



Modèles animaux d'allergies



Bouchaud Grégory, CR

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

INRAe
la science pour la vie, l'humain, la terre

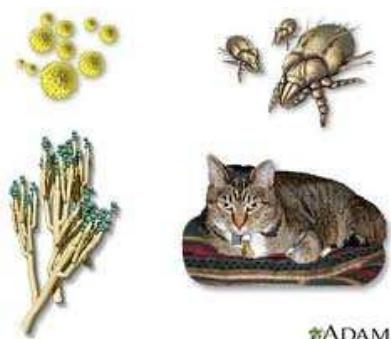


Gregory.bouchaud@inrae.fr

bia
Biopolymères Interactions Assemblages
Nantes
Unité de Recherche INRA 1268

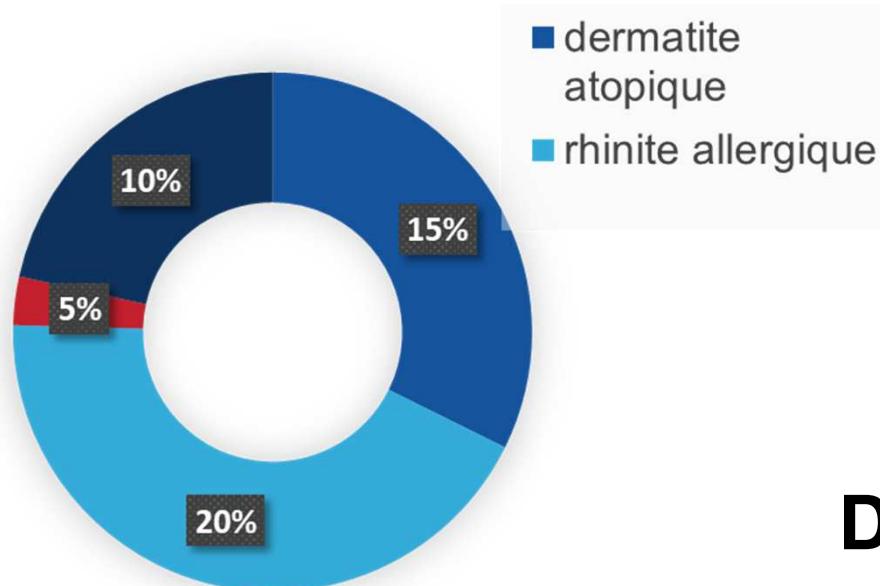
Modèles animaux d'allergie

- Expérimentation animale
- Modèles asthme/ alimentaire
- Utilisation des modèles



