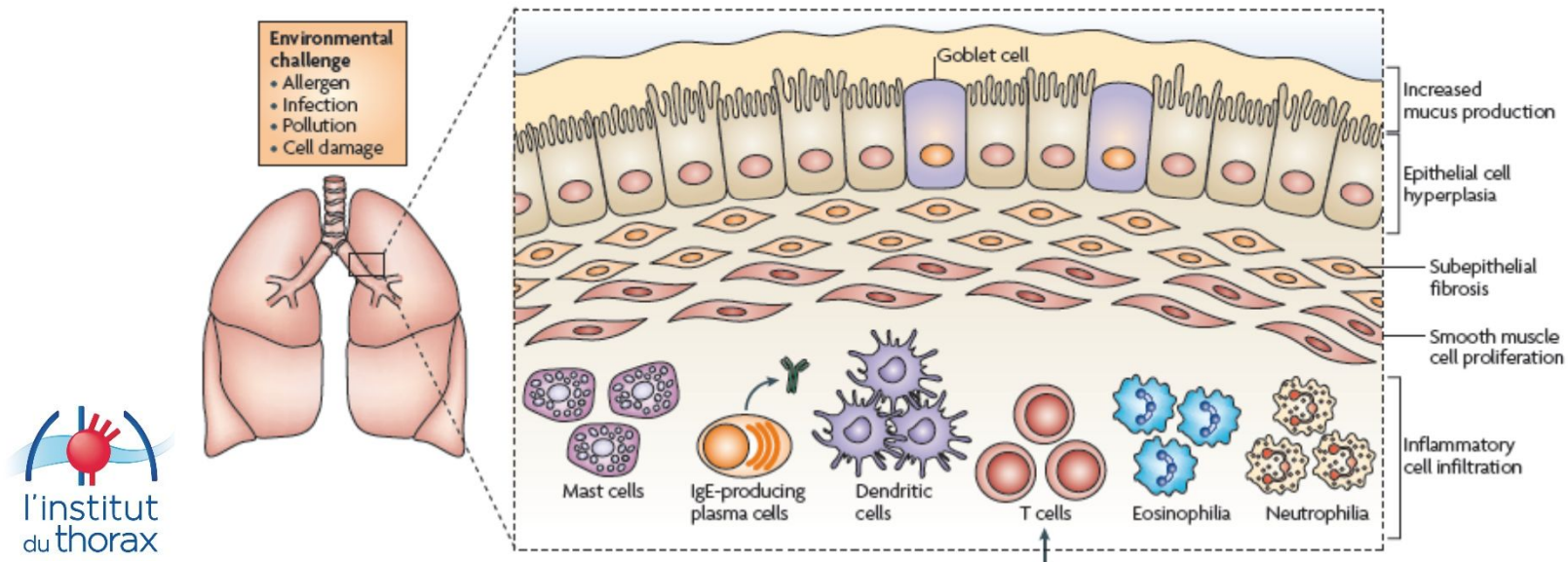
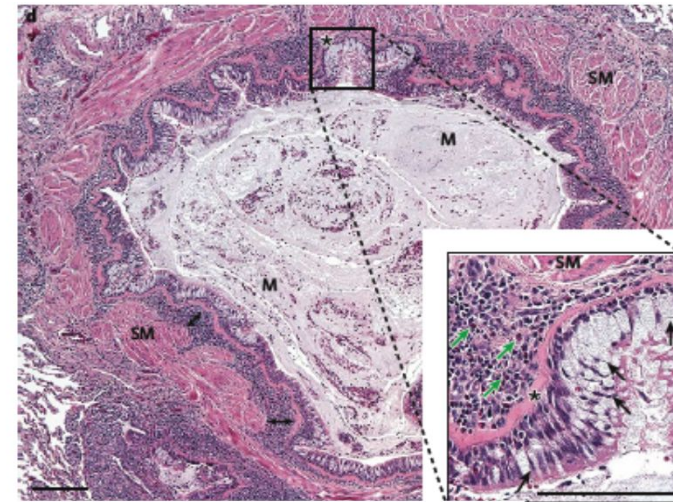
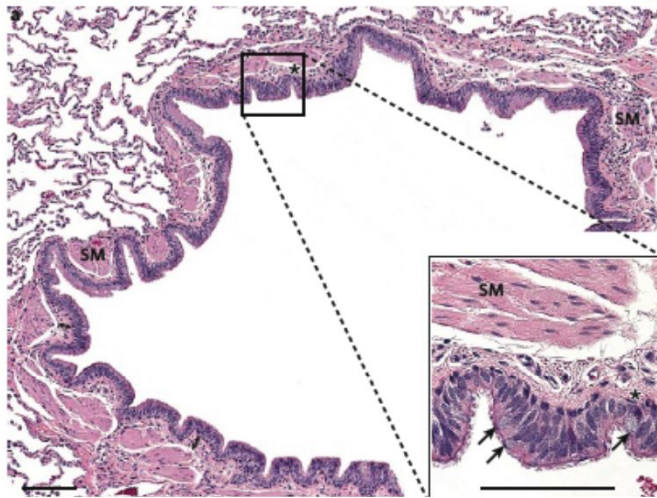
➤ Broncho-constriction:

Spiromètre avec boucle-débit volume



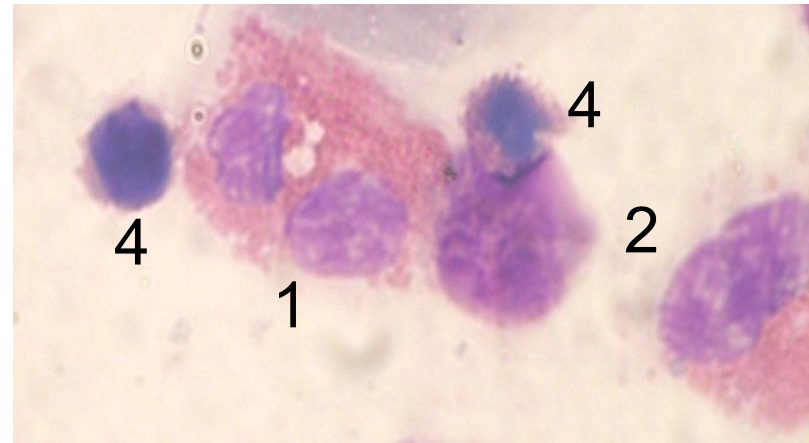
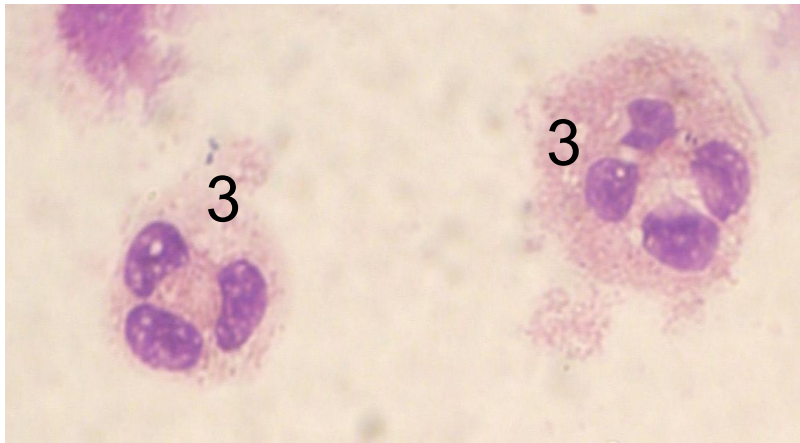
Asthme : symptôme

➤ Hyperactivité bronchique et infiltrat cellulaire:



Asthme : symptôme

➤ Hyperactivité bronchique et infiltrat cellulaire:



1 = Eosinophile

3 = Neutrophile






2 = Macrophage

4 = Lymphocyte

Magnan, in Aubier, traité de pneumologie, Flammarion 2007

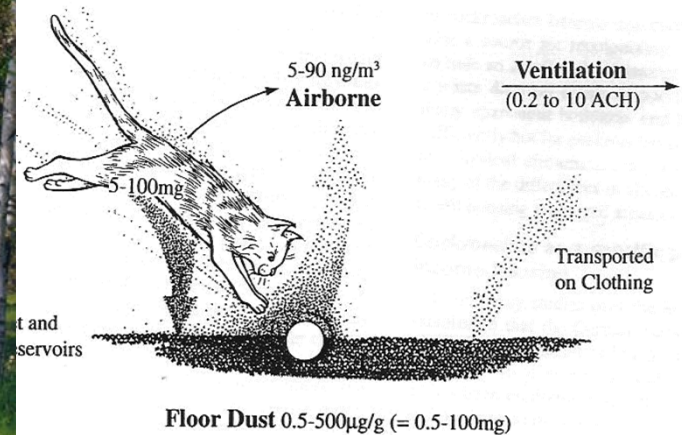
Alimentaire : symptôme

➤ Très variés (organe, âge, aliments, dose etc...) :

				
SYSTÈME CUTANÉ	SYSTÈME RESPIRATOIRE	SYSTÈME GASTRO-INTESTINAL	SYSTÈME CARDIOVASCULAIRE	SYSTÈME NEUROLOGIQUE
urticaire, enflure, démangeaisons, sensation de chaleur, rougeur	toux, respiration sifflante, essoufflement, douleur ou serrement à la poitrine, serrement de la gorge, difficulté à avaler, voix rauque, congestion nasale ou symptômes semblables à ceux du rhume des foins (éternuements, nez qui coule ou qui pique; yeux rouges, larmoyants ou qui piquent)	nausée (maux de cœur), douleurs ou crampes, vomissements, diarrhée	étourdissements/ vertige, teint pâle ou bleuté, faible pouls, évanouissement, état de choc, perte de connaissance	angoisse, sentiment de « danger imminent » (avoir l'impression que quelque chose de très grave est sur le point d'arriver), maux de tête
				AUTRES ^{1, 2}
				crampes utérines

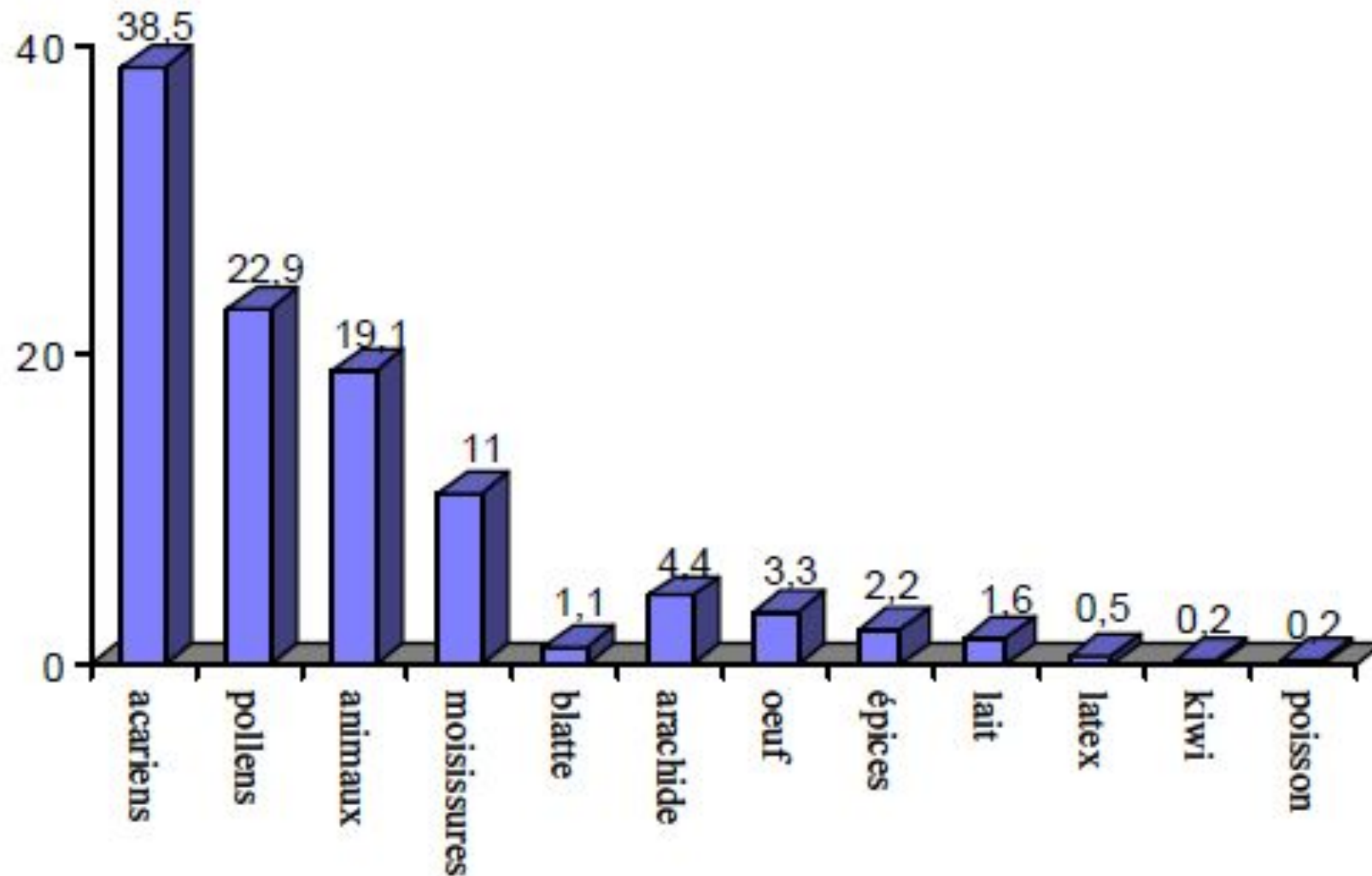
Allergènes : Asthme

- Acariens, pollens, animaux de compagnie



Allergènes : Asthme

➤ Acariens, pollens, animaux de compagnie



Allergènes : Alimentaire

➤ 14 réglementés : lait, œuf, blé, arachide



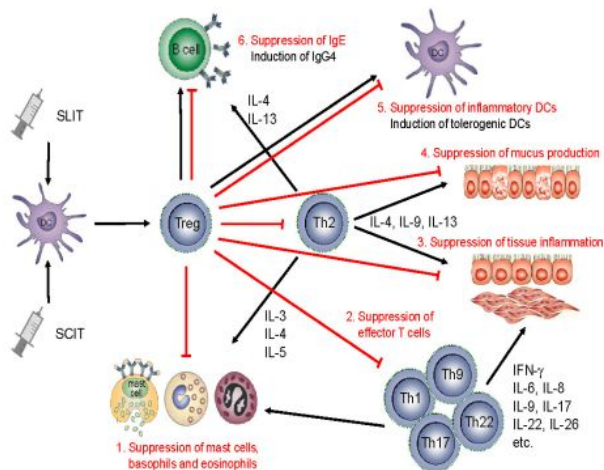
Expérimentation animale

➤ Objectifs :

➤ Compréhension des mécanismes impliqués dans la pathogénèse et le développement de l'allergie

➤ Elaborer et tester de nouvelles stratégies de prévention et de thérapies

➤ Prédire allérogénicité de nouveaux produits



Expérimentation animale

➤ **Animaux utilisés ?**

➤ **Souris** (représente plus que tous les autres modèles réunis)

➤ **Autres rongeurs** (rat = 99%)

➤ **Autres** : 1% (chiens, chat, lapins, porcs...)



Expérimentation animale

➤ **Les différentes espèces**

➤ **Chien**

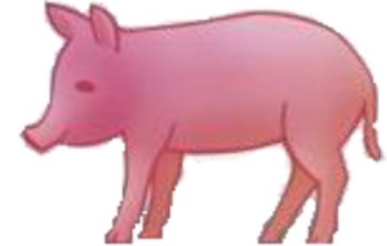


- Modèle spontané : (symptômes typiques: infiltrat, remodelage, broncho-constriction, eczema...)
- Prélèvement facile à faire
- Sensibilisation perdure même plusieurs années (IgE spécifique, histamine)
- MAIS très chère (500 euros/chien) et peu de produits/réactifs disponibles.

