

# Établissement du microbiote intestinal en bas âge et qualité de l'immunité ultérieure

Implementation of the intestinal micro flora in the early stage and adequate immunity later on

J.-P. Langhendries, P. Maton, A. François, A. Marguglio, W. Marion, S. Smeets, P. Philippet

CHC-Site St Vincent, NICU, Rue François Lefèbvre 207, Liège-Rocourt, Belgique

Disponible en ligne sur

 **ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

## Summary

The pre and postnatal development of human immunity are remarkably continuous. The feto-placental unit builds up to promote a climate of immune tolerance specifically driven in this way by the maternal immunity. The process of birth triggers the development of the infant's postnatal immunity, in first place through the bacterial colonisation of a sterile intestinal mucosa. The progressive immune response stabilisation at the sub-mucosa level during the first year of life will arise from the interface between the host and its microflora. It will take place progressively and will occur thanks to a variety of successive and complementary very complex immune mechanisms, under the influence of a rich and diversified intestinal microbiota. Solid scientific arguments allow hypothesising that immune deviances later in life could be the consequence of an inadequate bacterial pressure on the intestinal mucosa at the early stage. A variety of epigenetic modifications taking place in this early stage could account for the deviant programming of later immunity. Each health care provider should acknowledge that some therapeutic and nutritional interventions during the first year of life may interfere with this complex immune development, giving rise to a risk of increasing immune deviances later on.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## Résumé

Le développement de l'immunité chez l'humain est un continuum remarquable. L'unité fœto-placentaire est tout entière construite pour assurer un climat de tolérance, guidé dans ce sens par l'immunité maternelle. L'établissement de l'immunité postnatale survient dès la naissance et est déclenché par l'envahissement bactérien sur des muqueuses intestinales *a priori* stériles mais préparées à subir cette invasion. La stabilisation progressive d'une réponse immunitaire encore immature dans le jeune âge découle de l'interface étroite de l'hôte et de sa flore. Elle est assurée par des mécanismes de régulation extrêmement complexes qui commencent à être mieux connus. Le contrôle de cette réponse est la résultante d'une stimulation bactérienne permanente et hautement diversifiée. Des arguments scientifiques solides permettent de laisser pressentir que l'origine des déviances immunitaires en perpétuelle augmentation peut être liée à une inadéquation de cette pression bactérienne en bas âge. Ces déviances seraient alors la conséquence de modifications épigénétiques au niveau des gènes régulateurs de l'immunité. Il apparaît dès lors important que les acteurs de la santé prennent conscience de ces données et essaient de moduler leurs attitudes thérapeutiques et nutritives en conséquence.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** Nouveau-né, Immunité, Flore périnatale, Microbiote, Allergie, Maladies auto-immunes, Nutrition, Épigénétique

\* Auteur correspondant.  
e-mail : Jean-paul.langhendries@chc.be

## 1. Introduction

L'allaitement maternel exclusif et prolongé est le meilleur gage de l'implantation intestinale optimale d'une flore fermentante décrite comme le microbiote digestif idéal. Les arguments sont solides qui soulignent le rôle important qu'une colonisation bactérienne adéquate de l'intestin stérile du nouveau-né exerce sur son homéostasie immunitaire ultérieure [1-3]. L'hypothèse hygiénique réactualisée montre que l'infection ou le contact avec des endotoxines de toute nature en bas âge, y compris d'origine animale, sont des éléments protecteurs du risque d'aberrations immunitaires ultérieures [4-6]. Elle est à la base de l'intérêt scientifique porté aux bactéries qui envahissent les muqueuses néonatales. C'est en effet le seul moment de la vie de l'humain où cet envahissement bactérien se déroule sur des muqueuses stériles.

Si l'impact de ces bactéries est déterminant, ainsi qu'il sera montré plus en avant, il convient toutefois de rester prudent tant il apparaît tout aussi clairement que les origines des désordres de l'immunité en perpétuelle augmentation sont probablement multifactorielles. En outre, les résultats en faveur de la place de l'infection en bas âge sur le contrôle de l'immunité sont avant tout le fait de données épidémiologiques non à l'abri de facteurs confondants [4]. De surcroît, la puissance des études prospectives visant à analyser l'effet positif d'une optimisation de l'envahissement bactérien intestinal du nouveau-né par divers moyens, dont notamment l'usage de probiotiques, de prébiotiques ou de leur combinaison symbiotique, est largement insuffisante ce qui peut expliquer des résultats parfois contradictoires [7].

Le présent travail a pour but de faire le point sur ce rôle déterminant des bactéries intestinales dans le contrôle de la qualité de la réponse immunitaire et, notamment, dans le contrôle de l'acquisition de la tolérance à l'antigène alimentaire et de sa mémorisation. L'article sera divisé en quatre parties : I) l'homéostasie immunitaire anténatale et l'orientation de l'unité fœto-placentaire dans le sens de la tolérance ; II) la place des bactéries intestinales dans l'acquisition de l'homéostasie immunitaire post-natale ; III) les désordres de l'immunité plus tardive attribués à une inadéquation de ce contrôle précoce ; IV) les pistes de réflexion dans nos pratiques de prise en charge pour essayer de mieux appréhender voire de diminuer le risque de déviations immunitaires ultérieures de toute nature.