Les allergies

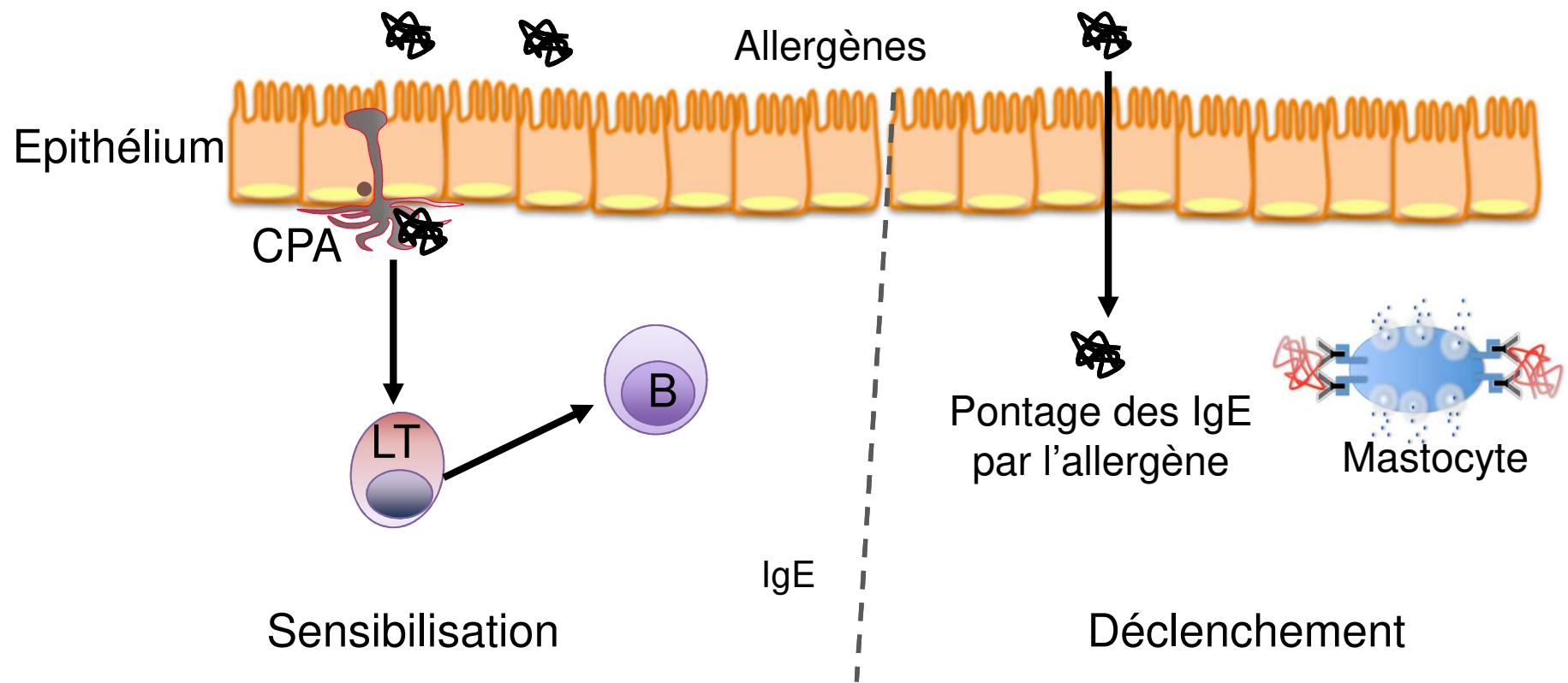
- Aujourd'hui 25 à 30% de la population générale est porteur d'une allergie