Expérimentation animale

➤ **Les différentes espèces**

➤ **Porc**



- Très proche de l'homme (symptômes typiques: infiltrat, remodelage, broncho-constriction, IgG1 classe majeur d'anaphylaxie, poumon seul organe touché)
- Prélèvement facile à faire
- MAIS peu de produits/réactifs disponible de façon spécifique (plus que pour le chien)

Expérimentation animale

➤ **Les différentes espèces**

➤ **Rat**



- Petit, facilement manipulable, peu onéreux
- Sensibilisation nécessaire avec adjuvant (Alum)
- IgE classe majeur d'anaphylaxie
- Peu de réponse à l'histamine
- peu de remodelage, atteinte cutanée difficile

Expérimentation animale

➤ **Les différentes espèces**

➤ **Autre**

- Lapin: Réaction pulmonaire, IgE, sensibilisation néonatale
- Autres: Chèvre, primates, cheval, poney...
- Chère, difficile à mettre en œuvre

Expérimentation animale

➤ Les différentes espèces

➤ Souris

- Petit, facilement manipulable, peu onéreux ?
- Gain de temps (gestation), Sensibilisation nécessaire avec adjuvant (Alum)
- IgE classe majeur d'anaphylaxie, Beaucoup de produits disponible
- Nombreuses souche, transgénique, KO disponible
- Génome complètement séquencé, proche de l'humain, consanguinité
- Tester des thérapies innovantes!
- EX: 2 modèles de KI (Q576R et Y709F) IL-4Rmut+Th2



Modèles animaux d'allergie

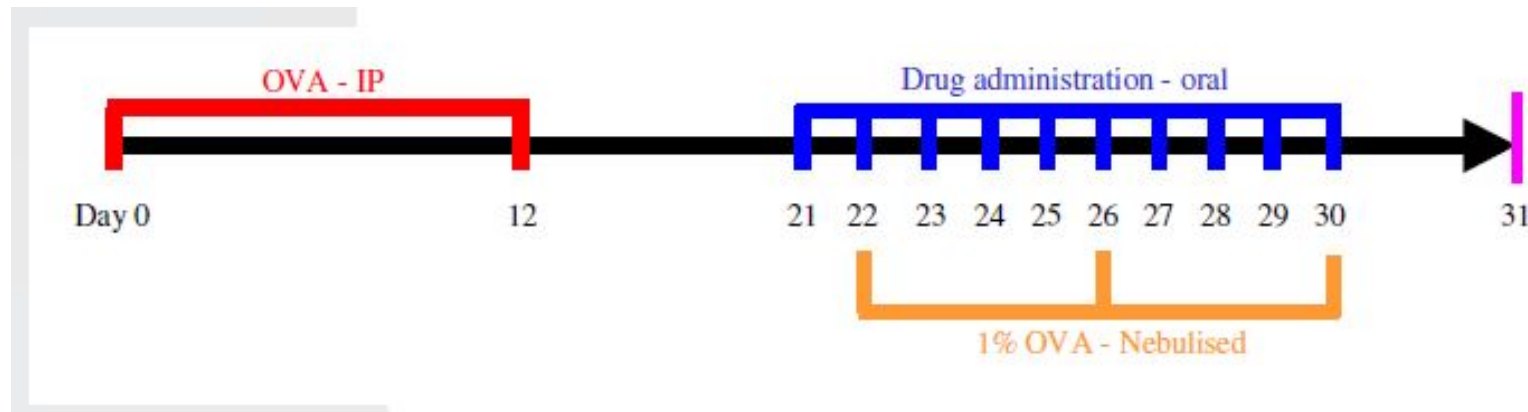
➤ Modèles d'asthme



Modèle d'asthme : OVA

➤ OVA: Gold standard

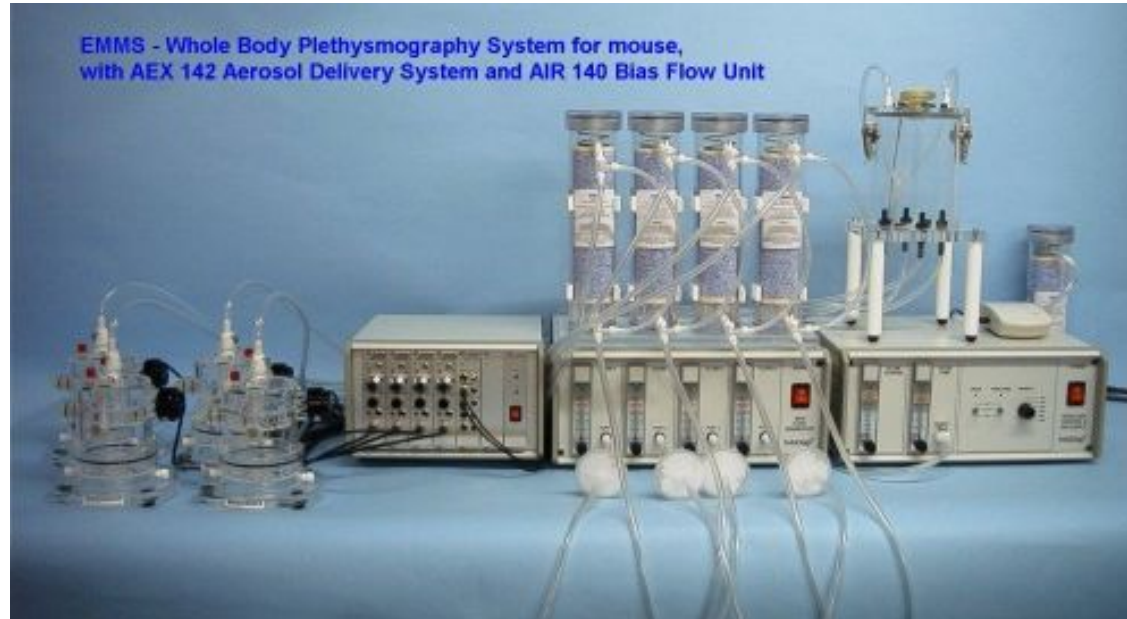
- **OVA** : induit une réponse immune avec les caractéristiques de l'asthme humain.
- Balb/c, 6 semaines : Sensibilisation IP (2) séparée de 12 jours, Challenge Nébulisation 1% OVA pendant 30 minutes



Réponse : Penh/AHR (Plethysmographie) en réponse au challenge à la méthacholine, FlexiVent et infiltrat (BAL)

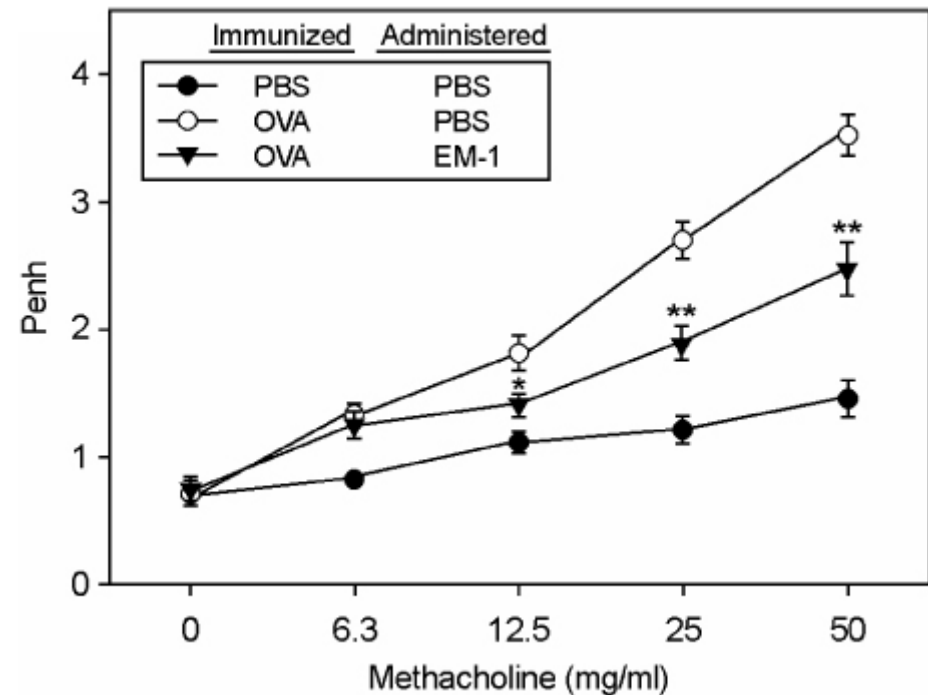
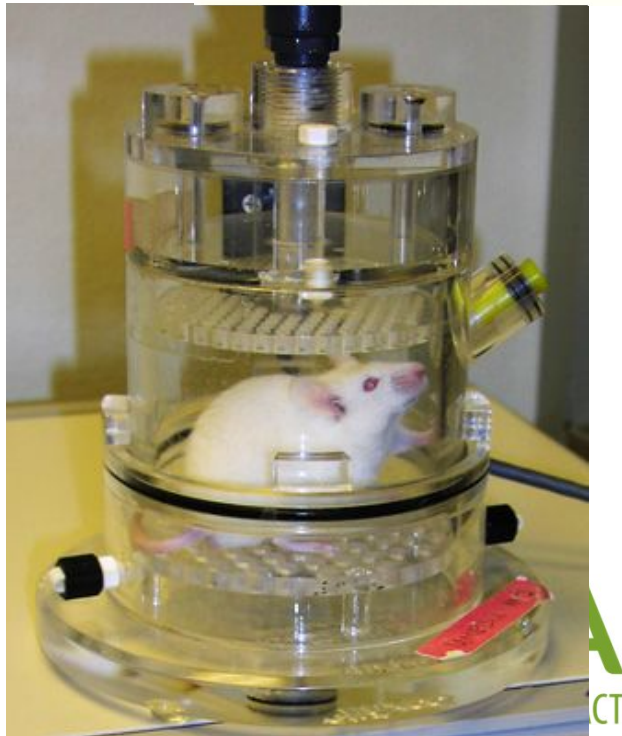
Modèle d'asthme : OVA

- **Plethysmographie** : Mesure de l'hyper-réactivité bronchique



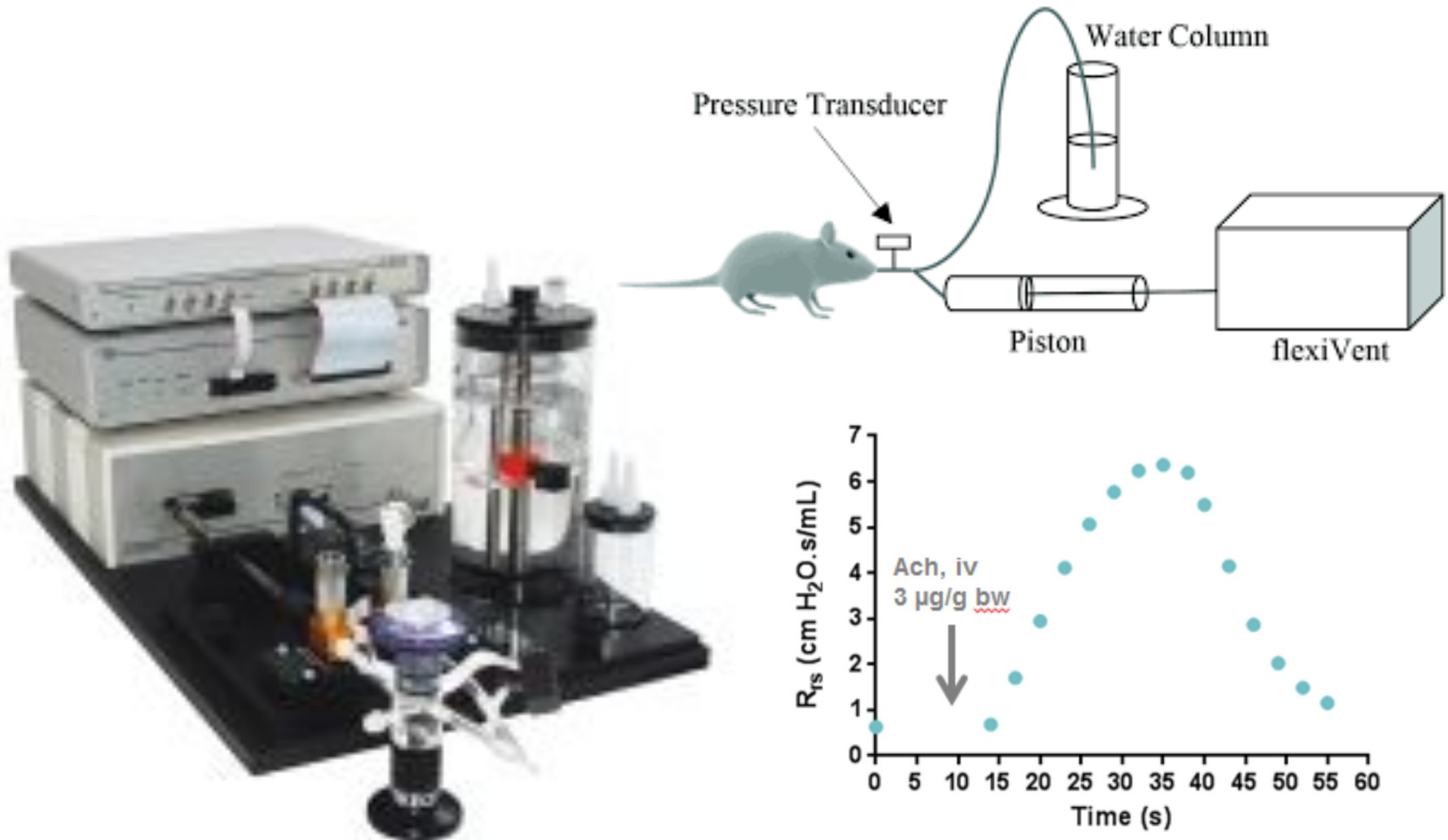
Modèle d'asthme : OVA

➤ Plethysmographie : Mesure de l'hyper-réactivité bronchique



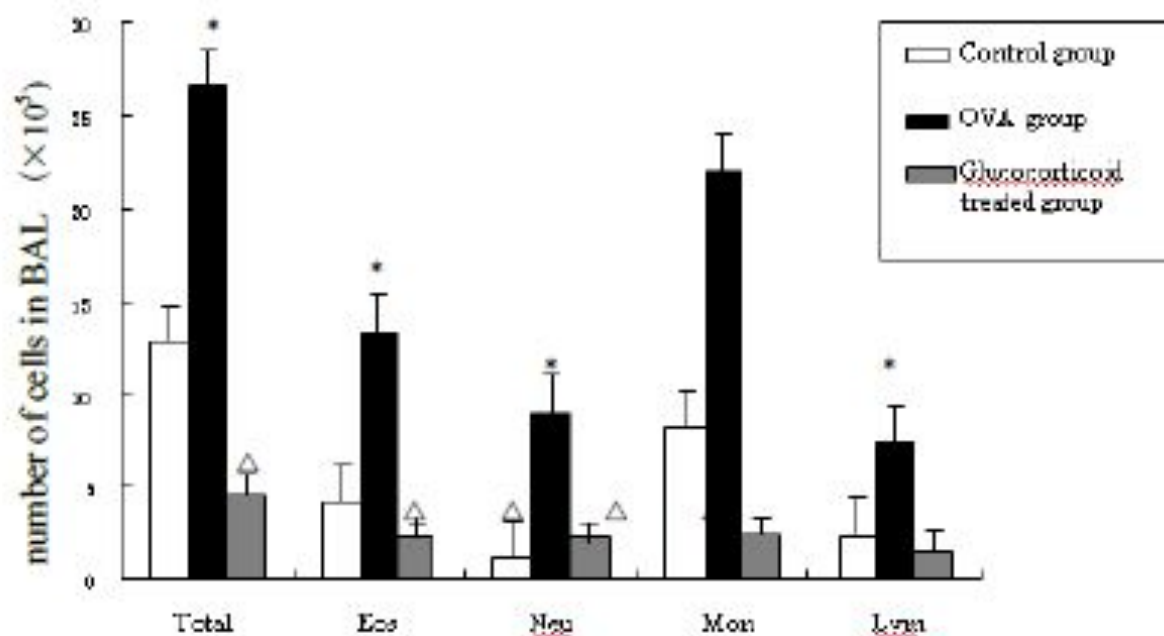
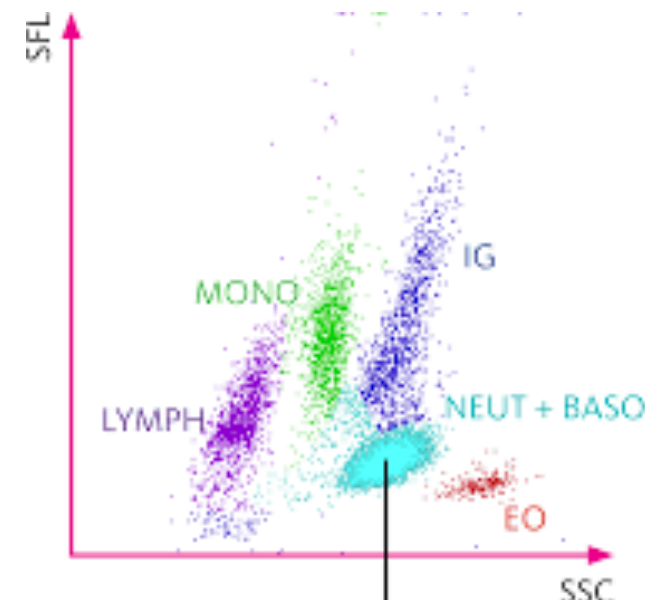
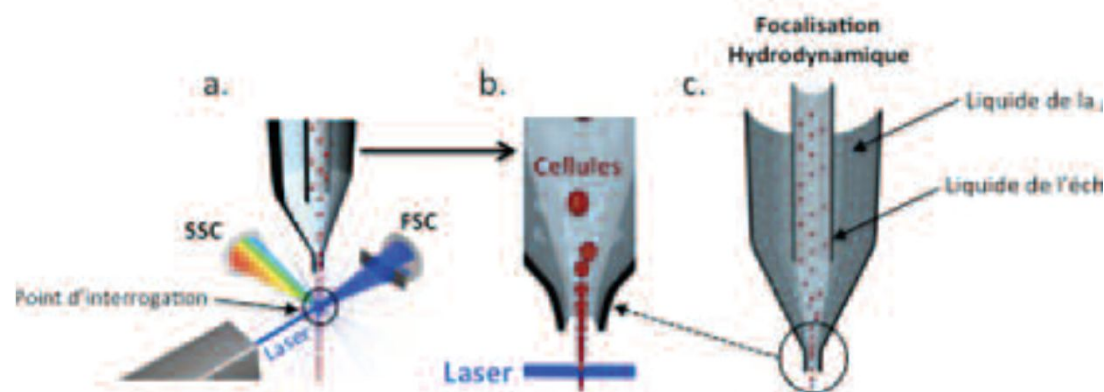
Modèle d'asthme : OVA