## 2. Homéostasie immunitaire anténatale

Sur la base de modèles expérimentaux, il est bien établi que la tolérance par la mère du matériel génétique exprimé par le

fœtus – lequel contient pour la moitié une origine paternelle – est rendue possible par la sécrétion très précoce par l'unité fœto-placentaire de cytokines de type Th2 humoral (IL-4 et IL-5) [2]. Chez l'humain, une augmentation significative d'IL-4 et d'IL-13 a été démontrée dès le début et au milieu de la grossesse, ainsi qu'une augmentation d'IL-10 et de TGF- $\beta$ , qui sont les cytokines sécrétées par les lymphocytes régulateurs ( $T_{regs}$ ). Ce climat immunitaire de type humoral est accentué au cours du troisième trimestre par le passage actif des immunoglobulines d'origine maternelle lesquelles vont assurer une protection passive du nouveau-né après la naissance. Des travaux très récents montrent que la balance immunitaire *in utero* est largement en faveur de l'acquisition de la tolérance, ce qui permet la reconnaissance par le fœtus de ses propres cellules mais aussi lui permet de tolérer le passage trans-placentaire de cellules maternelles [8]. La mère semble jouer un rôle fondamental dans cet apprentissage de la tolérance [8,9]. Cela est rendu possible par la genèse par le fœtus d'une lignée cellulaire abondante de lymphocytes CD4+ CD25+ qui expriment le facteur de transcription Foxp3+. Ce sont des lymphocytes régulateurs natifs ( $nT_{regs}$ ) d'origine thymique à différencier des lymphocytes régulateurs induits ( $iT_{regs}$ ) qui ne sont pas d'origine thymique et se retrouvent surtout au niveau du chorion sous-muqueux. Ces deux classes expriment toutefois ce même facteur de transcription.

L'ambiance immunitaire durant la grossesse permet donc l'acceptation du fœtus par la mère en empêchant toute réponse de type Th1, laquelle entraînerait un avortement. Le fœtus est, en outre, exposé à une variété d'antigènes autres que maternels, antigènes environnementaux auxquels la mère est exposée et dont certains épitopes peuvent passer la barrière placentaire pour se retrouver dans le liquide amniotique [2]. Au niveau des muqueuses digestives, le fœtus est donc sensibilisé à ces antigènes suite à la déglutition du liquide amniotique qui les contient. La connaissance de ces nouvelles données d'exposition antigénique anténatale et du climat de tolérance qui y est associé pourrait faire penser que ce contact du fœtus avec ces antigènes environnementaux est de nature à en favoriser la tolérance [8]. Plusieurs analyses récentes envisageraient une prévention anténatale possible de certaines déviations atopiques [10] sur la base de ces constatations. Il apparaît cependant que l'orientation humorale au cours de la grossesse ne favorise pas la mémorisation de cette tolérance d'un antigène d'origine environnementale et donc n'appartenant pas au fœtus. Cette acquisition et mémorisation de tolérance d'un antigène environnemental semblent nécessiter une réponse cellulaire ( $Th1$ ) contrôlée qui n'est possible qu'en période postnatale [11-13]. Les futures découvertes permettront peut-être de trancher sur cette

possibilité ou non d'acquérir la tolérance à un antigène environnemental en période anténatale. Quoiqu'il en soit, à ce stade de nos connaissances, il est d'ores et déjà certain qu'il n'y a aucune raison d'envisager une éviction à l'exposition antigénique durant la grossesse pour espérer une prévention des désordres immunitaires postnatals [14].

### 3. Bactéries colonisantes et leur place dans l'acquisition postnatale de la tolérance à l'antigène alimentaire, une des étapes clés de la stabilisation immunitaire ultérieure

La découverte de l'importance de la colonisation bactérienne initiale sur l'induction immunitaire est attestée par l'existence chez l'animal « *germ-free* » d'un développement retardé des plaques de Peyer, d'un nombre réduit de lymphocytes (cellules T CD4+ et CD8+), ainsi que de son incapacité à acquérir une tolérance alimentaire, même après un rétablissement tardif, à l'âge adulte, de la flore intestinale [3]. Les bactéries jouent en effet un rôle important dans le développement du GALT (*Gut-associated Lymphoid Tissues*), par l'intermédiaire de l'information transmise à l'entérocyte et à la cellule M. Certaines études expérimentales soulignent l'influence des bactéries sur l'expression génique précoce de l'entérocyte néonatal, induisant l'établissement progressif de véritables niches spécifiques de chaque bactérie par une glycosylation particulière du glycocalyx sous l'effet d'une action enzymatique bactérienne [1]. Ceci est l'amorce d'un véritable « dialogue » qui va se constituer entre la bactérie et la cellule épithéliale et se maintenir toute la vie [15-17]. La place de l'entérocyte et des cellules M épithéliales dans l'information qu'elles transmettent aux cellules dendritiques du chorion sous-muqueux (aussi appelées cellules présentatrices d'antigène (CPA)), de même que celle privilégiée des lymphocytes intra-épithéliaux  $\gamma\delta$ TCD8+ de type suppresseur, sont autant d'éléments déterminants dans l'initiation de l'interface entre immunités innée et adaptative. Leurs fonctions respectives ont déjà fait l'objet d'une description détaillée antérieurement [18] et vont permettre deux réponses *a priori* opposées : I) l'initiation des mécanismes de défense vis à vis des bactéries pathogènes par une activation précoce des immunités cellulaires (Th1), humorales (Th2) [19-22] mais aussi d'un nouveau sous-groupe de lymphocytes effecteurs CD4+, les lymphocytes Th17 [23] ; II) la mise en place des lymphocytes régulateurs induits (Th3, Tr1, et CD4+ CD25+) capables de contrôler une réponse excessive de ces trois bras de l'immunité adaptative [24-29]