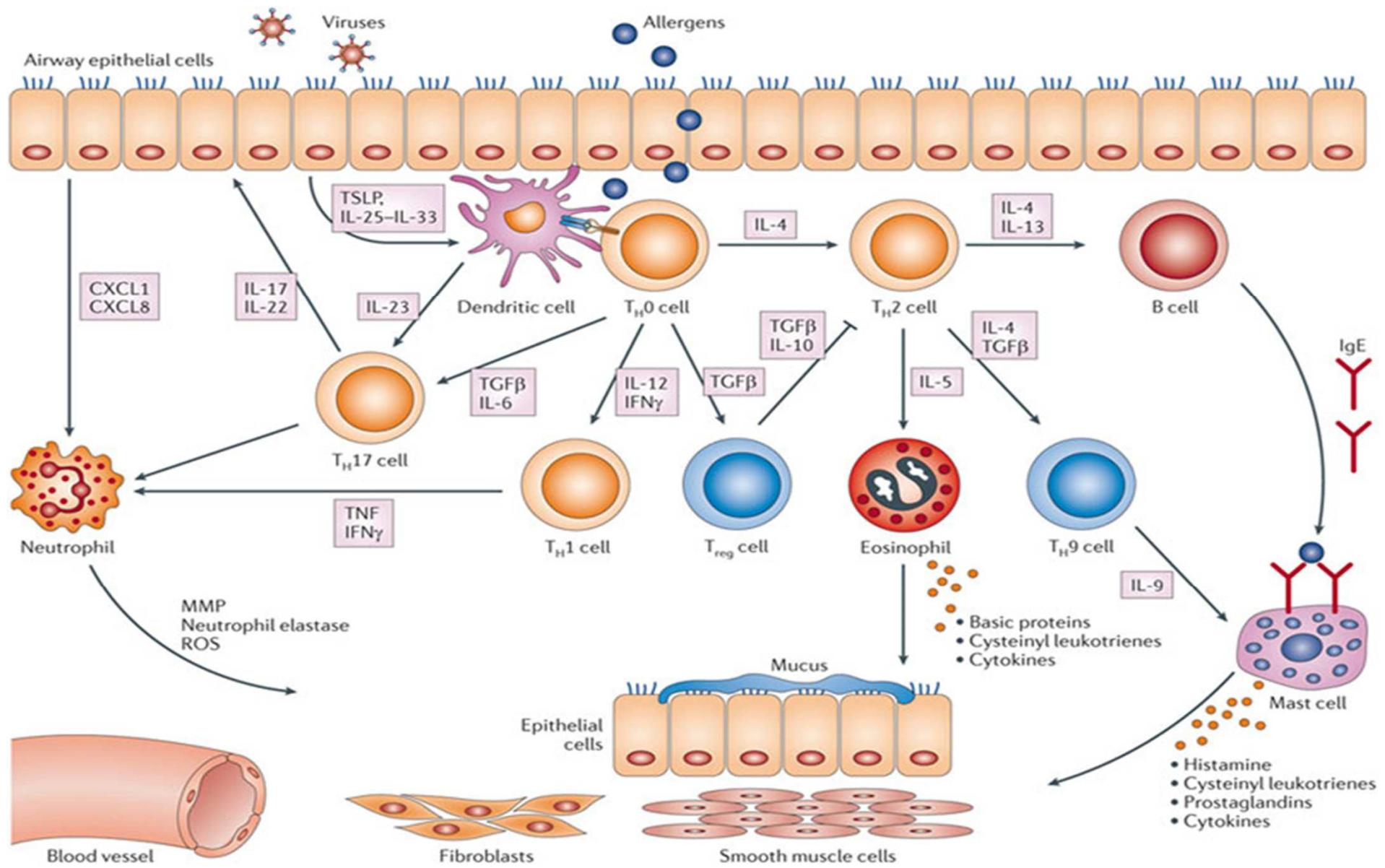
D'ici 50 ans 1 personne sur
2 sera allergique

Aucun traitement curatif

La réaction allergique

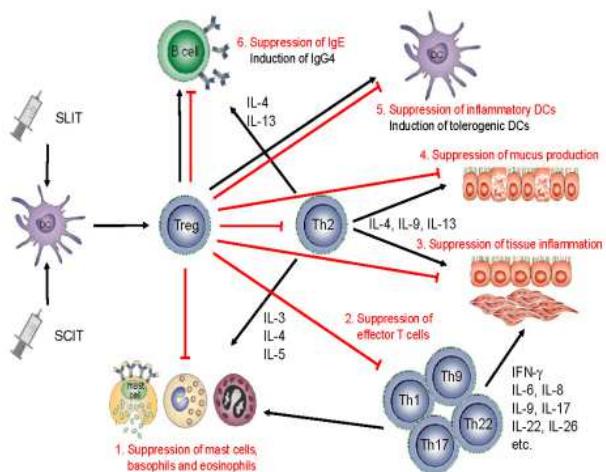


La réaction allergique : Asthme



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 allergénicité 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

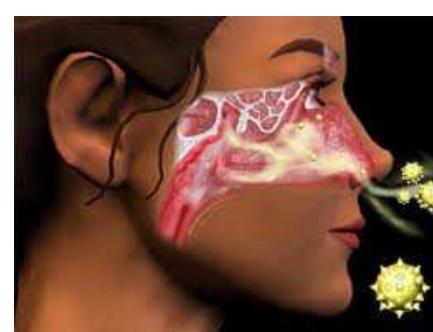
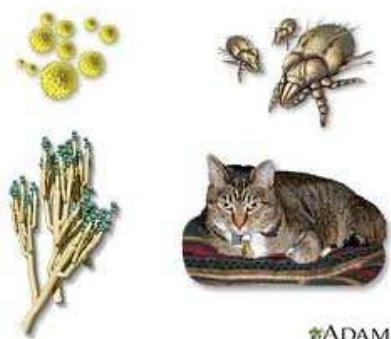
➤ Souris