➤ FlexiVent : Technique des oscillations forcées



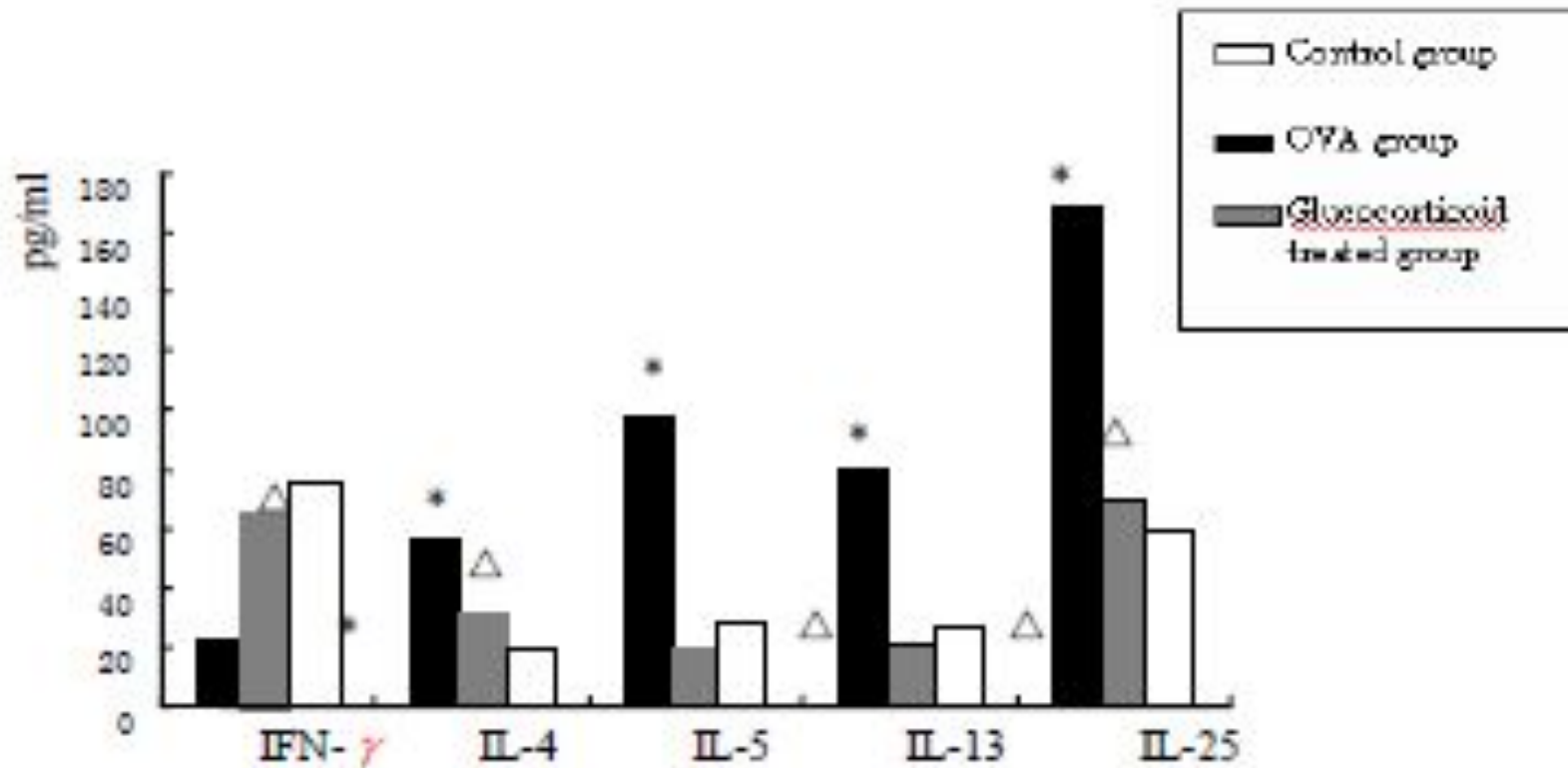
Modèle d'asthme : OVA

➤ Inflammation: Infiltrat cellulaire



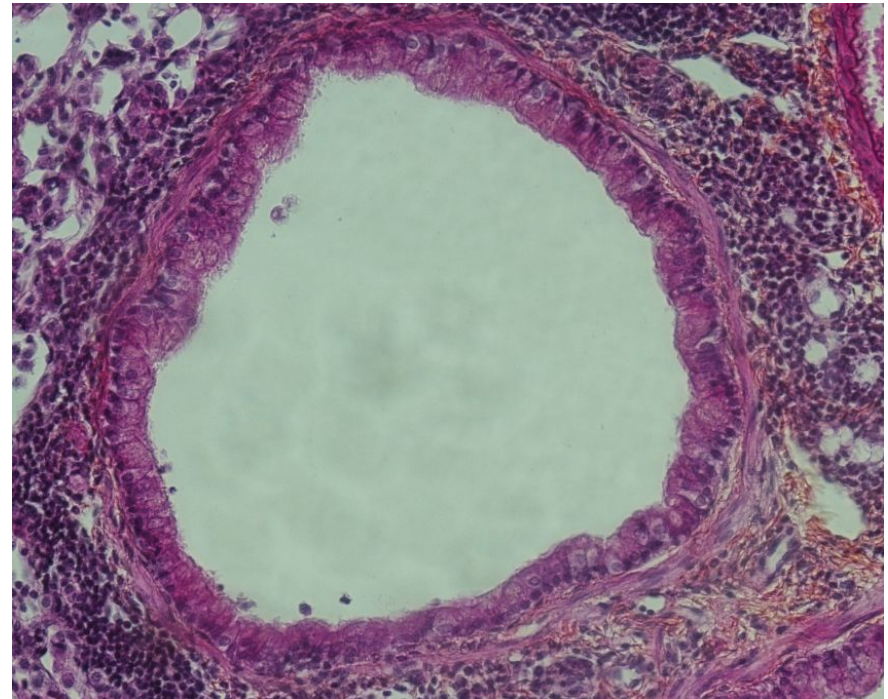
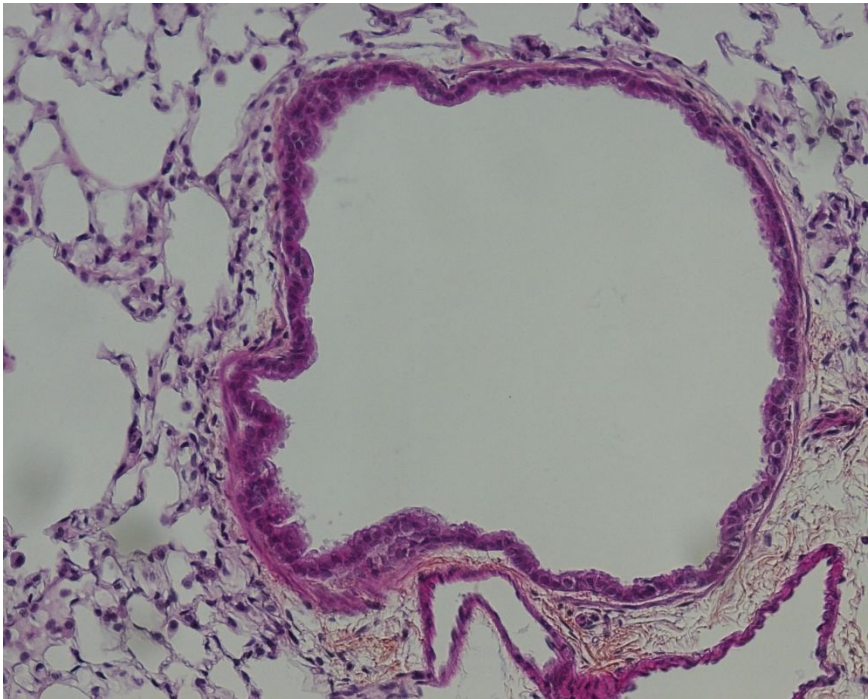
Modèle d'asthme : OVA

➤ Inflammation: Cytokine



Modèle d'asthme : OVA

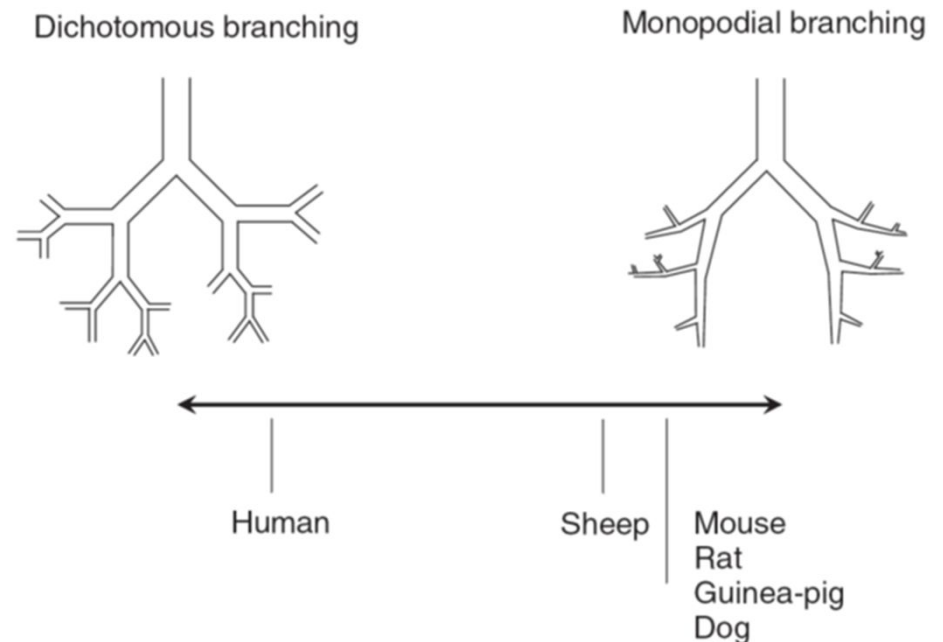
➤ **Lésions tissulaires: Histologie**



Modèle d'asthme : OVA

➤ Conclusion

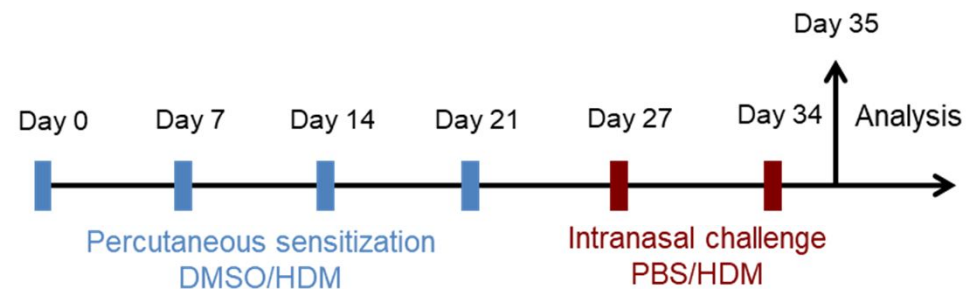
- OVA n'est pas un aero allergène
- Haute doses d'allergènes nécessaire
- Sensibilisation systémique
- Anatomie pulmonaire
- Pas de persistance de l'AHR
- Biais Th2



Modèle d'asthme : HDM

➤ HDM: Plus clinique

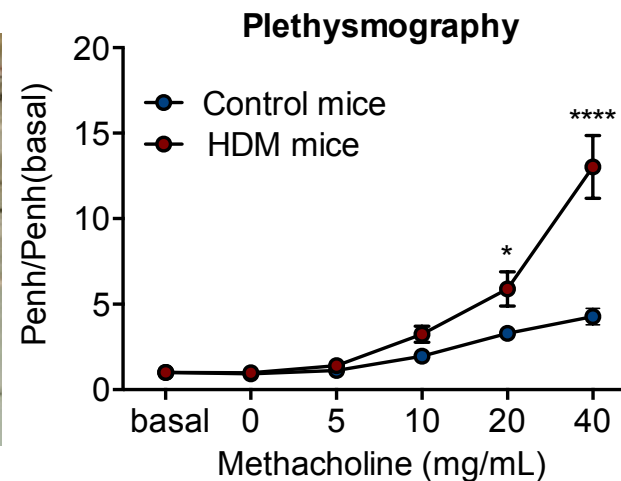
- **HDM** : Extrait d'acarien (Der p et Der f): activité protéase.
- Balb/c, 6 semaines, Sensibilisation pc ou in SANS adjuvant, Challenge intranasal



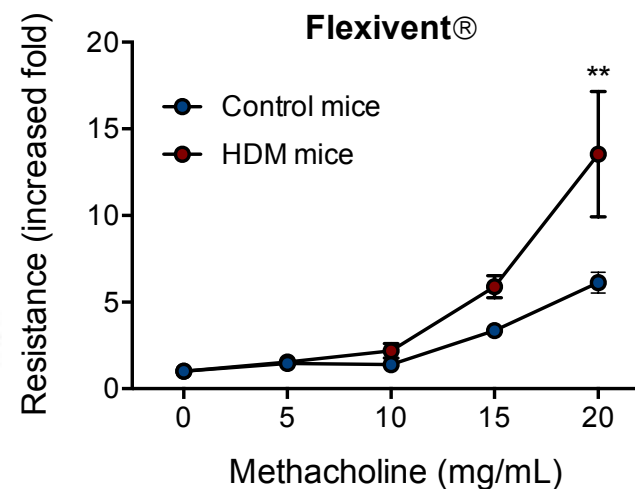
Réponse : Penh/AHR (Plethysmographie) en réponse au challenge à la méthacholine, FlexiVent et infiltrat (BAL)

Modèle d'asthme : HDM

➤ HDM: Fonction respiratoire



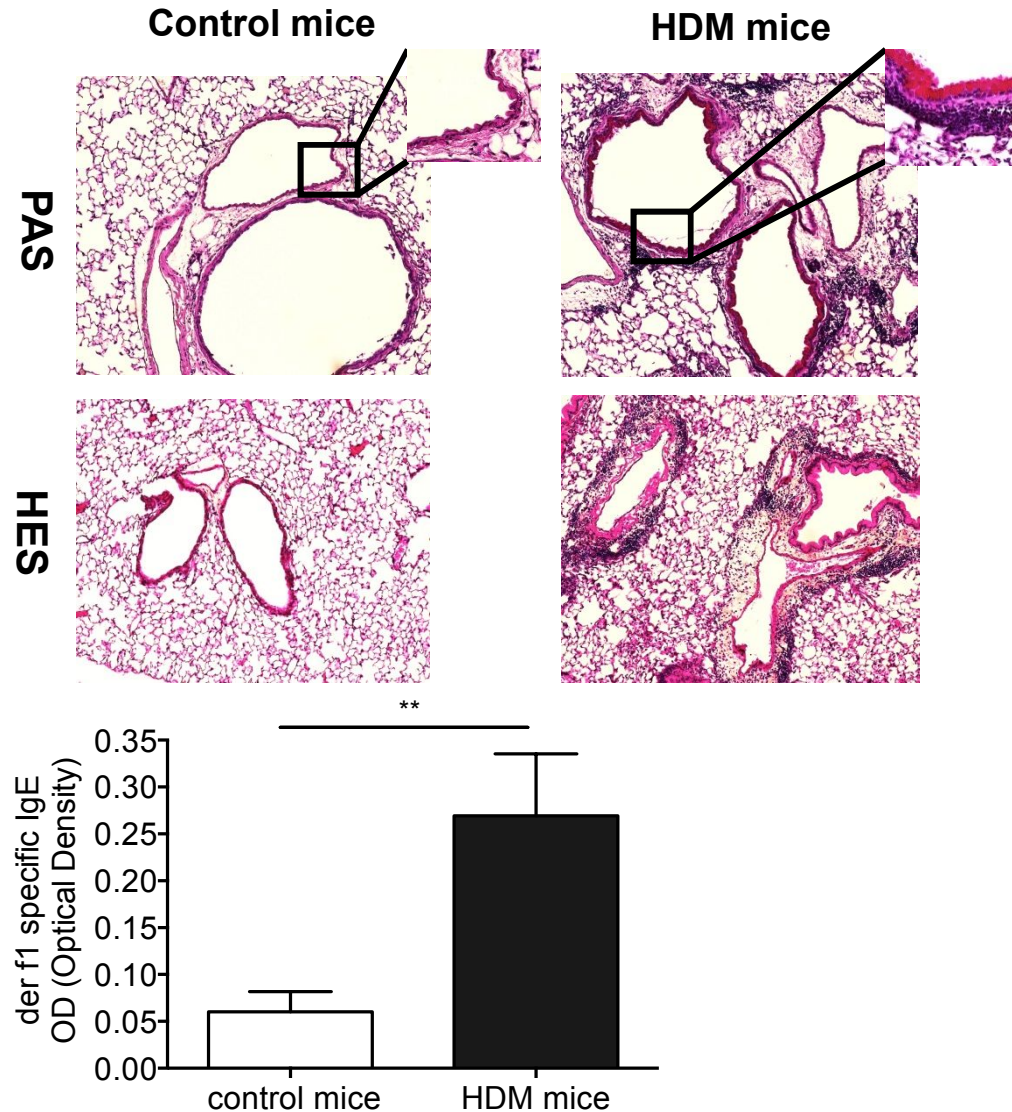
Mesure indirecte de la résistance des voies aériennes par le temps de pause.



Mesure directe de la résistances des voies aériennes reflétant la broncho-constriction.