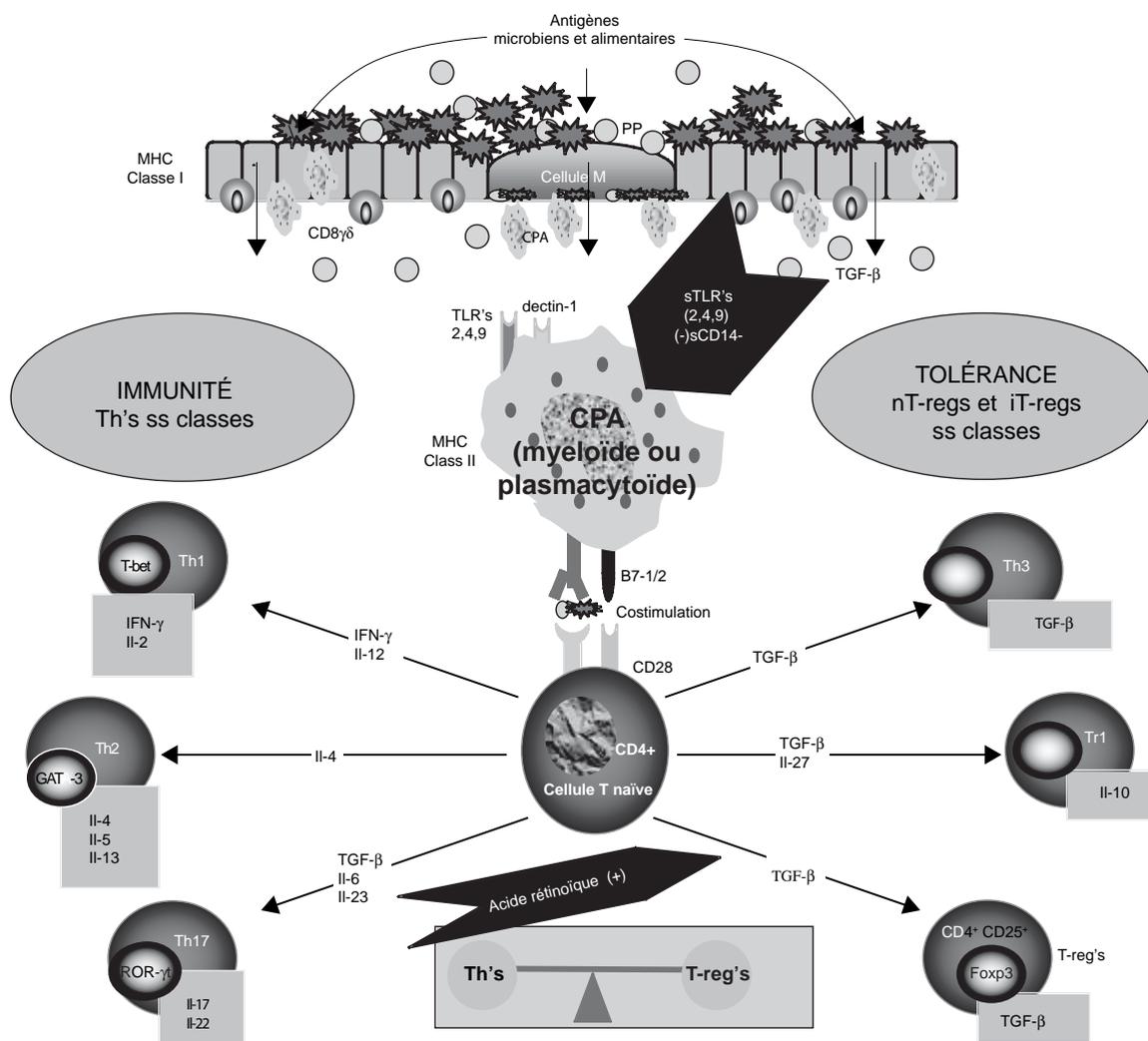
(fig. 1). Ces deux réponses conjointes, permettant tout à la fois défense immunitaire et régulation de son excès, vont au cours des premières semaines et mois devoir trouver un équilibre. Paradoxalement, c'est la pression permanente exercée par ces masses bactériennes sur la muqueuse intestinale, situation nulle part ailleurs rencontrée, qui va permettre dans le même temps l'acquisition progressive d'une tolérance de la flore commensale [30] mais aussi l'acquisition de la tolérance à l'antigène alimentaire qui subit une exposition antigénique parallèle à celle des bactéries. La mémorisation de ces tolérances à l'antigène alimentaire, constituant une étape-clé de stabilisation immunitaire ultérieure, sera acquise suite à l'équilibre établi. L'inadéquation de la mise en place de cet équilibre pourra être à l'origine des désordres immunitaires ultérieurs, soit de type allergique, soit de type auto-immunitaire.