- 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

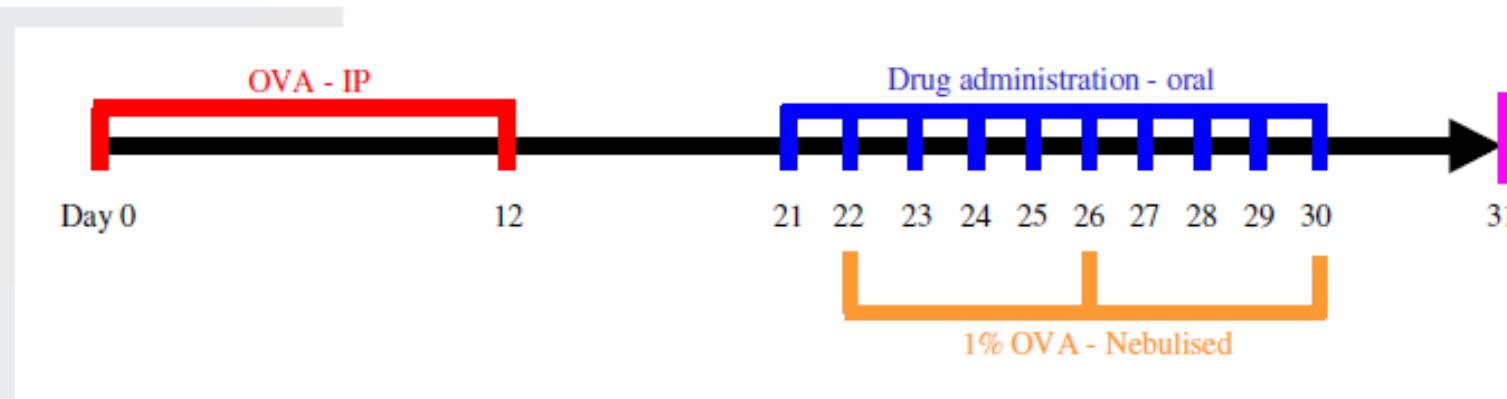
➤ Modèles d'asthme



Modèle d'asthme : OVA

➤ OVA: Gold standard

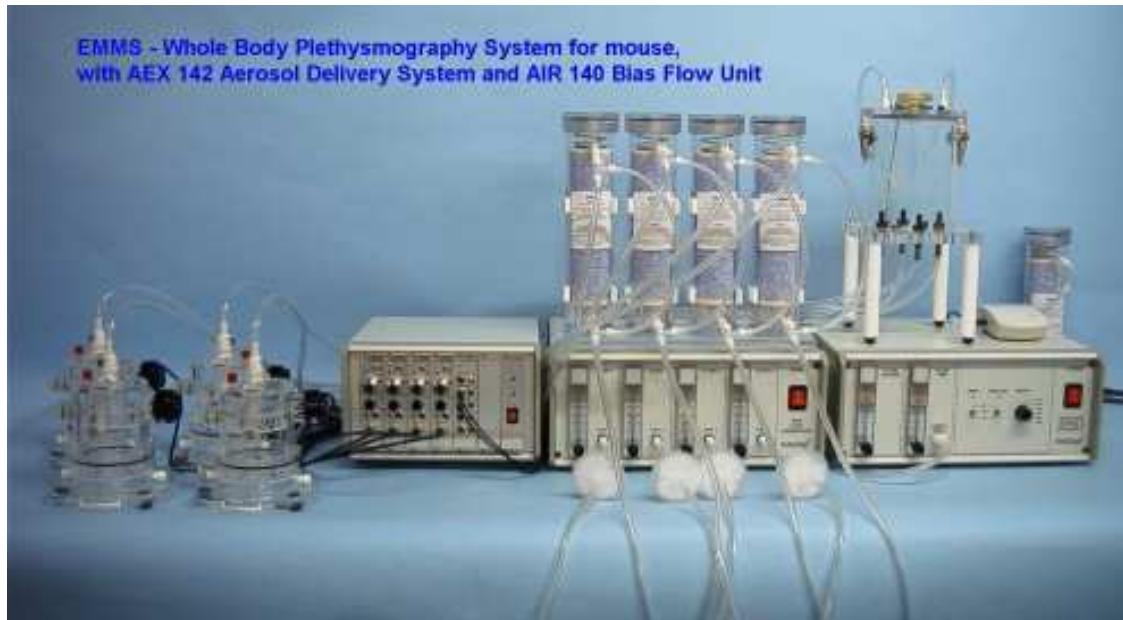
- OVA : induit une réponse immune avec les caractéristiques de l'asthme humain.
- Balb/c, 6 semaines : Sensibilisation IP (2) séparée de 12 jours, Challenge Nébulisation 1% OVA pendant 30 minutes