Modèle d'asthme : HDM

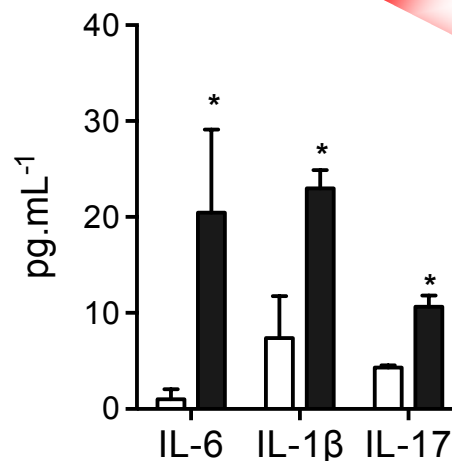
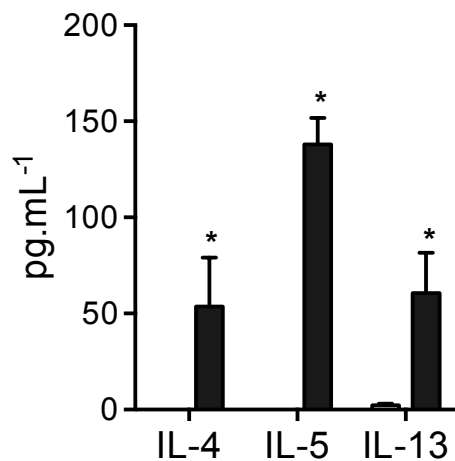
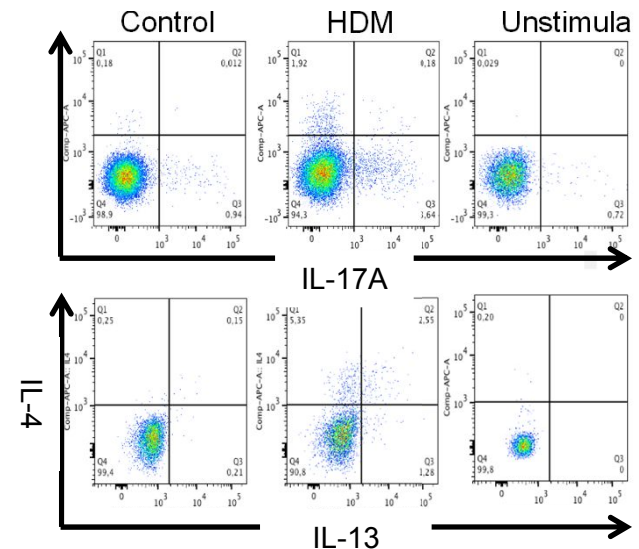
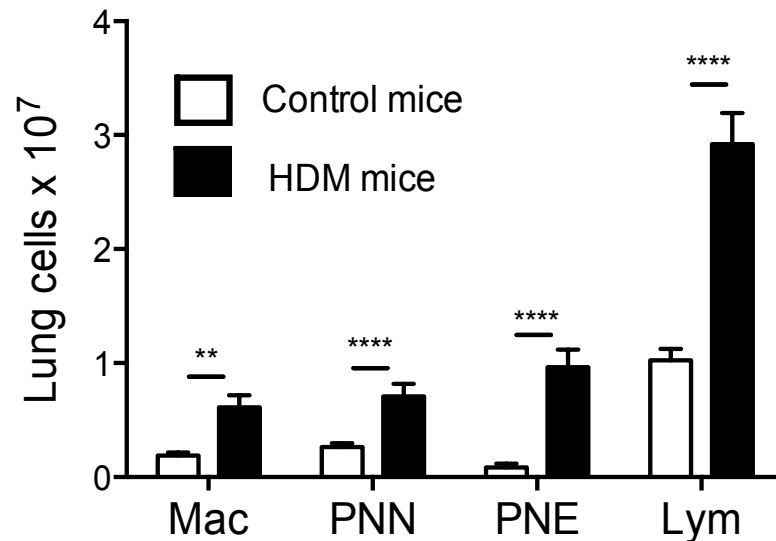
➤ HDM: Histologie



- Hyperplasie des cellules épithéliales
- Présence de cellules à mucus
- Infiltrat cellulaire péribronchique et périvasculaire
- Epaississement de la paroi bronchique
- Augmentation des IgE spécifiques

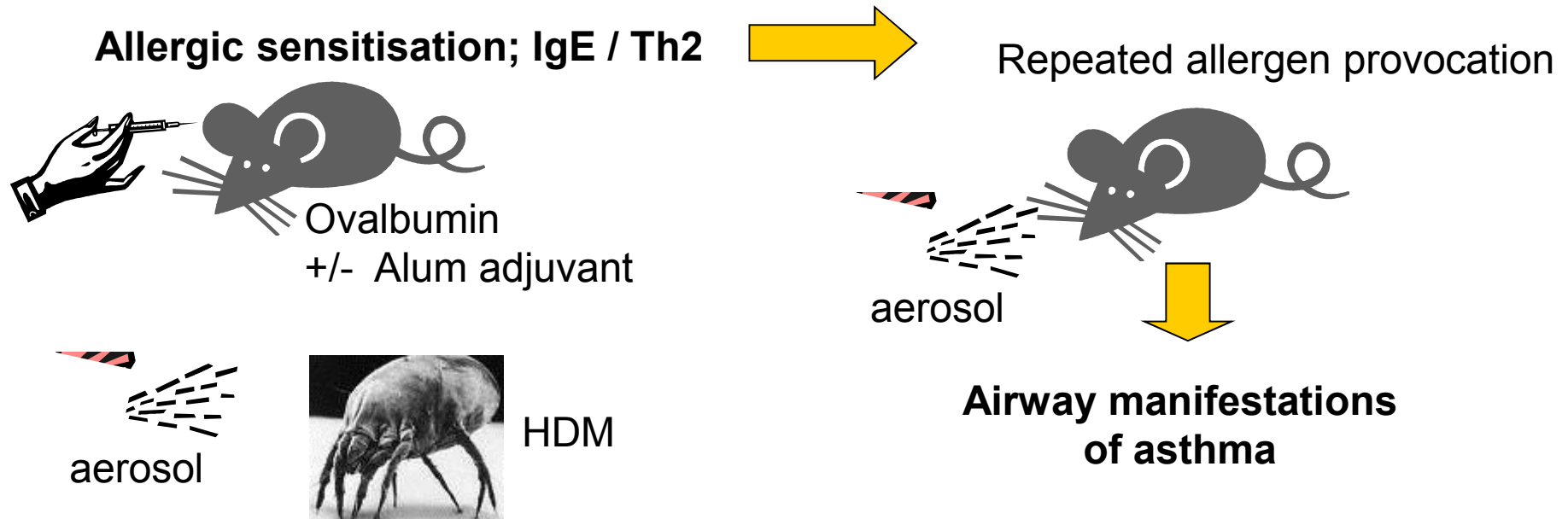
Modèle d'asthme : HDM

➤ HDM: Inflammation



- Inflammation mixte:
Th2/Th17 et Neutro/Eosino
- Rapprochement avec la
pathologie humaine

Modèle d'asthme : Conclusion



	OVA	HDM
Mode of sensitization	i.p., s.c.	i.n., IA
Dose usage	10 µg, 20 µg, 50 µg, 100 µg, 1000 µg	HDM extract: 25 µg, 50 µg, 100 µg Total protein: 2.5 µg, 5 µg, 10 µg, 20 µg, 40 µg, 80 µg
Adjuvant	Alum, B. pertussis, etc	(-)
Inflammatory cell types	eosinophil, Th2 cell, Th1 cell, mast cell, dendritic cell, basophil	neutrophil, eosinophil, Th2 cell, Th17 cell, dendritic cell, basophil
Immunoglobulins	total IgE, OVA-specific IgE, IgG1, IgG2a	total IgE, HDM-specific IgE, IgG1
Lung histology	GCH	GCH
AHR	increased	increased

Modèles animaux d'allergie

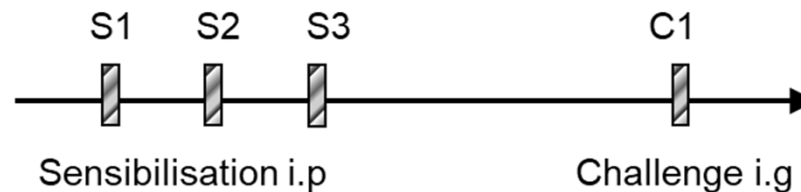
➤ Modèles Alimentaire



Modèle Alimentaire : blé

➤ Blé: Gluten

- **OVA** : induit une réponse immune avec les caractéristiques de l'asthme humain.
- Balb/c, 6 semaines : Sensibilisation IP séparée de 12 jours, Challenge gavage

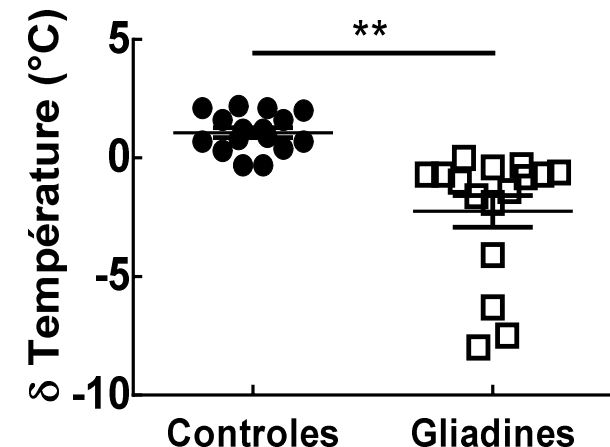
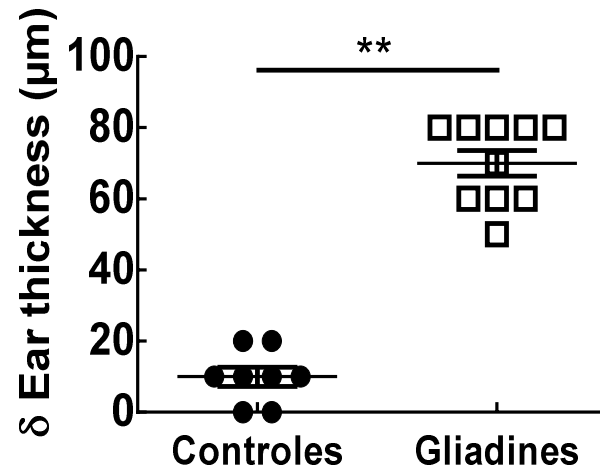
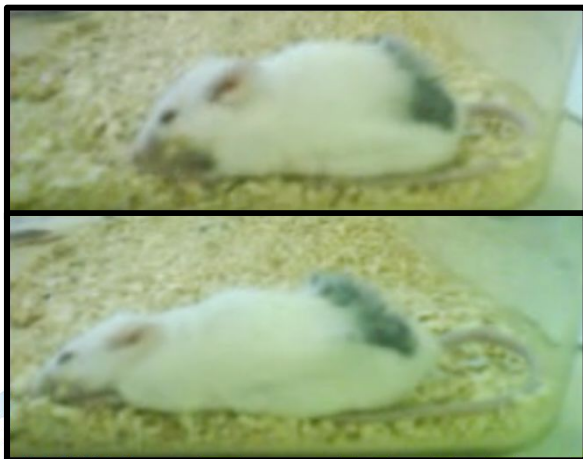
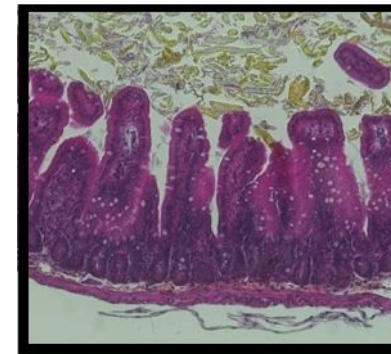
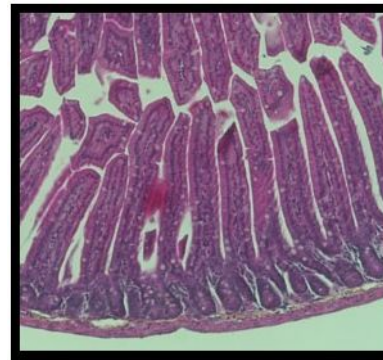
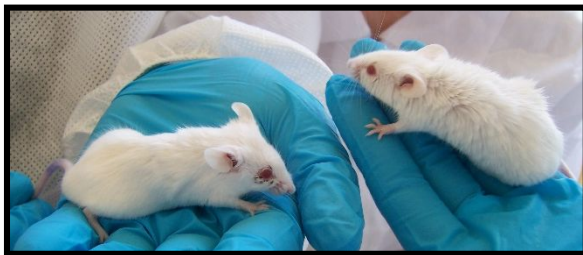


Réponse : clinique (histologie, température), Immunoglobuline (IgE, IgG1), Perméabilité intestinale, Réaction immune

Modèle alimentaire : blé

➤ Signes Cliniques :

poils hérissés, douleur abdominales, lésions histologie, vasodilatation, chute de température.



Modèle alimentaire : blé

➤ Perméabilité Intestinale *in vivo*

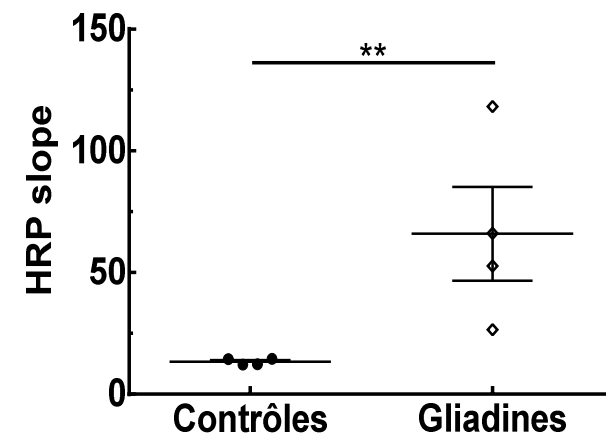
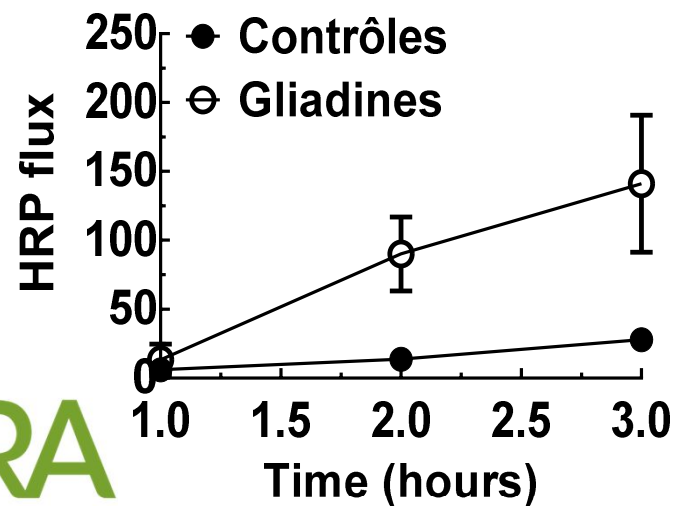


Prélèvement sanguin
→ temps

Mesure de la fluorescence
(Acide sulfonique)
Et
Mesure de l'activité enzymatique
(HRP)

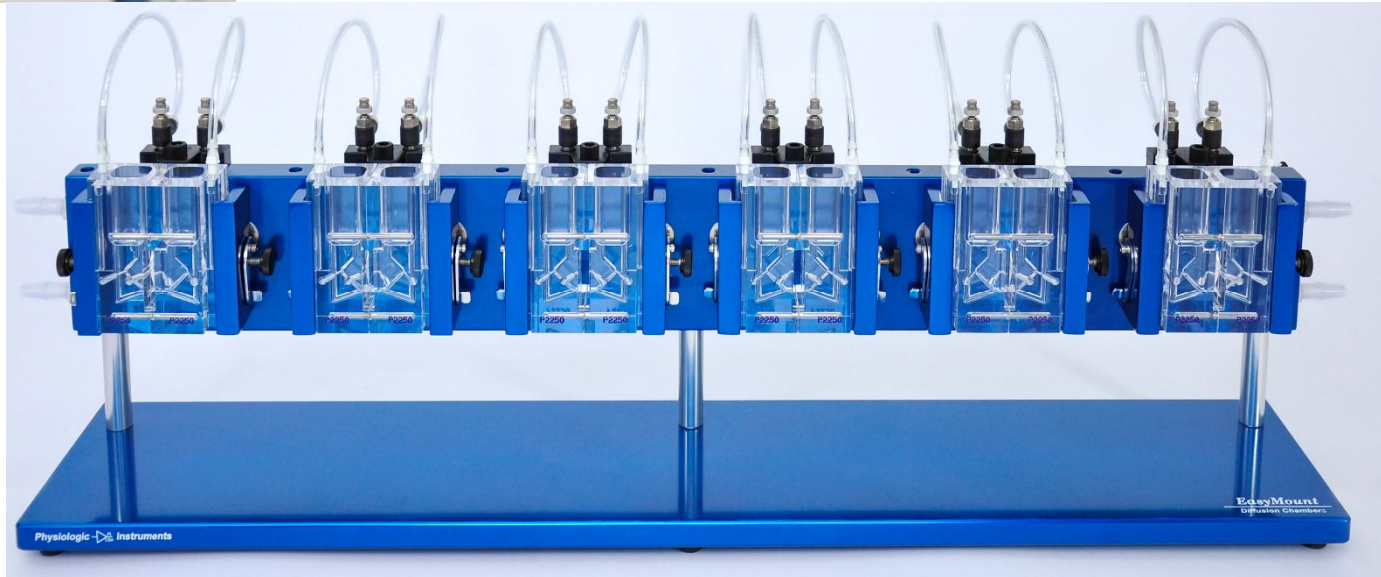
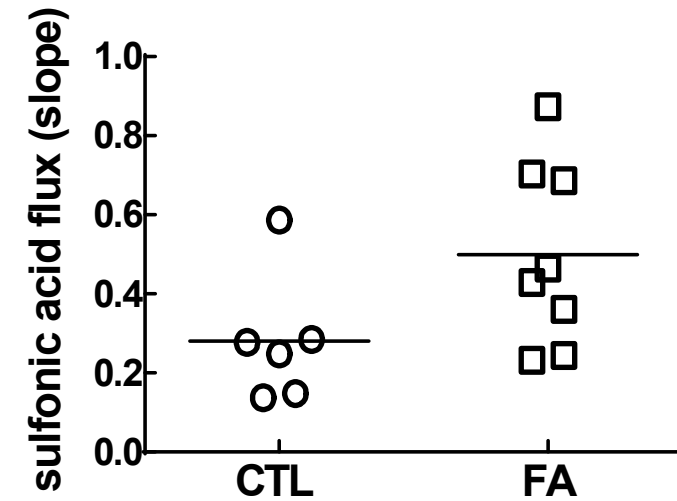
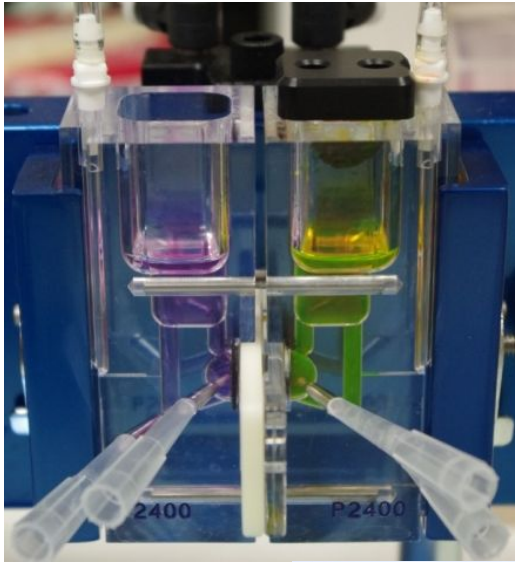