La découverte des lymphocytes CD4+ Th17 comme agents pro-inflammatoires déterminants au niveau des muqueuses a permis paradoxalement de mieux comprendre l'auto-contrôle de la réaction immunitaire excessive à ce niveau *via* la stimulation parallèle des lymphocytes régulateurs induits CD4+ CD25+ (iT<sub>regs</sub>), lesquels expriment au niveau des muqueuses le facteur de transcription Foxp3 [23,31]. L'IL-17, la cytokine sécrétée par les lymphocytes Th17, est un agent pro-inflammatoire qui stimule la migration des neutrophiles et des macrophages. L'excès de sécrétion de l'IL-17 par le lymphocyte Th17 sous l'influence du facteur de transcription nucléaire ROR $\gamma$ t est responsable de l'émergence de certaines maladies auto-immunitaires [25]. De façon surprenante cependant, la cytokine TGF- $\beta$  qui stimule la transformation du lymphocyte CD4+ naïf en lymphocyte Th17 pro-inflammatoire est la même que celle qui stimule la transformation de ce même lymphocyte naïf CD4+ en un lymphocyte régulateur induit iT<sub>reg</sub> [25-27]. L'explication de l'origine de ces effets opposés réside dans l'effet concentration-dépendant induit par cette cytokine sur l'orientation du lymphocyte naïf ainsi que dans la combinaison de l'action conjointe d'autres cytokines, l'IL-6 et l'IL-23 [27]. À faible concentration, la cytokine TGF- $\beta$  favorise, en combinaison avec l'IL-6 et l'IL-23, l'expression des lymphocytes CD4+ Th17 pro-inflammatoires. À l'inverse, sous l'influence de grosses concentrations de TGF- $\beta$  et en l'absence des autres cytokines, ces lymphocytes effecteurs naïfs sont dirigés vers la transformation en cellules régulatrices induites iT<sub>regs</sub> exprimant le facteur Foxp3+.

La mise en évidence au niveau du chorion sous-muqueux de ce nouveau profil de cellules iT<sub>regs</sub>, associées à d'autres cellules régulatrices connues comme les Th3 et Tr1, est une découverte essentielle qui a permis de mieux appréhender le contrôle de l'équilibre des réactions Th1, Th2 et Th17. La transformation

directe du lymphocyte T naïf CD4+ en ces différentes cellules régulatrices suppressives permet un contrôle rapide de l'excès de l'une ou de l'autre réponse (« *Bystander suppression* », suppression sentinelle). La mise en route de cette fonction suppressive par l'intermédiaire de ces différentes cellules régulatrices (Th3/Tr1/CD25+) se fait donc surtout sous l'impulsion permanente du matériel bactérien intestinal *via* les *Toll-like receptors* (TLR's), notamment TLR2, TLR4, TLR9 qui paraissent jouer un rôle déterminant [22,28,29,32,33]. L'action suppressive de ces cellules régulatrices est rendue possible grâce à l'élaboration locale de deux cytokines, l'IL-10 et le TGF- $\beta$  (fig. 1). Différents autres mécanismes interviennent également dans le contrôle de la transformation du lympho-

cyte CD4+ naïf en une cellule suppressive. Parmi ceux-ci, il faut citer les prostaglandines PGE2 [34], les TLRs sécrétatoires solubles (sTLR's) et les glycoprotéines CD14's sécrétatoires solubles (sCD14's) ainsi que la vitamine A [35]. La majorité de ces cellules lymphocytaires suppressives d'origine CD4 expriment en effet une cyclo-oxygénase de type 2 (COX-2) [36]. Les prostaglandines PGE2 issues de leur métabolisme sont déterminantes dans la suppression de la possible orientation effectrice du lymphocyte CD4+ naïf [34,36]. Les sTLR's excrétés dans le milieu extracellulaire suite à leur saturation par les bactéries, ainsi que ces autres glycoprotéines sécrétatoires que sont les sCD14+, exercent également un effet régulateur sur la réponse pro-inflammatoire en contrôlant la transfor-



**Figure 1. Interaction antigénique sur la muqueuse intestinale et homéostasie immunitaire du chorion sous-muqueux : le rôle déterminant des bactéries sur l'orientation de l'immunité.**

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène ; TLR : *Toll Like Receptor* ; sTLR : *Toll Like Receptor* sécrétatoire soluble ; MHC : *Major Histo-compatibility Complex* ; CD : *Cluster of Differentiation* ; IFN : *Interferon* ; IL : *InterLeukines* ; iTregs : cellules T régulatrices induites ; nTregs : cellules T régulatrices natives ; TGF : *Transforming Growth Factor*.

mation de ces cellules potentiellement effectrices en cellules suppressives [32,33]. La vitamine A semble également jouer un rôle stabilisant déterminant *via* son produit de dégradation, l'acide rétinoïque [35].