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

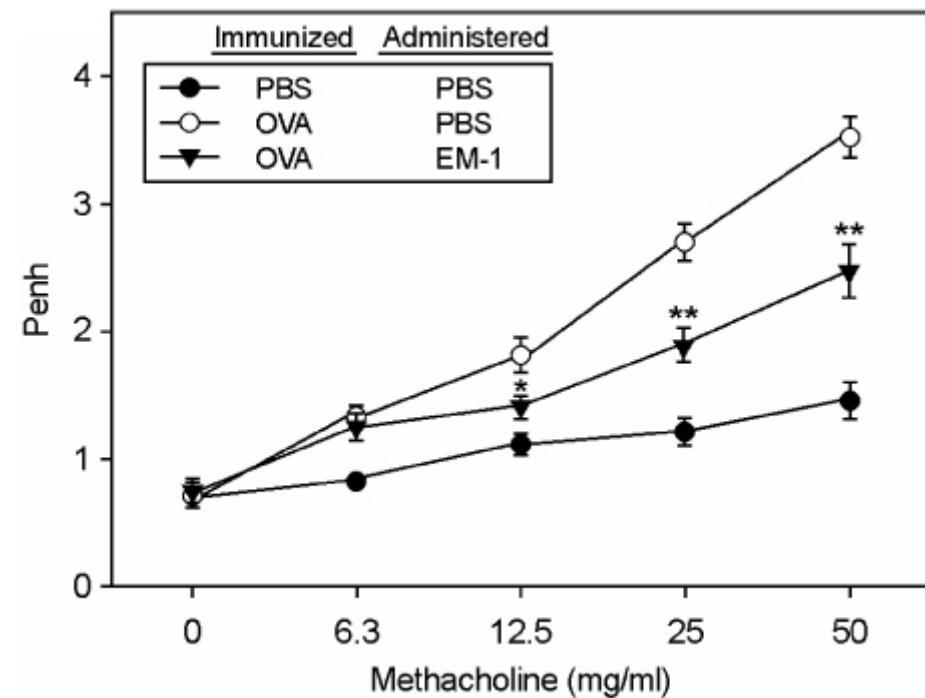
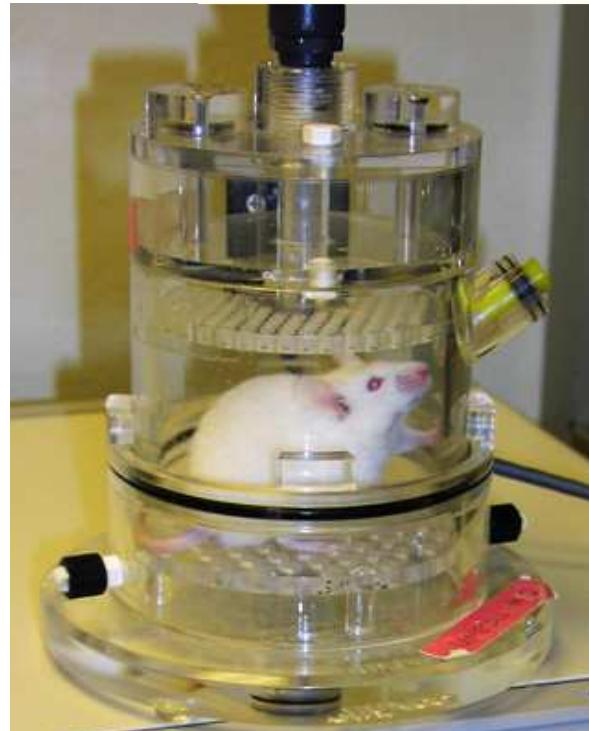
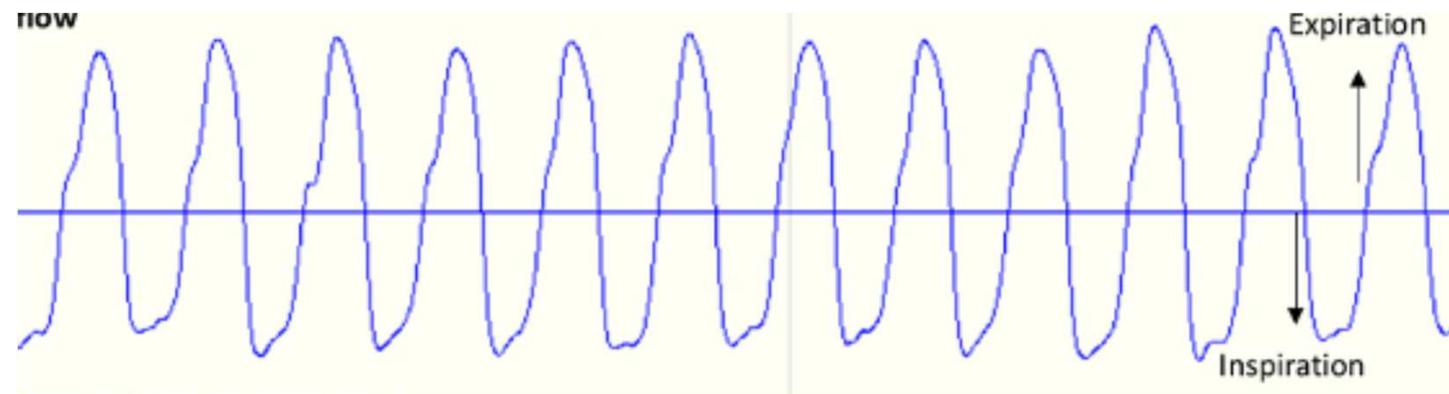
Modèle d'asthme : OVA