Perméabilité *in vivo*



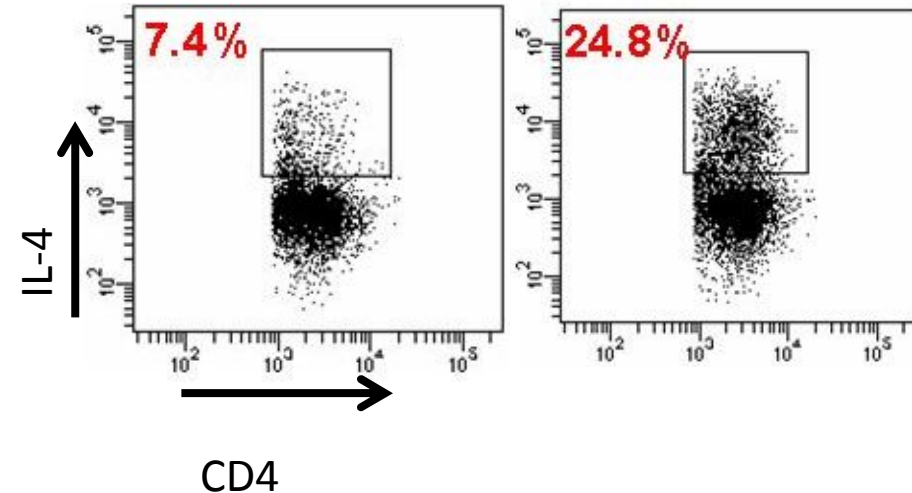
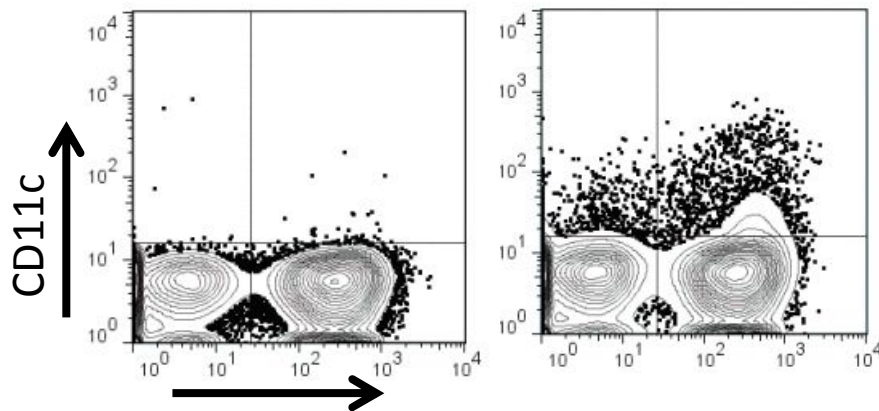
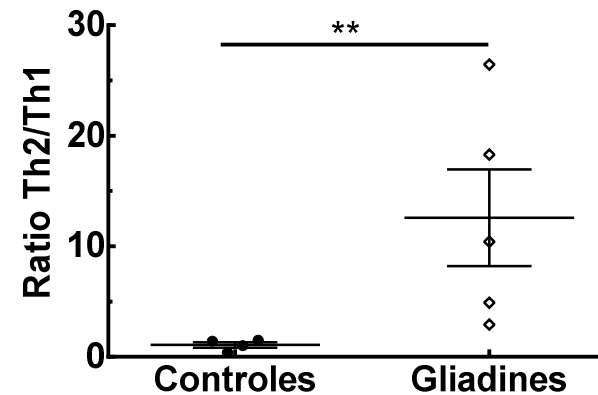
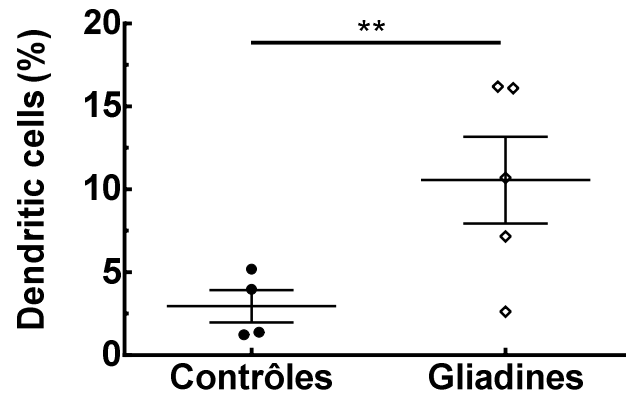
Modèle alimentaire : blé

➤ Perméabilité Intestinale *in vitro*



Modèle alimentaire : blé

➤ Inflammation



Modèles animaux d'allergie

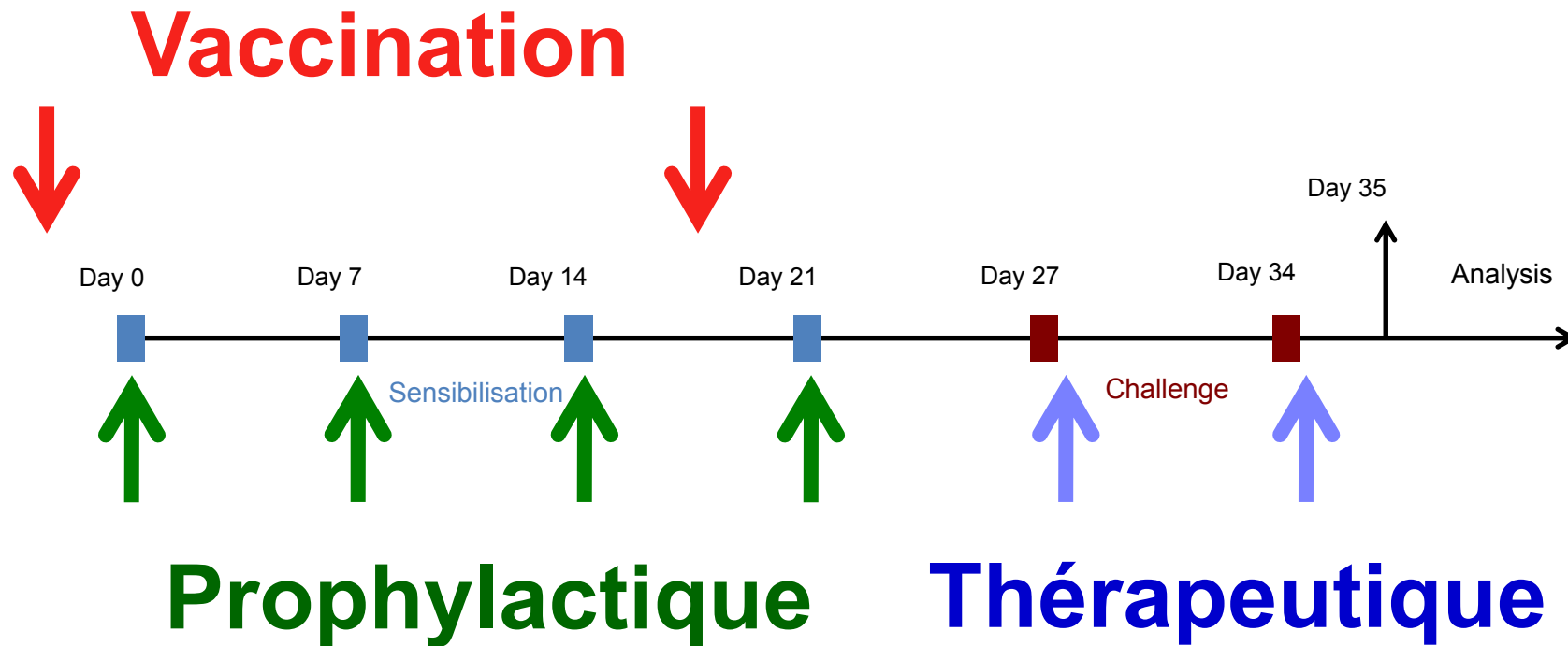
➤ Utilisation des modèles



ADAM



Utilisation des modèles

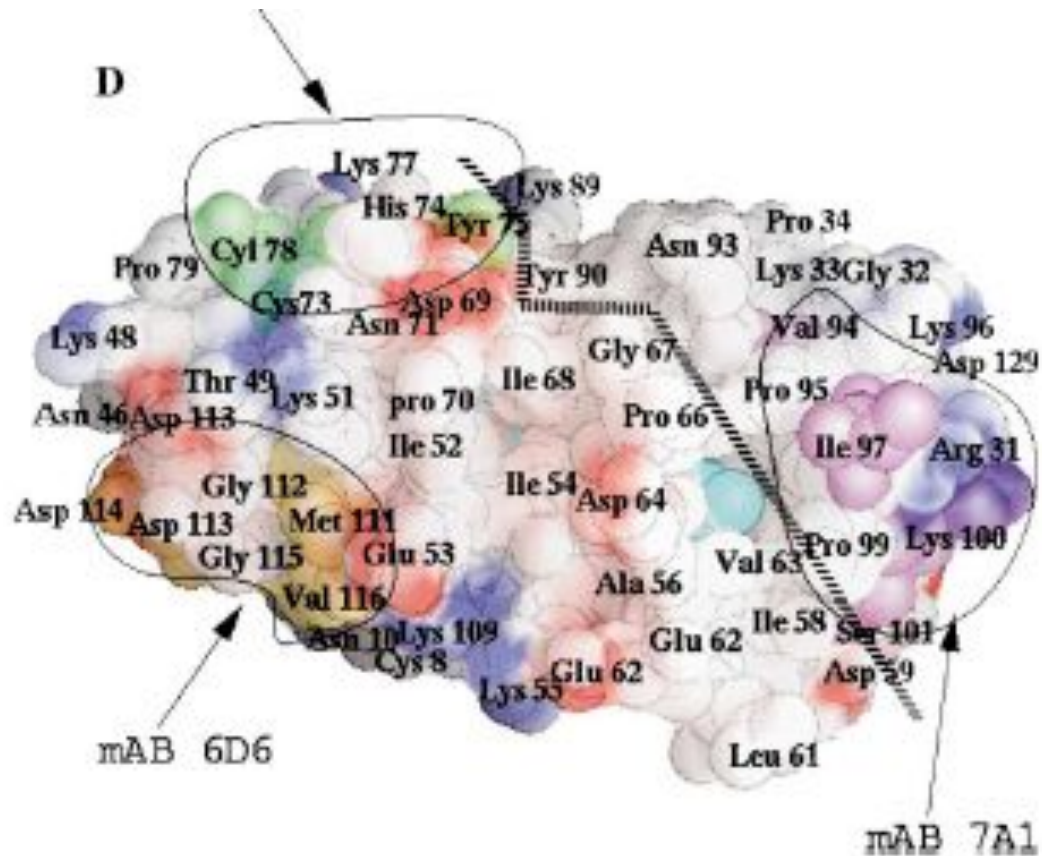


Vaccination : Immunothérapie peptidique dans l'asthme

- **Allergène majeurs :** Der P2 (protéine de l'acarien), reconnue par 90% des patients allergiques.

Peptides : DerP2.1: acides aminées 1 à 53

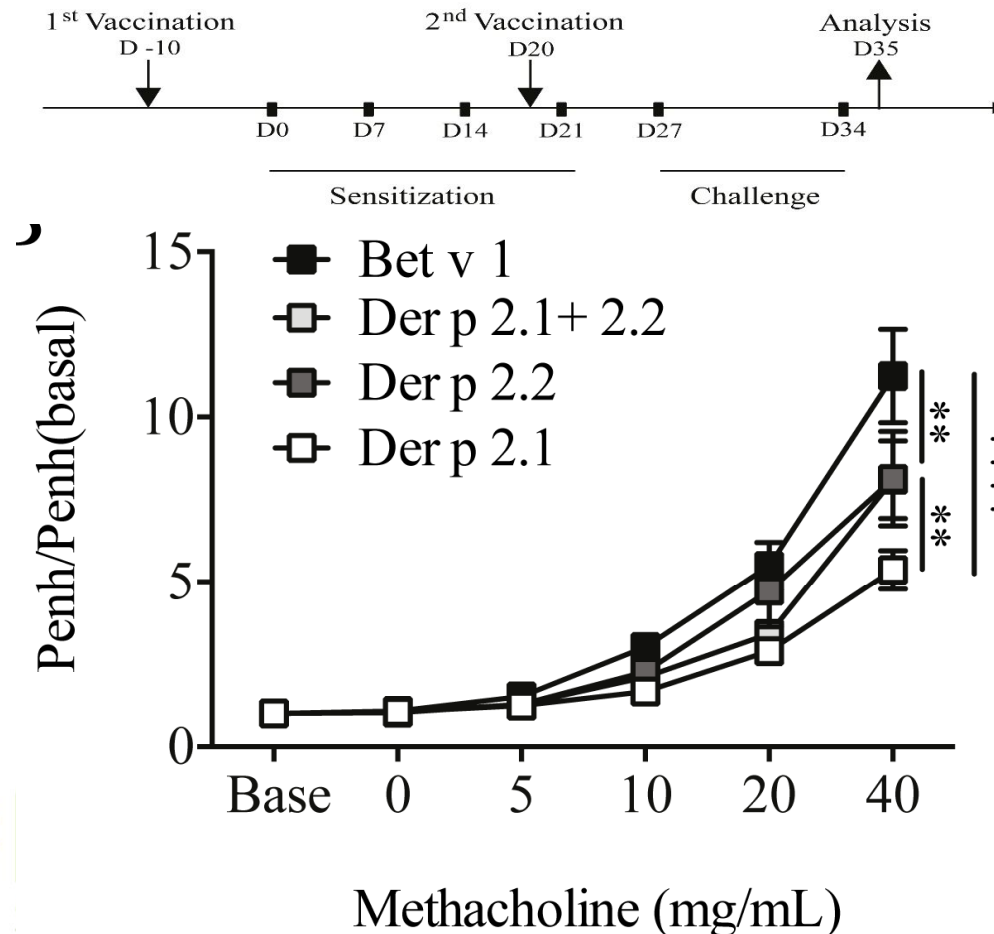
DerP2.2: acides aminées de 54 à 129



Immunothérapie peptidique

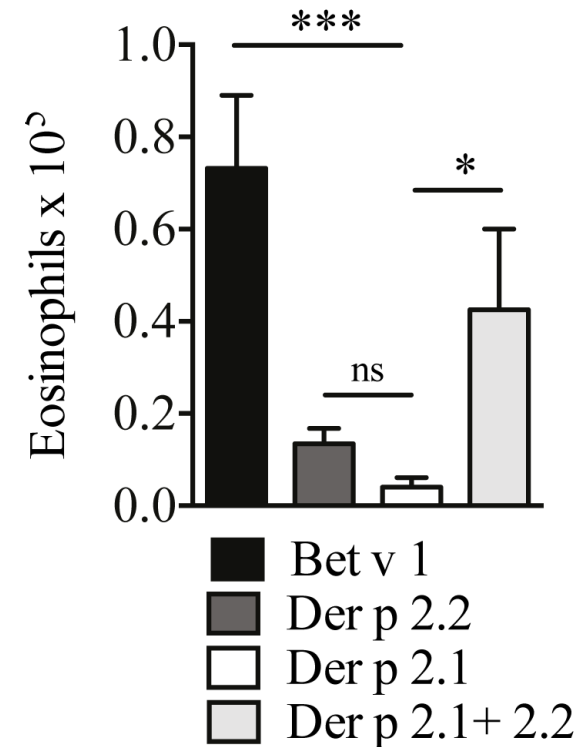
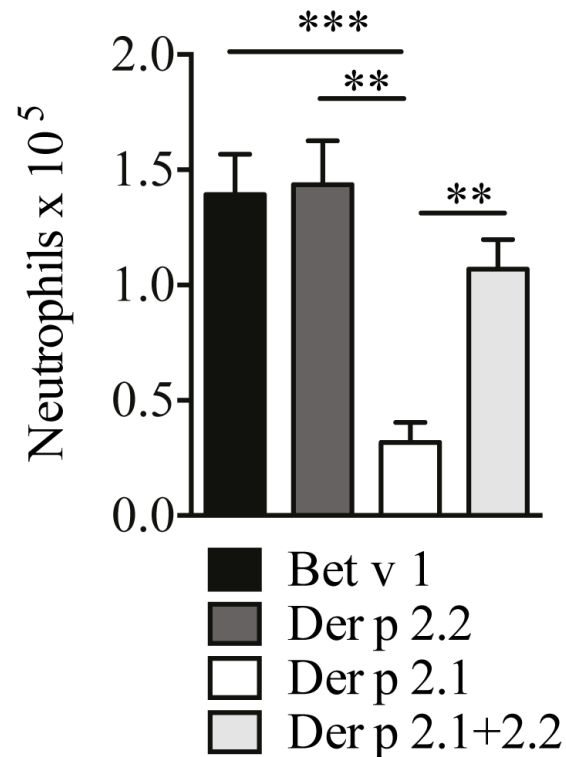
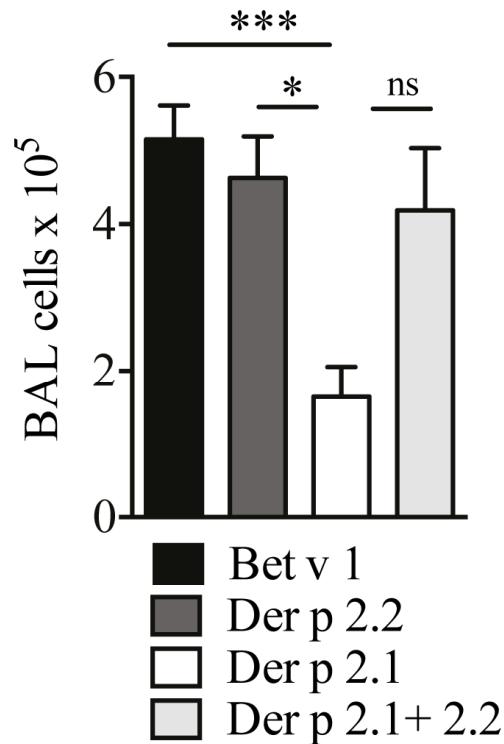
➤ Modèle d'asthme aux acariens