La cytokine TGF- $\beta$  est donc un puissant inducteur des lymphocytes régulateurs induits  $iT_{reg}$  lorsqu'elle est présente en grosses concentrations et en l'absence d'autres cytokines. Sous la pression bactérienne continue et hautement diversifiée, exercée sur les muqueuses, et à l'origine de ces concentrations élevées de TGF- $\beta$  (l'entérocyte lui-même est capable de la synthétiser), cette cytokine permet l'orientation du lymphocyte CD4+ naïf en une cellule régulatrice exprimant le facteur de transcription Foxp3+ au détriment du ROR $\gamma$ t qui, au contraire, est le facteur de transcription pro-inflammatoire de différenciation des lymphocytes Th17 responsables de la synthèse de la cytokine pro-inflammatoire IL-17. Ainsi, les cellules suppressives de différents types (Tr1/Th3/CD25), dont la transformation dans ce sens est favorisée par le TGF- $\beta$ , jouent ce rôle fondamental de contrôle d'un excès de réaction de type Th1, Th2 ou Th17 (fig. 1).

Par conséquent, un fait capital est définitivement établi et mérite cette répétition de l'information : c'est tout à la fois pression et diversité bactériennes continues exercées progressivement par la flore intestinale sur le système immunitaire du chorion sous-muqueux qui sont une des clés explicatives de la mise en place des cellules régulatrices induites, ce système d'auto-contrôle entre réactions pro-inflammatoire et suppressive [27]. Certaines bactéries semblent d'ailleurs plus enclines que d'autres à stimuler harmonieusement la réponse immunitaire [23]. Cette balance équilibrée, qui résulte de la pression bactérienne diversifiée composée surtout de germes anaérobies, optimise du même fait la tolérance à l'antigène alimentaire qui subit le même processus de reconnaissance parallèle. Par ces mécanismes décrits, la flore commensale, atteignant son équilibre à la fin de la première année, diminue le risque d'allergie et empêche la mise en place des mécanismes auto-immunitaires. Tout cet équilibre qui se met en place dans les heures et mois qui suivent la naissance est crucial pour éviter tout emballement inflammatoire ultérieur et permettre notamment l'acquisition de la tolérance alimentaire.

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 [37]. 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 ni à l'établissement d'une tolérance optimale à l'antigène alimen-

taire, ni au contrôle d'un excès d'une réponse humorale Th2. La réponse humorale est également différente. La synthèse des sIgA – dont la stimulation est également assurée par le TGF- $\beta$  suite à son action sur les lymphocytes B – est retardée. Ce sont surtout des IgM que l'on retrouve dans les premières semaines au niveau du chorion sous-muqueux.

#### 4. Désordres immunitaires attribués à l'inadéquation de cette stimulation bactérienne

Ce risque de déviance paraît relever de l'épigénétique, qui peut se définir actuellement comme étant l'étude des changements héréditaires dans la fonction des gènes, sans altération de la séquence d'ADN [38]. Plus spécifiquement, il s'agit des phénomènes de méthylation excessive des séquences géniques et des modifications des histones, sous l'influence de facteurs environnementaux. C'est la base de ces mécanismes étudiés actuellement, lesquels expliqueraient que toute modification de l'épigénome dans la petite enfance pourrait, sous diverses influences, « programmer » l'augmentation de la susceptibilité d'un individu à exprimer des maladies à l'âge adulte, caractérisées par des déviations immunitaires de toute nature [39]. C'est dire combien cette nouvelle science suscitera à l'avenir un grand intérêt chez les néonatalogistes [38]. La diminution de la pression bactérienne et de sa diversité dans la petite enfance pourrait être associée à une persistance de la méthylation du gène de l'interféron gamma (INF- $\gamma$ ) du lymphocyte T naïf entraînant une diminution de la capacité de sécrétion de cette cytokine Th1, avec un risque associé d'augmentation de la réponse allergique [40]. Le maintien de la transformation du lymphocyte CD4+ naïf en une cellule régulatrice induite se fait sous l'influence du facteur de transcription Foxp3 (25-27). La méthylation excessive de certaines parties du locus de ce dernier, sous l'influence de mécanismes épigénétiques complexes, peut altérer le verrouillage de la fonction régulatrice et entraîner secondairement le basculement de celle-ci vers la fonction effectrice, à visée pro-inflammatoire Th17, favorisant ainsi certaines maladies auto-immunes [41,42]. Il existe un faisceau d'arguments épidémiologiques pour relier l'inadéquation de l'envahissement bactérien dans la jeune enfance avec le risque d'émergence ultérieure de déviations, particulièrement de type allergique. Ainsi, la réduction de la diversité microbienne dans la très petite enfance est constatée chez les enfants souffrant d'eczéma atopique [43]. Les enfants naissant par césarienne, dont la fréquence est