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



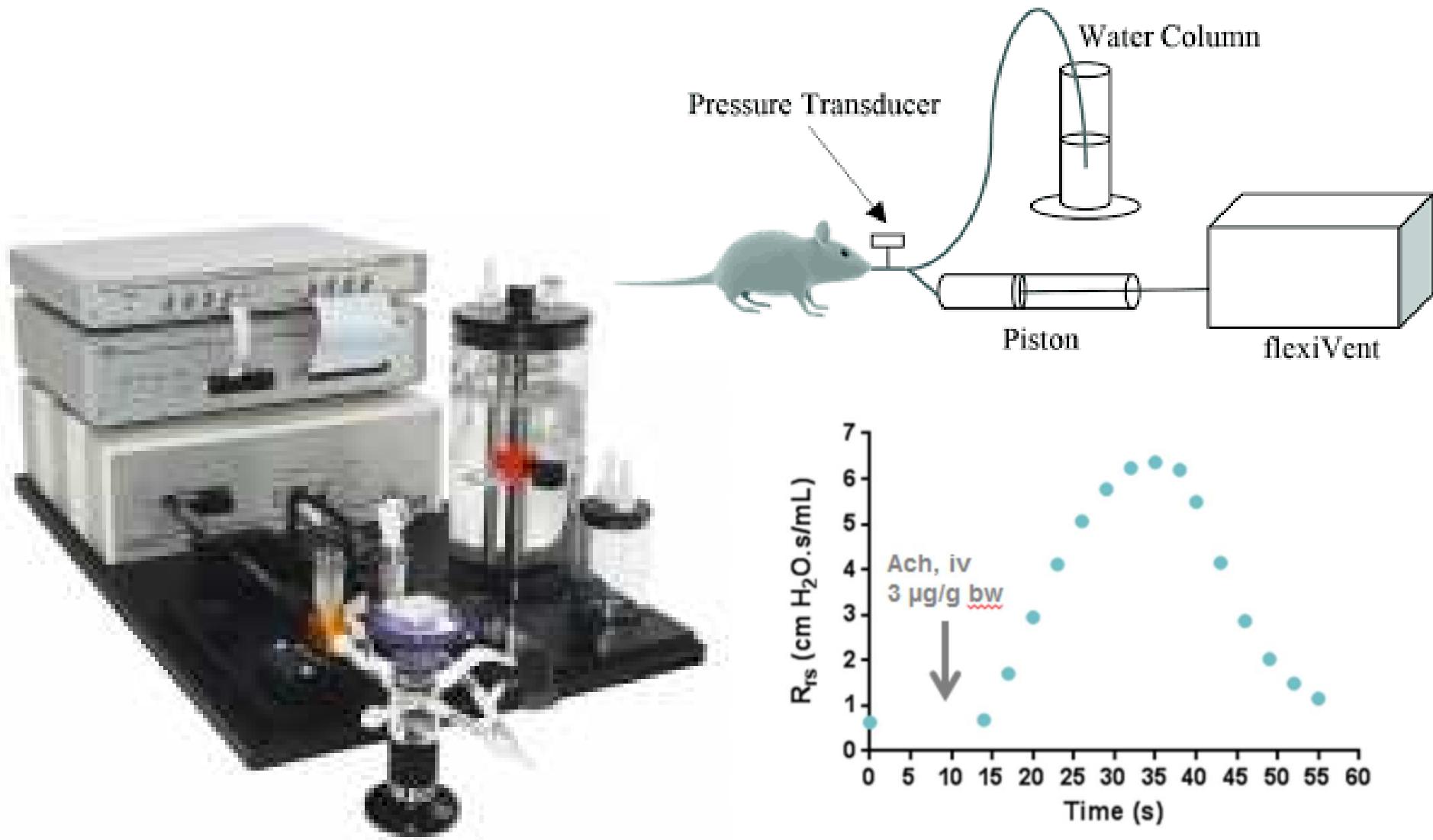
Modèle d'asthme : OVA

➤ Plethysmographie : Mesure de l'hyper-réactivité bronchique