Vaccination : 2x avec Der P2.1, Der P2.2 ou les deux
(Bet V1, allergène de pollen comme control)



Immunothérapie peptidique

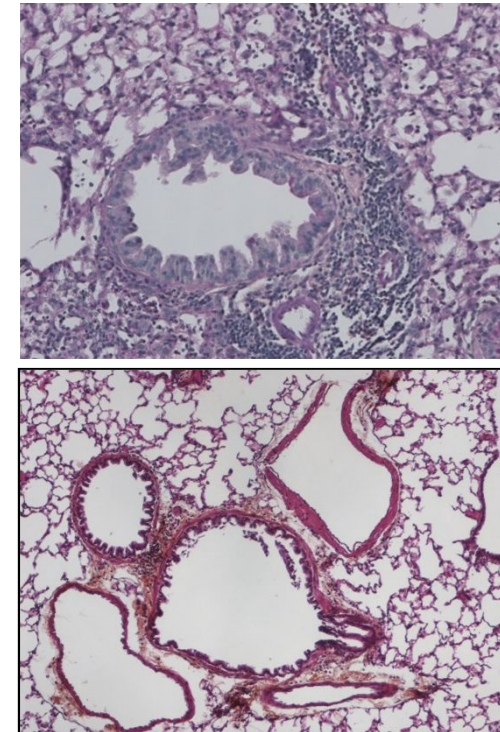
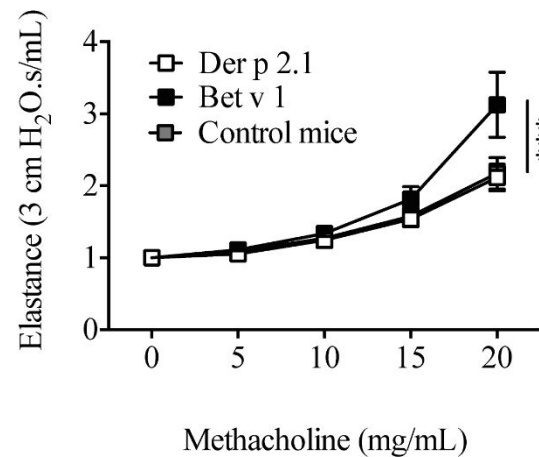
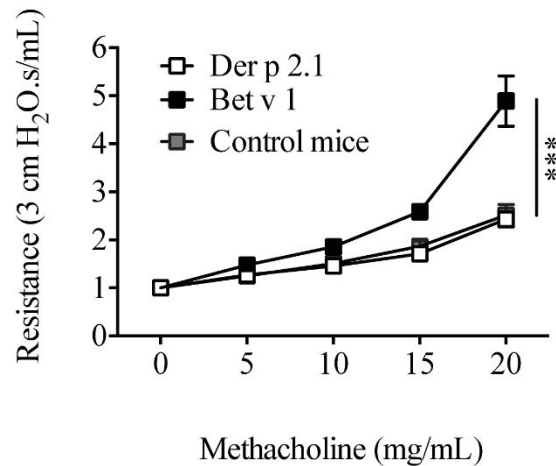
➤ Modèle d'asthme aux acariens : infiltrat.



Diminution du nombre de cellules, des neutrophiles et eosinophiles avec DerP2.1.

Immunothérapie peptidique

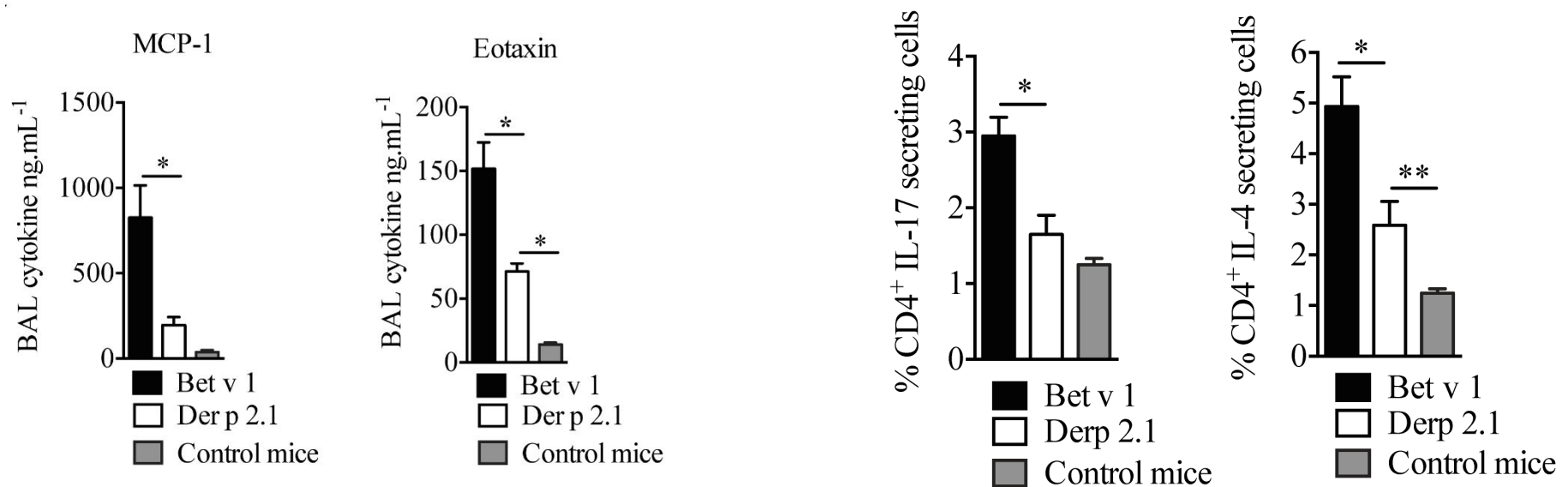
➤ Modèle d'asthme aux acariens : Physiologie



Diminution de la résistance (niveau de constriction) et de l'élastance (capacité élastique).

Immunothérapie peptidique

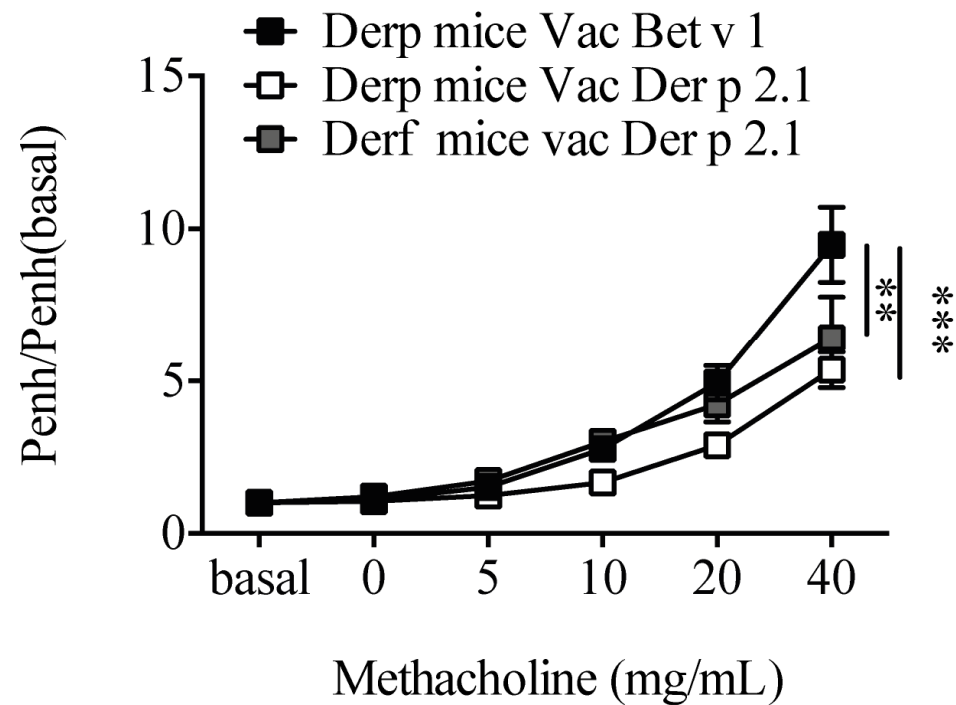
➤ Modèle d'asthme aux acariens : Immunité



Diminution des chimiokines MCP-1 (CCL2) et Eotaxine (CCL11, éosinophiles) ainsi que des réponses Th17 et Th2.

Immunothérapie peptidique

➤ Pour aller plus loin



Diminution de l'asthme induit par Derf

Prophylaxie/ thérapeutique : Anticorps monoclonaux

➤ **l'origine des biothérapies actuelles :**

➤ **Anti-IL5** : Mepolizumab, Reslizumab, Benralizumab*

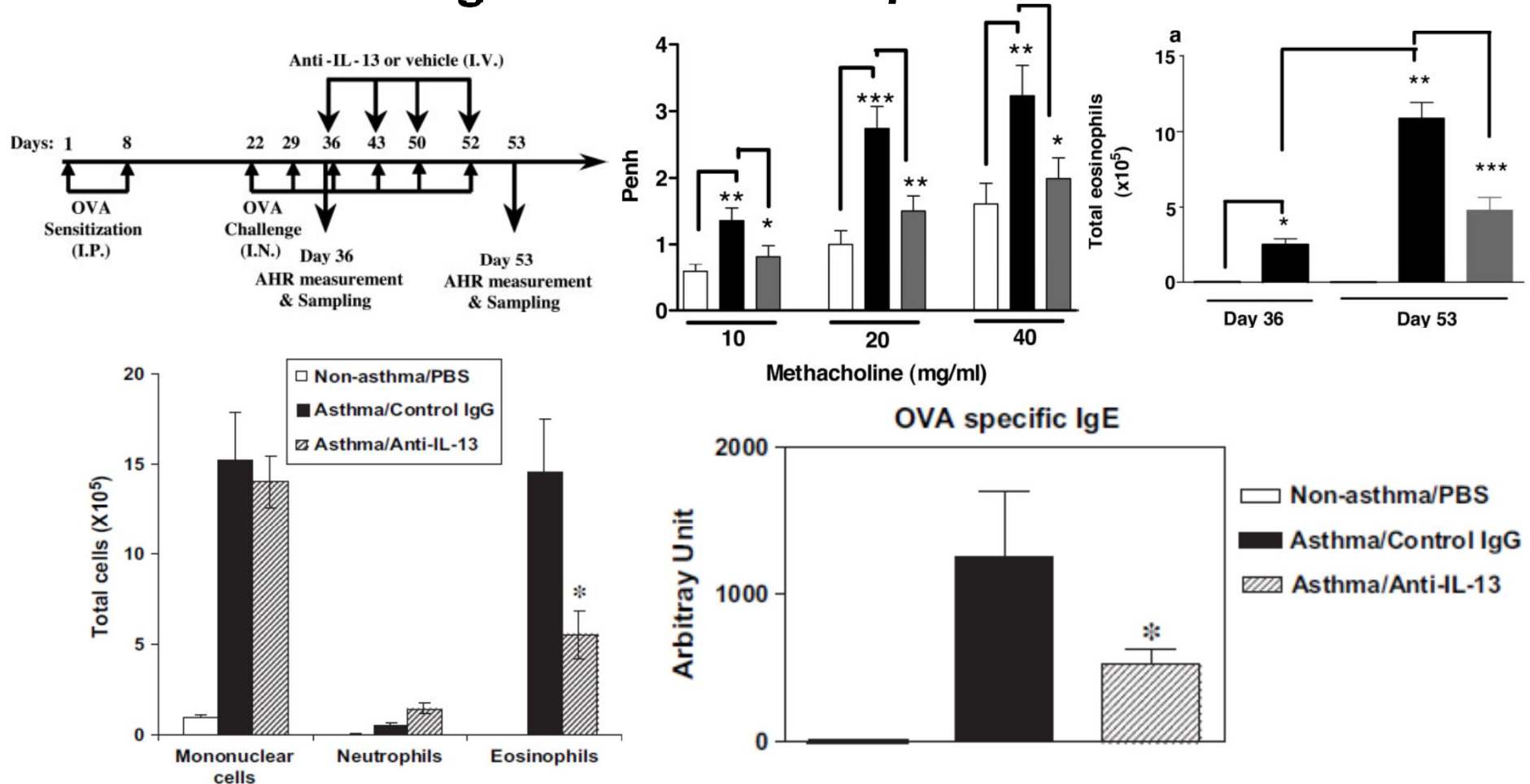
➤ **Anti IL4/IL13**: Dupilumab*

➤ **Anti-IL13** : Lebrikizumab*, Tralokinumab*

➤ **Anti-IgE** : Omalizumab

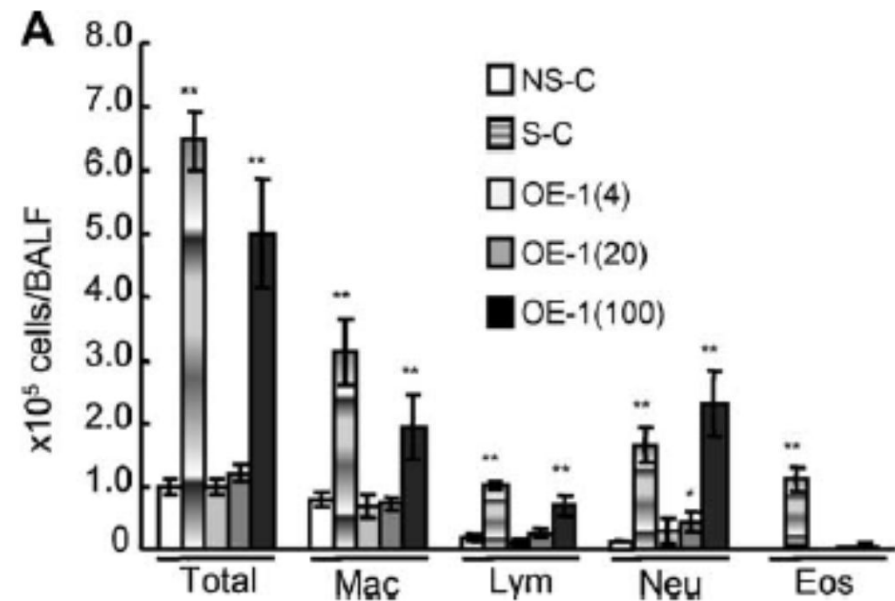
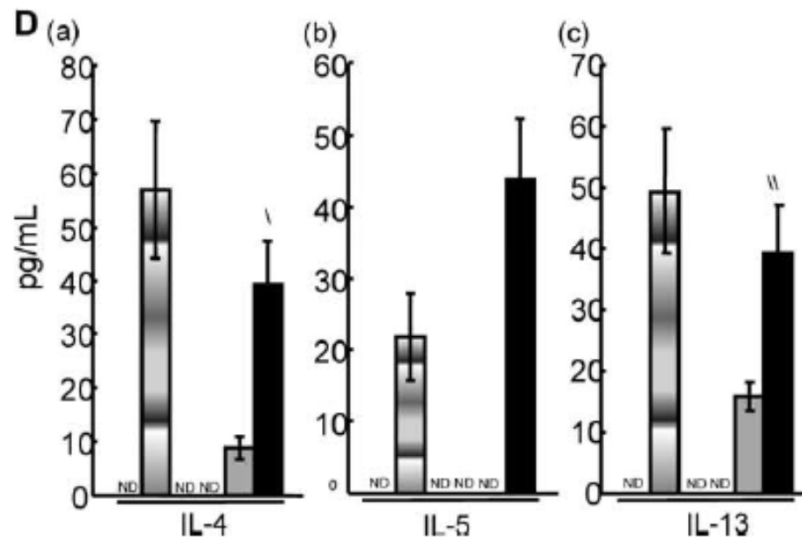
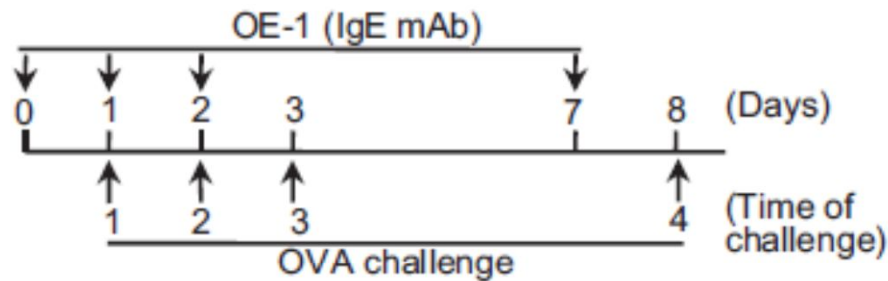
Prophylaxie/ thérapeutique : IL-13