en permanente augmentation, paraissent avoir une modification significative de l'environnement bactérien intestinal durant les premiers mois [44]. La conséquence de cette modification d'implantation bactérienne suite à une naissance par césarienne pourrait expliquer la morbidité plus importante qui semble se développer chez eux, notamment sur le plan de l'acquisition de la tolérance alimentaire [45]. L'utilisation d'une antibiothérapie au cours de la première année de vie semble liée à un risque plus élevé de développer de l'asthme ultérieurement [46]. Ce risque serait lié à la modification de la pression bactérienne sur les muqueuses et apparaît en outre d'autant plus élevé s'il existe une répétition du traitement anti-infectieux durant cette période. Il n'existe, par contre, aucune preuve certaine que la manipulation bactérienne périnatale puisse influencer l'immunité ultérieure [7]. C'est donc plus la pression bactérienne intense et diversifiée, au sens large, exercée sur les muqueuses en bas âge, plutôt que la sélection de bactéries réputées moins agressives, qui semble être la clé de l'homéostasie immunitaire ultérieure.

## 5. Une meilleure connaissance des mécanismes régissant la tolérance à l'antigène alimentaire pourrait-elle modifier nos attitudes (traitement, nutrition) ?

### 5.1. Traitement

L'influence du mode d'accouchement sur la colonisation bactérienne du nouveau-né doit interpellier les obstétriciens et les pédiatres. L'augmentation des naissances par césarienne observée dans les pays occidentaux est préoccupante et répond à des causes multiples [47]. Elle ne peut en aucun cas être considérée comme une amélioration de la qualité de la médecine périnatale. L'attente d'une mise en route spontanée du travail doit rester l'approche privilégiée du déclenchement du processus physiologique conduisant à l'accouchement. Le déclenchement artificiel du travail sur un col utérin peu préparé est susceptible d'augmenter le nombre de césariennes. Les obstétriciens doivent être informés que l'augmentation des naissances par césarienne pourrait être, entre autres, à l'origine d'une induction sub-optimale du système immunitaire [48]. L'amélioration de la colonisation bactérienne de l'intestin du nouveau-né passe aussi par une préservation de la flore recto-vaginale de la mère. En effet, celle-ci étant, avec la flore environnementale, un déterminant

essentiel de la qualité de la flore bactérienne colonisatrice du nouveau-né, il est important de préserver sa diversité en évitant notamment de donner à la mère dans la période périnatale des antibiotiques à large spectre qui la modifient significativement. Il ne s'agit pas cependant de remettre en question certains acquis de la médecine périnatale ayant permis une diminution de la morbidité infectieuse comme la prophylaxie intrapartale, en cas de portage maternel pour *Streptococcus agalactiae* ou l'antibiothérapie curative dans certaines pathologies infectieuses périnatales pour prévenir une naissance prématurée. Il faut par contre lutter contre une administration inutile ou inadéquate de l'antibiothérapie. Ainsi, pour l'antibioprophylaxie intrapartale, on recommande l'usage d'antibiotiques à faible spectre, comme la pénicilline G, moins susceptible de modifier la flore maternelle. Pour l'antibiothérapie curative, on recommande des prescriptions de courte durée et le recours à des associations d'antibiotiques respectant la relation pharmacocinétique/pharmacodynamique de chaque produit. Comme il a déjà été mentionné plus haut, la place des prostaglandines E<sub>2</sub> élaborées par les COX's-2 des lymphocytes d'origine CD4<sup>+</sup> est déterminante dans le maintien de l'orientation suppressive régulatrice [34,36]). Les inhibiteurs non sélectifs des COX's-2 administrés de façon trop fréquente et de façon prolongée en bas âge pourraient ainsi théoriquement influencer la réponse immunitaire du chorion sous-muqueux. Certaines données expérimentales tendent à prouver qu'ils interfèrent avec les mécanismes d'homéostasie immunitaire qui permettent l'acquisition de la tolérance à l'antigène alimentaire [49]. Même si aucune étude épidémiologique n'a pu, à ce jour, le démontrer chez l'humain – pour la simple raison qu'elle n'a pas été réalisée – il paraît urgent que les responsables de santé soient interpellés par l'influence que pourrait avoir sur les désordres immunitaires ultérieurs l'usage trop fréquent de ces médicaments en bas âge dans le traitement de la simple hyperthermie.

### 5.2. Nutrition

Le type de nutrition durant les deux premières années et globalement le style de vie influencent le microbiote intestinal du jeune enfant, ce qui pourrait contribuer à la diminution des déviations immunitaires dans certaines familles [2]. 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 distribués en petite quantité de façon répétée [50]. 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 suivie de sa présence dans le lait quelques temps plus tard [51]. Son administration au sourceau *via* le lait le rend plus apte à être toléré grâce à une activation optimale des lymphocytes CD4+ régulateurs et la présence concomitante de TGF- $\beta$  dans le lait [51]. Avec l'IL-10, cette cytokine représente l'une des microprotéines essentielles sécrétées par les lymphocytes régulateurs CD4+ CD25+ et Tr1 qui contrôlent le risque d'emballement des réponses immunitaires décrites Th1, Th2 et Th17. Dans un autre modèle expérimental, l'administration orale de TGF- $\beta$  paraît également potentialiser la tolérance à l'ovalbumine lorsque celle-ci est administrée oralement à des souris [52]. 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  $\gamma\delta$ CD8+ et à supprimer la réponse Th1 en gardant effective la réponse Th2, entretenant ainsi un risque de déséquilibre de la réponse immunitaire adaptative [53]. Des données plus récentes semblent confirmer que l'administration répétée de faibles doses d'antigène est de nature à favoriser l'interaction entre les cellules dendritiques et les lymphocytes naïfs CD4+ du chorion sous-muqueux [54]. Une telle exposition antigénique continue et à faible dose optimise aussi la réponse adaptative *via* l'expression des lymphocytes régulateurs CD8+ CD25Foxp3+ [55]. Ce mode d'introduction de l'antigène paraît aussi 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, Th2 et Th17 [28,29,31] *via* les lymphocytes régulateurs de type CD4+ (Th3, Tr1, CD25+). 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. Quelques rares études bien conduites [56] 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 [57]. La majorité des auteurs s'accordent pour dire qu'un retard trop important d'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 [58]. D'autres sont franchement plus provocateurs lorsqu'ils émettent l'hypothèse que l'introduction précoce de certaines arachides pourrait en favoriser la tolérance mais toujours en se basant sur des données épidémiologiques [59]. Toutes ces informations montrent combien il est encore difficile de se faire une idée sur la façon idéale de progresser dans la diversification. Aucun consensus n'existe sur la façon de l'initier, ni sur la façon de progresser dans la diversification. Bien plus, aucune étude n'a comparé l'effet sur les risques de déviations immunitaires entre une introduction rapide et massive de l'antigène (traditionnelle) avec une introduction *step by step* qui repose sur quatre points : I) un antigène à la fois ; II) donné à faibles doses ; III) répétées et VI) 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. Cette exposition lente, répétée, et progressive aux antigènes alimentaires semble pourtant être la voie choisie par la Nature lorsque l'enfant est allaité de façon prolongée.

#### Conflit d'intérêt

Aucun.

## Références

- [1] Hooper LV, Wong MH, Thelin A, et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001;291:881-4.
- [2] Warner JO. The early life origins of asthma and related allergic disorders. *Arch Dis Child* 2004;89:97-102.
- [3] 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;159:1739-45.
- [4] Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 2002;347:911-20.