➤ l'origine des biothérapies actuelles :



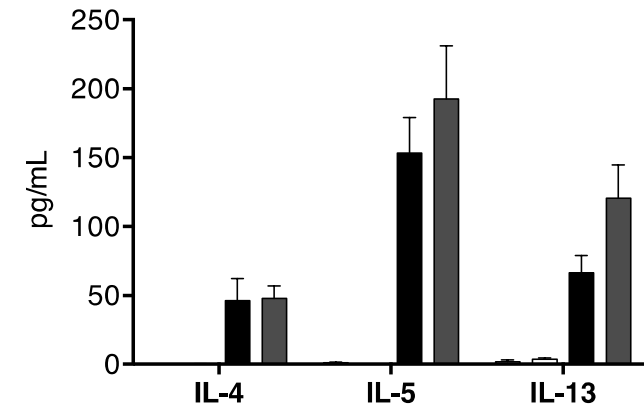
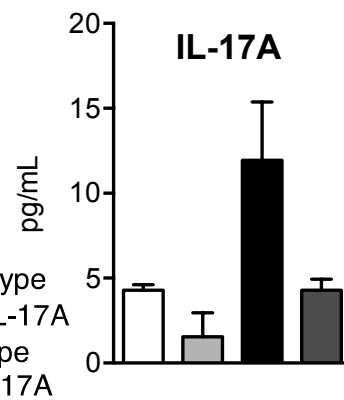
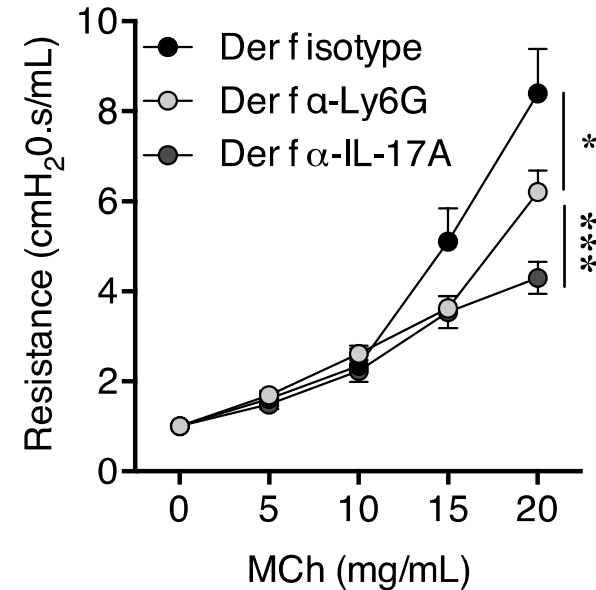
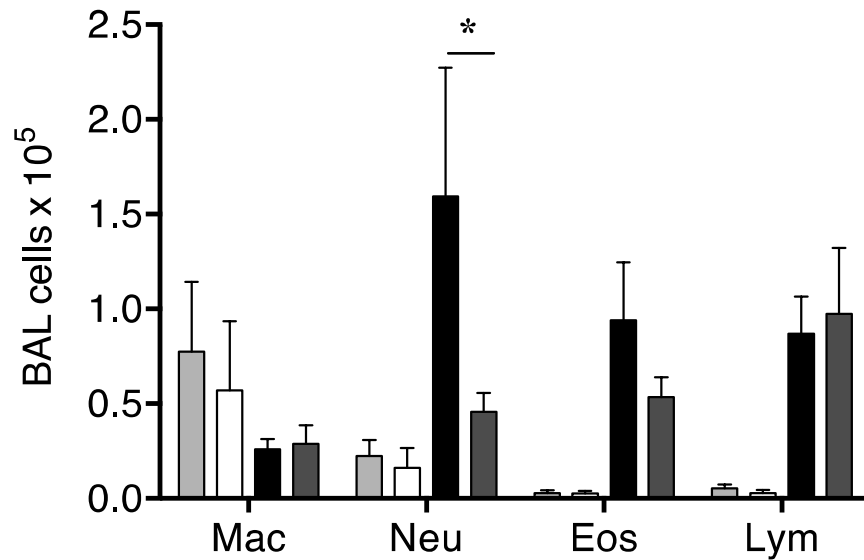
Prophylaxie/ thérapeutique : IgE

➤ l'origine des biothérapies actuelles :



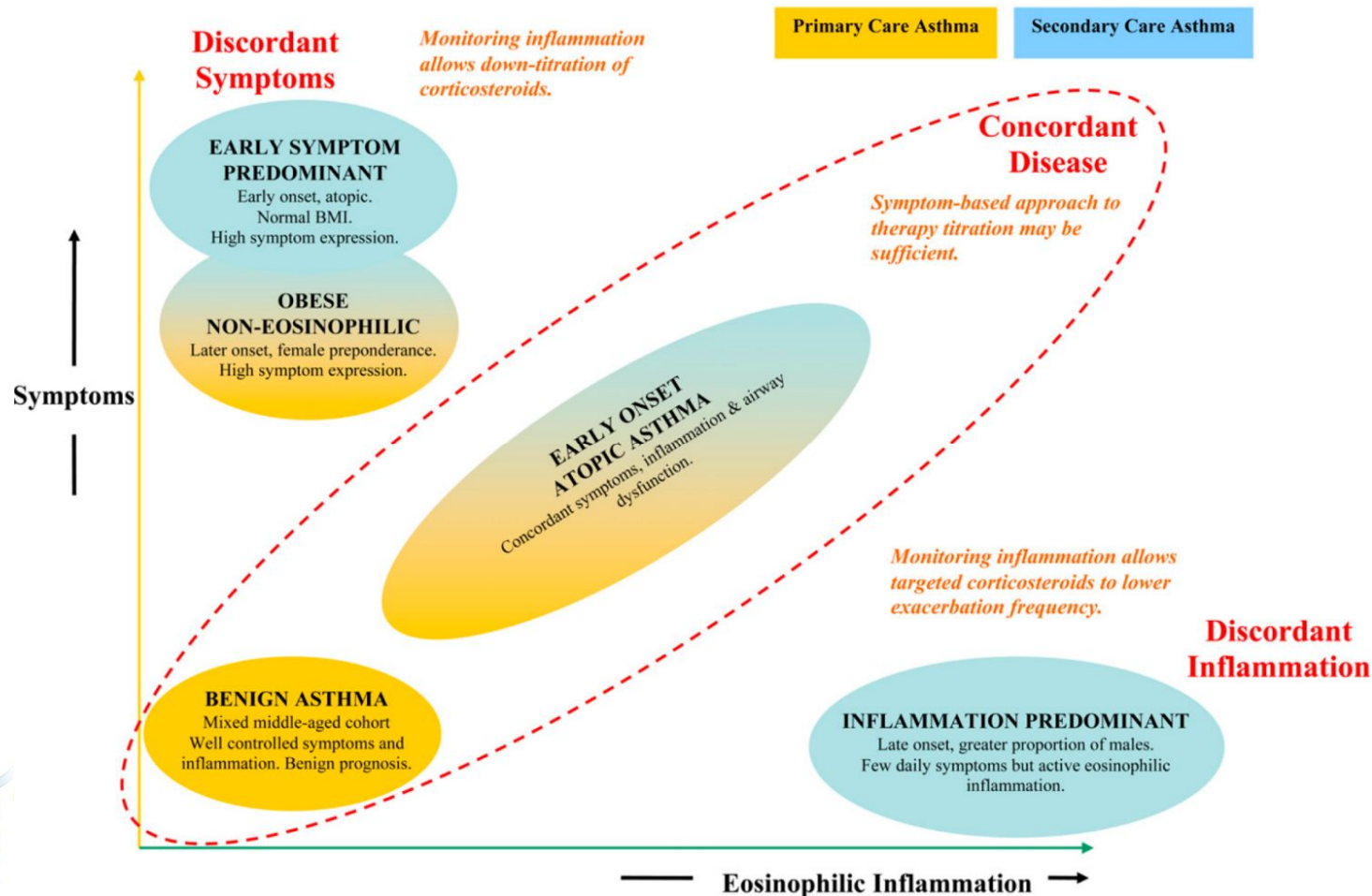
Prophylaxie/ thérapeutique : IL-17

➤ l'origine des biothérapies actuelles :



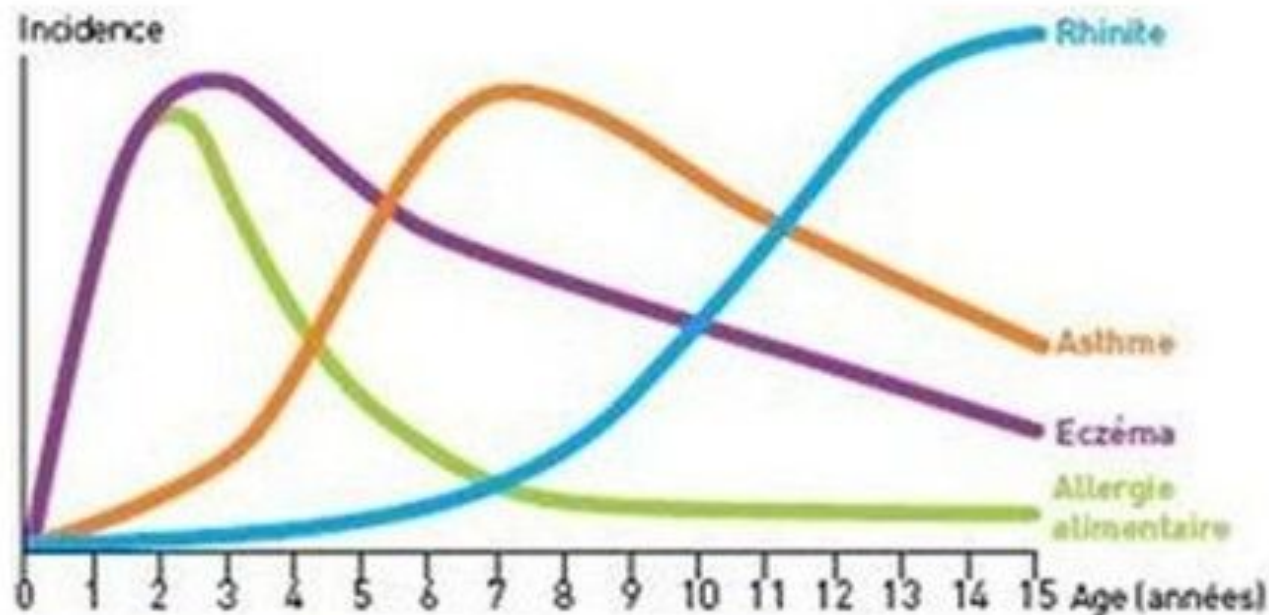
Modèles animaux d'allergie

Limites : Plusieurs forme d'asthmes et modèle, Co facteurs pas ou peu pris en compte, Exposome pas ou peu pris en compte



Modèles animaux d'allergie

➤ **Modèle de marche atopique**



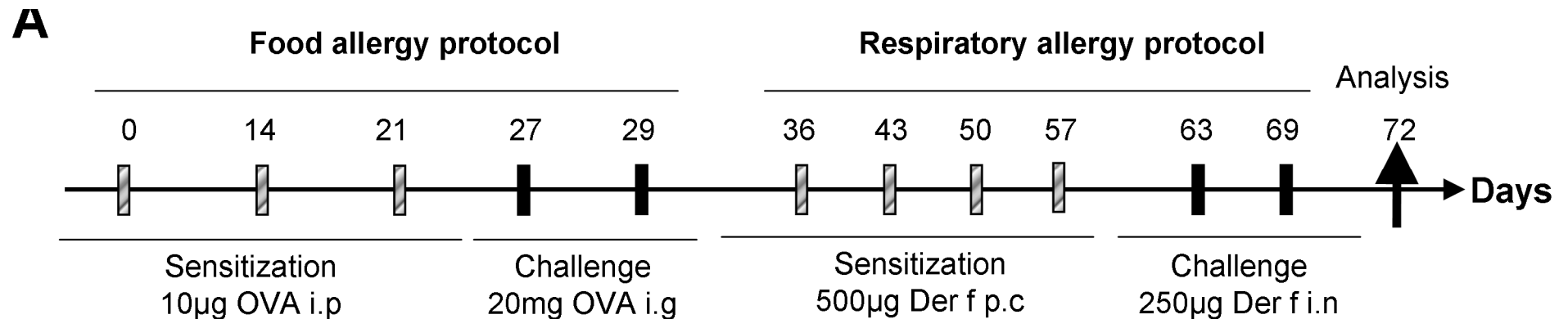
Marche atopique : Transfert de symptômes d'origine alimentaire (dermatite, AA) à des symptômes d'origine respiratoires (asthme, rhinite)



Marche atopique

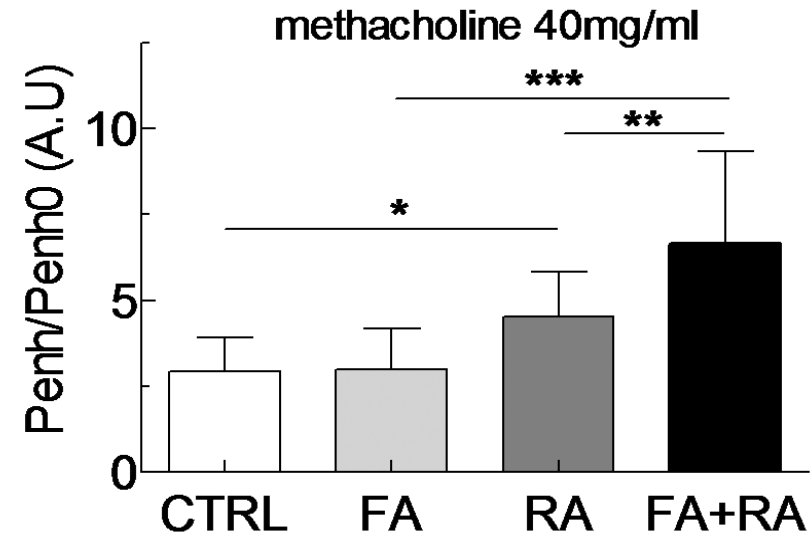
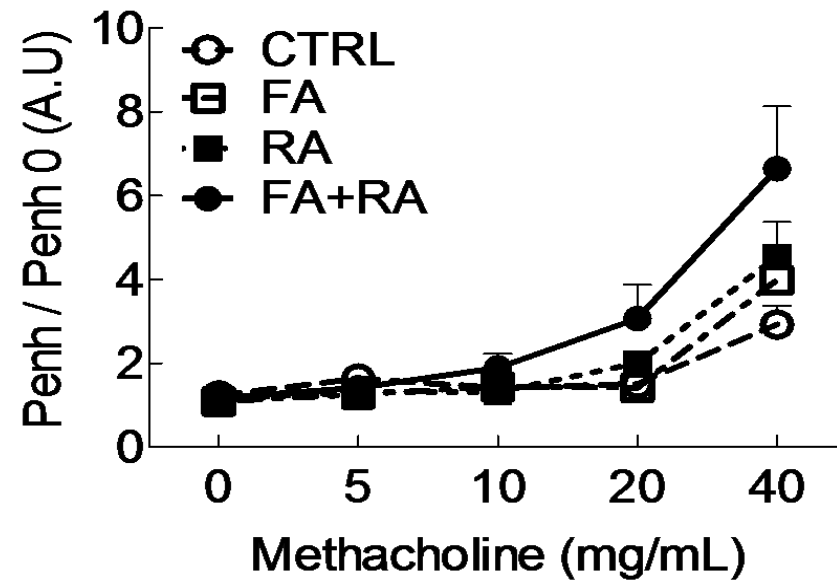
➤ Effet d'une allergie alimentaire sur la survenue et le développement de l'asthme allergique

➤ Mise au point d'un modèle d'allergie successive mimant la marche atopique : Recherche de biomarqueurs de prédisposition et étude des mécanismes immunologiques