- [5] Guarner F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, et al. Mechanisms of diseases: the hygiene hypothesis revisited. *Nature Clin Pract Gastroenterol & Hepatol* 2006;3:275-84.
- [6] Johnson CC, Alford SH. Do animal on the farm and in the home reduce the risk of pediatric atopy? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:133-9.
- [7] Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999;69(Suppl):1052S-7S.
- [8] Mold JE, Michaëlsson J, Burt TD, et al. Maternal autoantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science* 2008;322:1562-5.
- [9] Burlingham WJ. A lesson in tolerance. Maternal instruction to fetal cells. *N Engl J Med* 2009;360:1355-7.
- [10] Boyle RJ, Tang MLK. Can allergic diseases be prevented antenatally? *Allergy* 2006;61:1423-31.
- [11] Strobel S. Neonatal oral tolerance. *Ann N Y Acad Sci* 1996;778:88-102.
- [12] Strobel S, Mowat AM. Immune responses to dietary antigens: oral tolerance. *Immunol Today* 1998;19:173-81.
- [13] Brandtzaeg P. History of oral tolerance and mucosal immunity. *Ann N Y Acad Sc* 1996;778:1-27.
- [14] Rancé F, Bidat E, Dutau G. Alimentation de la mère et de l'enfant les premiers mois de vie et prévention de l'allergie. *Arch Pediatr* 2009;16:385-6.
- [15] Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005;307:1915-20.
- [16] 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. 2<sup>nd</sup> ed., Academic press, 1999, New-York.
- [17] Neish AS. The gut microflora and intestinal epithelial cells: a continuing dialogues. *Microbes Infect* 2002;4:309-17.
- [18] Langhendries JP. Colonisation bactérienne de l'intestin dans l'enfance : pourquoi y accorder autant d'importance ? *Arch Pediatr* 2006;13:1526-34.
- [19] Dabbagh K, Lewis DB. Toll-like receptors and T-helper-1/T-helper-2 responses. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:199-204.
- [20] 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;18:255-70.
- [21] Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000;408:740-5.
- [22] 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;118:229-41.
- [23] Ivanov II, Frutos RdeL, Manel N, et al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17 – producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe* 2008;4:337-49.
- [24] Awasthi A, Murugaiyan G, Kuchroo V. Interplay between effector Th17 and regulator T Cells. *J Clin Immunol* 2008;28:660-70.
- [25] Eisenstein EM, Williams CB. The T (reg) /Th17 cell balance: a new paradigm for autoimmunity. *Pediatr Res* 2009;65:26R-31R.
- [26] Ziegler SF, Buckner JH. FOXP3 and the regulation of T (reg)/Th17 differentiation. *Microbes Infect* 2009;11:594-8.
- [27] Zhou L, Lopes JE, Chong MMW, et al. TGF- $\beta$  – induced Foxp3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing ROR $\gamma$ t function. *Nature* 2008;453:236-40.
- [28] 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;197:403-11.
- [29] Singh B, Read S, Asseman C, et al. Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. *Immunol Rev* 2001;182:190-200.
- [30] Lotz M, Gütle D, Walther S, et al. Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells. *J Exp Med* 2006;203:973-84.
- [31] Voo KS, Wang YH, Santori FR, et al. Identification of IL-17-producing FOXP3+ regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:4793-8.
- [32] Lang T, Mansell A. The negative regulation of Toll-like receptor and associative pathways. *Immunol Cell Biol* 2007;85:425-34.
- [33] Dai J, Liu B, Ngoi SM, et al. TLR4 hyperresponsiveness *via* cell surface expression of heat shock protein gp96 potentiates suppressive function of regulatory T cells. *J Immunol* 2007;178:3219-25.
- [34] Baratelli F, Lin Y, Zhu L, et al. Prostaglandin E2 induces FOXP3 gene expression and T regulatory cell function in human CD4+ T cells. *J Immunol* 2005;175:1483-90.
- [35] Manicassamy S, Ravindran R, Deng J, et al. Toll-like receptor 2-dependent induction of vitamin A-metabolizing enzymes in dendritic cells promotes T regulatory responses and inhibits autoimmunity. *Nat Med* 2009;15:401-9.
- [36] Mahic M, Yaqub S, Johansson CC, et al. Foxp3+ CD4+ CD25+ adaptive regulatory T cells express cyclooxygenase-2 and suppress effector T cells by a prostaglandin E2-dependent mechanism. *J Immunol* 2006;177:246-54.
- [37] Levy O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol* 2007;7:379-90.
- [38] Morley R, Saffery R, Douglas F, et al. Epigenetics and neonatology: the birth of a new area. *NeoReviews* 2009;10:e387-95.
- [39] Szyf M. The early life environment and the epigenome. *Biochim Biophys Acta* 2009;1790:878-85.
- [40] Vuillermin PJ, Ponsonby AL, Saffery R, et al. Microbial exposure, interferon gamma gene demethylation in naive T-cells, and the risk of allergic disease. *Allergy* 2009;64:348-53.
- [41] Huehn J, Polansky JK, Hamann A. Epigenetic control of FOXP3 expression: the key to a stable regulatory T-cell lineage. *Nat Rev Immunol* 2009;9:83-9.
- [42] Weaver CT, Hatton RD. Interplay between the Th17 and Treg cell lineages: a (co-) evolutionary perspective. *Nat Rev Immunol* 2009;9:883-9.
- [43] Wang M, Karlsson C, Olsson C, et al. Reduced diversity in the early fecal microbiota of infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:129-34.
- [44] Neut C, Bezirtzoglou E, Romond C, et al. Bacterial colonization of the large intestine in newborns delivered by caesarean section. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A* 1987;266:330-7.
- [45] Laubereau B, Filipiak-Pittroff B, von Berg A, et al. Caesarean section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis, and sensitisation during the first year of life. *Arch Dis Child* 2004;89:993.
- [46] Marra F, Marra C, Richardson K, et al. Antibiotic use in children is associated with increased risk of asthma. *Pediatrics* 2009;123:1003-10.
- [47] Wilkinson C, McIlwaine G, Boulton-Jones C, et al. Is a rising caesarean section rate inevitable? *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:45-52.
- [48] Kero J, Gissler M, Grönlund MM, et al. Mode of delivery and asthma – Is there a connection? *Pediatr Res* 2002;52:6-11.
- [49] Newberry RD, Stenson WF, Lorenz RG. Cyclooxygenase-2 dependent arachidonic acid metabolites are essential modulators of the intestinal immune responses to dietary antigen. *Nat Med* 1999;5:900-6.
- [50] Field C. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr* 2005;135:1-4.
- [51] Verhasselt V, Milcent V, Cazareth J, et al. Breast-milk mediated transfer of an antigen induces tolerance and the protection from allergic asthma. *Nat Med* 2008;14:170-5.

- [52] Ando T, Hatsushita K, Wako M, et al. Orally administered TGF- $\beta$  is biologically active in the intestinal mucosa and enhances oral tolerance. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:916-23.
- [53] Friedman A. Induction of anergy in Th1 lymphocytes by oral tolerance. Importance of antigen dosage and frequency of feeding. *Ann NY Acad Sci* 1996;778:103-10.
- [54] Williamson E, Bilsborough JM, Viney JL. Regulation of mucosal dendritic cell function by receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK)/RANK ligand interactions. Impact on tolerance induction. *J Immunol* 2002;169:3606-12.
- [55] Mahic M, Henjum K, Yaqub S, et al. Generation of highly suppressive adaptive CD8 (+) CD25 (+) FOXP3 (+) regulatory T cells by continuous antigen stimulation. *Eur J Immunol* 2008;38:640-6.
- [56] Van Odijk J, Kull I, Borres MP, et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1996-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 2003;58:833-43.
- [57] ESPGHAN Committee on nutrition- Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46:99-110.
- [58] Chouraqui JP, Dupont C, Bocquet A, et al. Alimentation des premiers mois de vie et prévention de l'allergie. *Arch Pédiatr* 2008;15:431-42.
- [59] Du Toit G, Katz Y, Sasieni P, et al. Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:984-91.