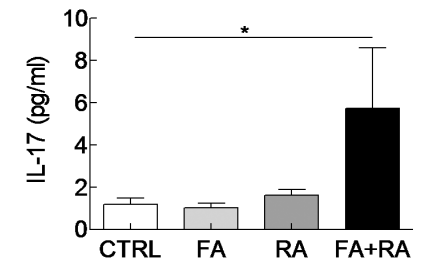
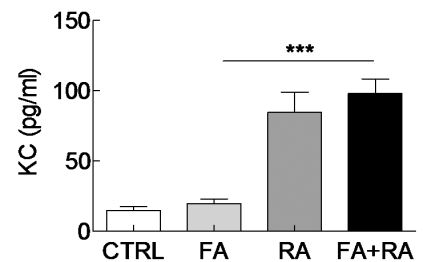
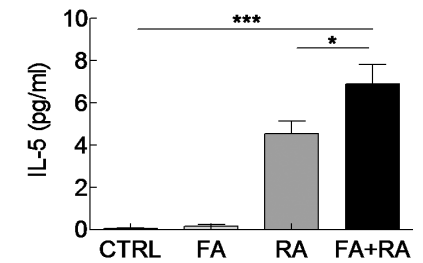
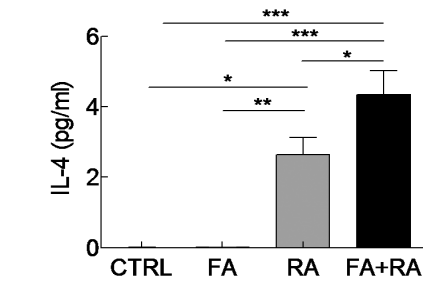
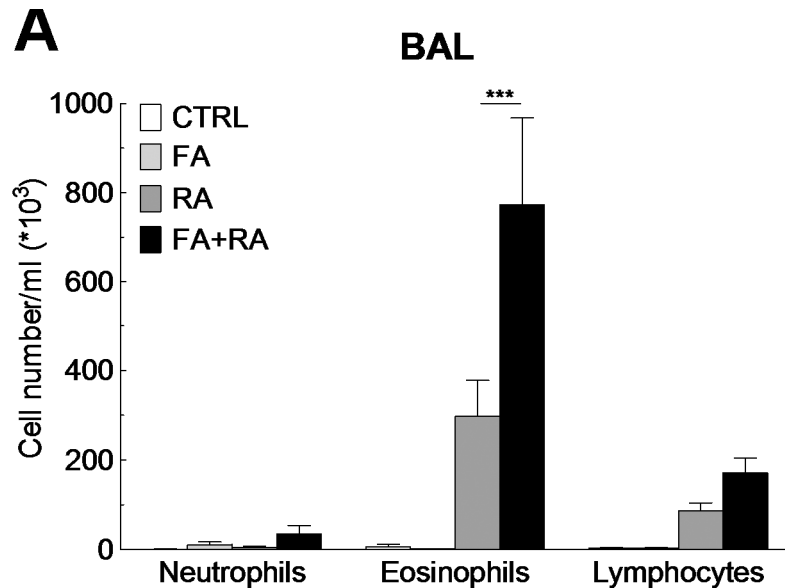
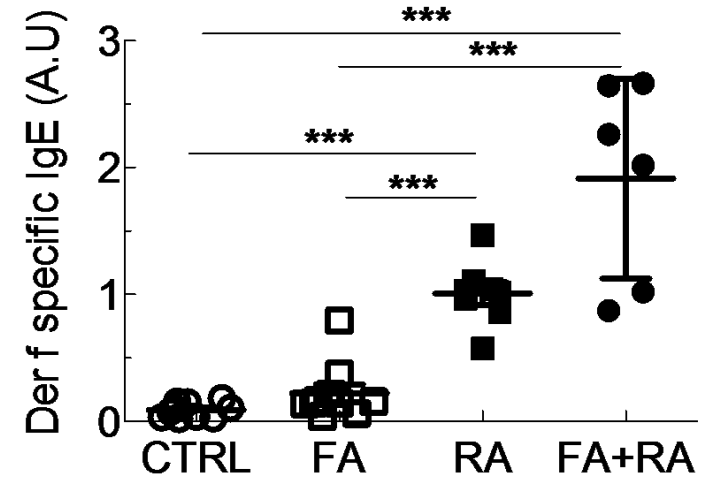
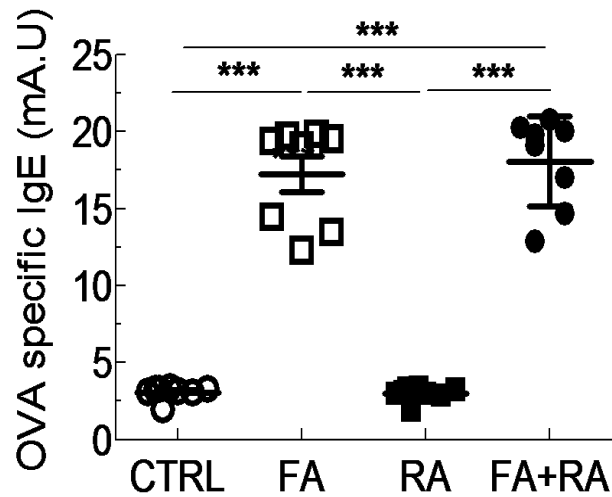
Marche atopique

➤ Fonction respiratoire



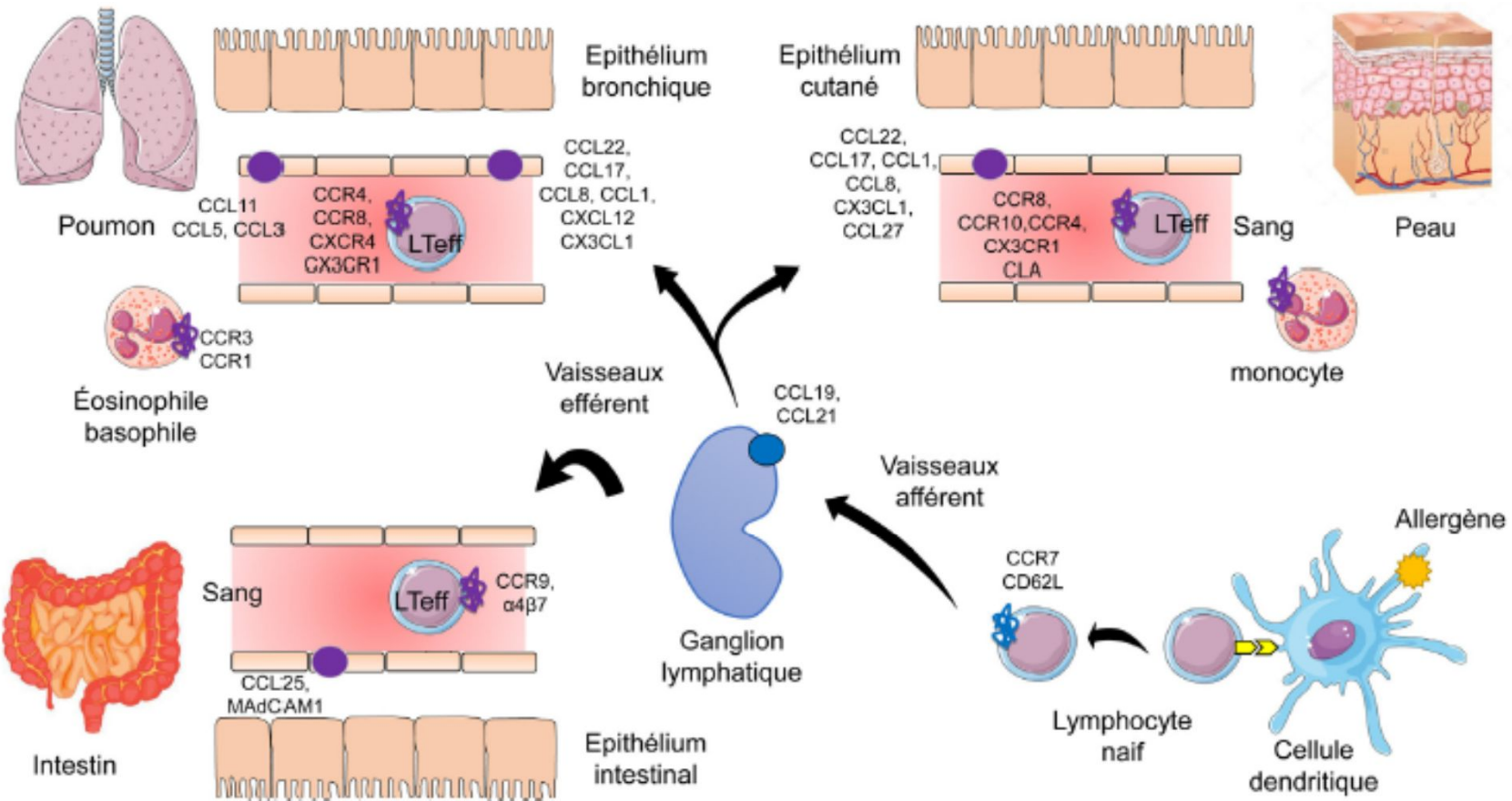
Marche atopique

➤ Inflammation



Marche atopique

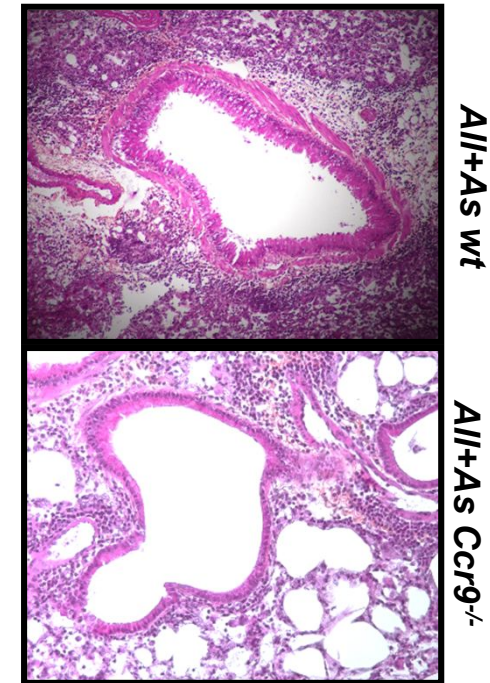
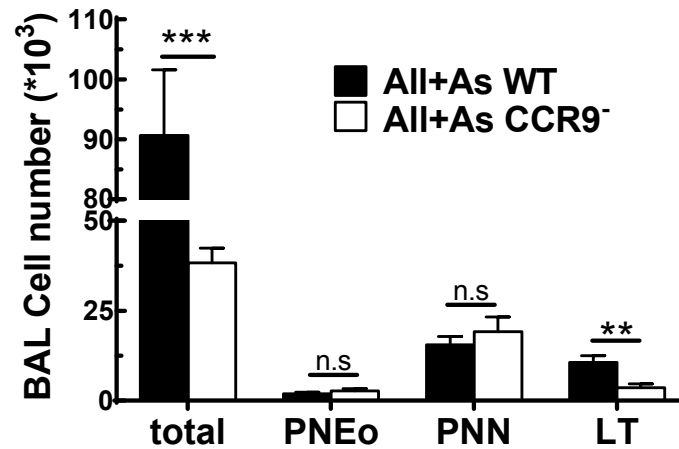
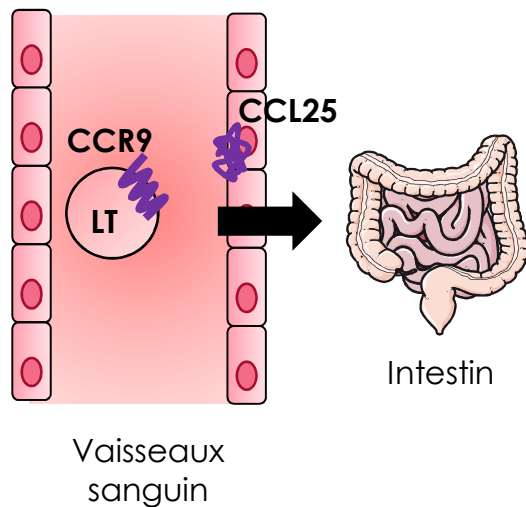
➤ Récepteur de domiciliation cellulaire



Castan *et al.*, *Allergy* 2017

Marche atopique

➤ Rôle de CCR9



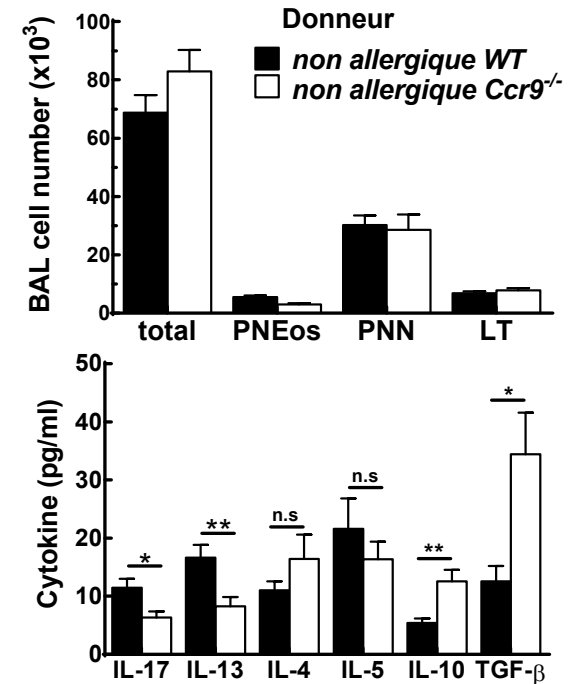
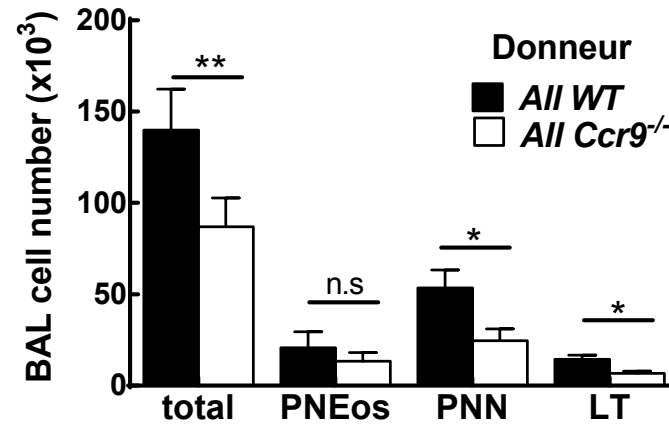
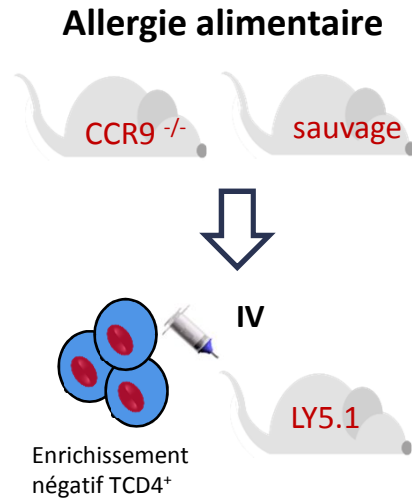
➔ L'inactivation du gène CCR9 abroge l'aggravation de l'asthme par l'allergie alimentaire.

Castan *et al.*, *Allergy* 2018

3

Marche atopique

➤ Rôle de CCR9

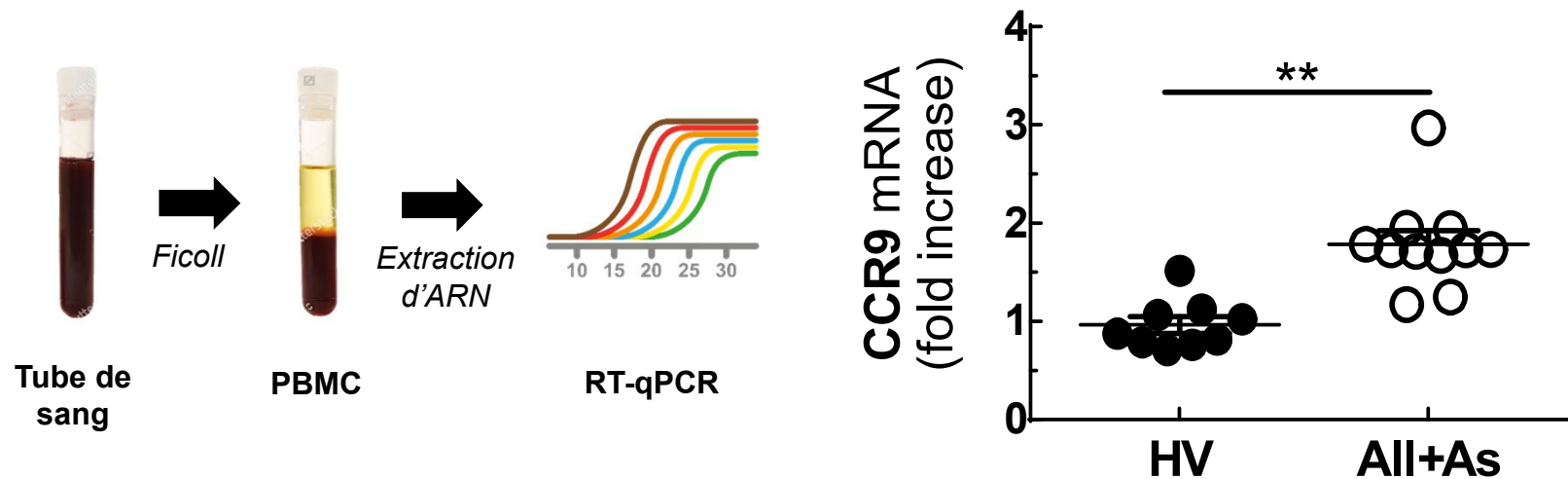


➔ Le transfert de lymphocytes CD4⁺CCR9⁺ issues de souris allergiques alimentaire mime le phénotype d'aggravation de l'asthme par l'allergie alimentaire

Castan *et al.*, *Allergy* 2018

Marche atopique

➤ Chez l'homme



CCR9 pourrait représenter un cible pour stopper ou prévenir la progression de l'allergie

Castan *et al.*, *Allergy* 2018

3

Conclusion

Among all models, mice is the one which is most advantageous (cost, size, easy, reproducibility...)

BUT

**not perfect (not spontaneous, depend on the protocol used to induce allergy)
DATA Extrapolation has to be done carefully**

**Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology
Mestas et al., The Journal of Immunology 2004**