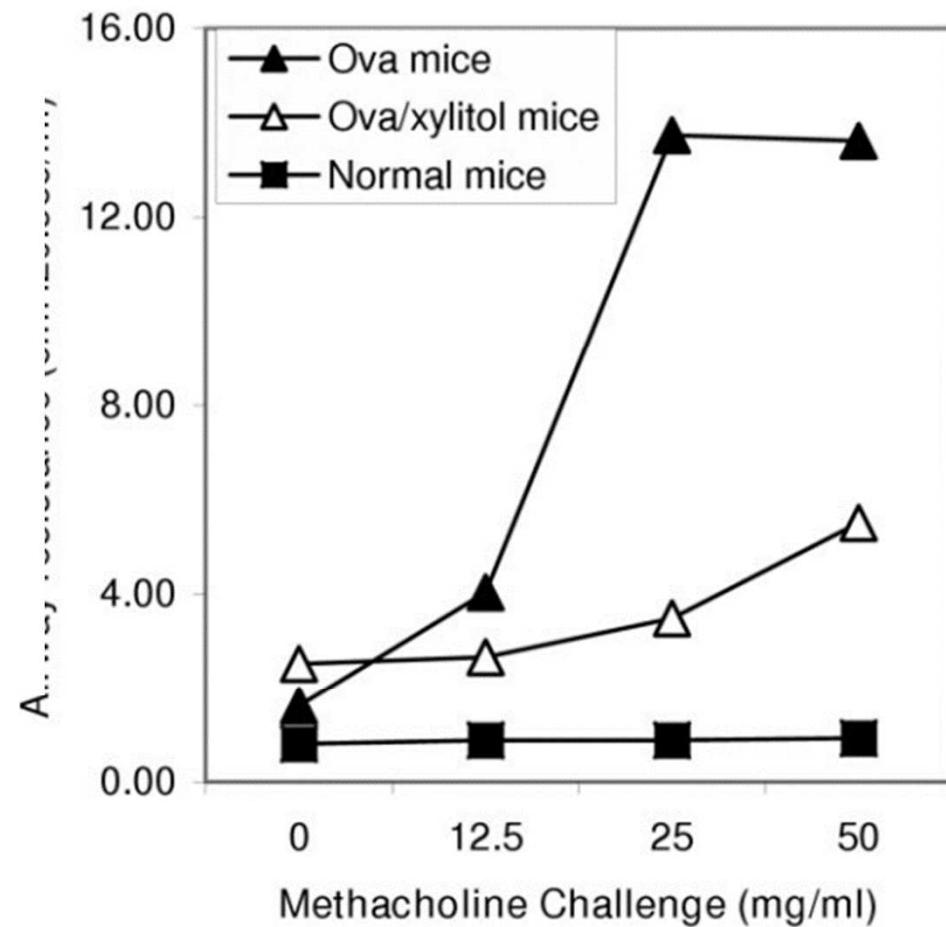
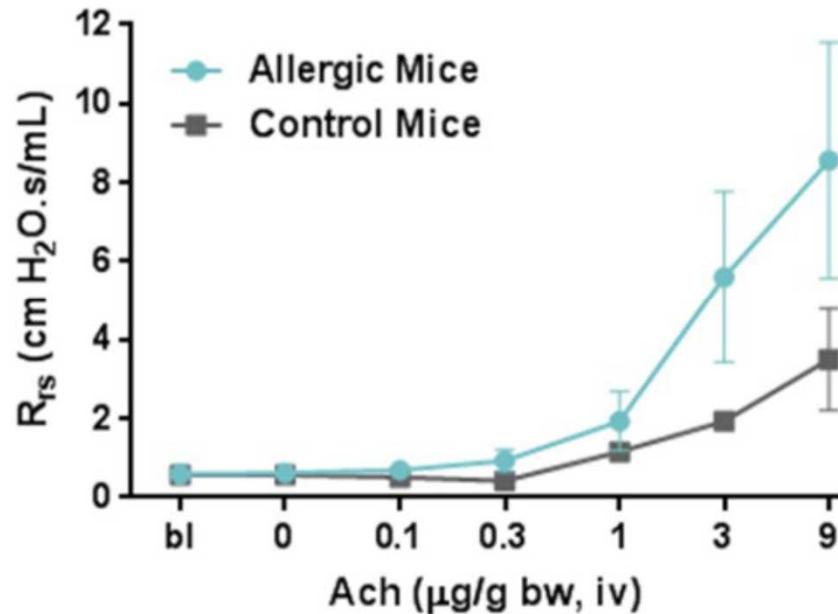
Modèle d'asthme : OVA

➤ FlexiVent : Technique des oscillations forcées



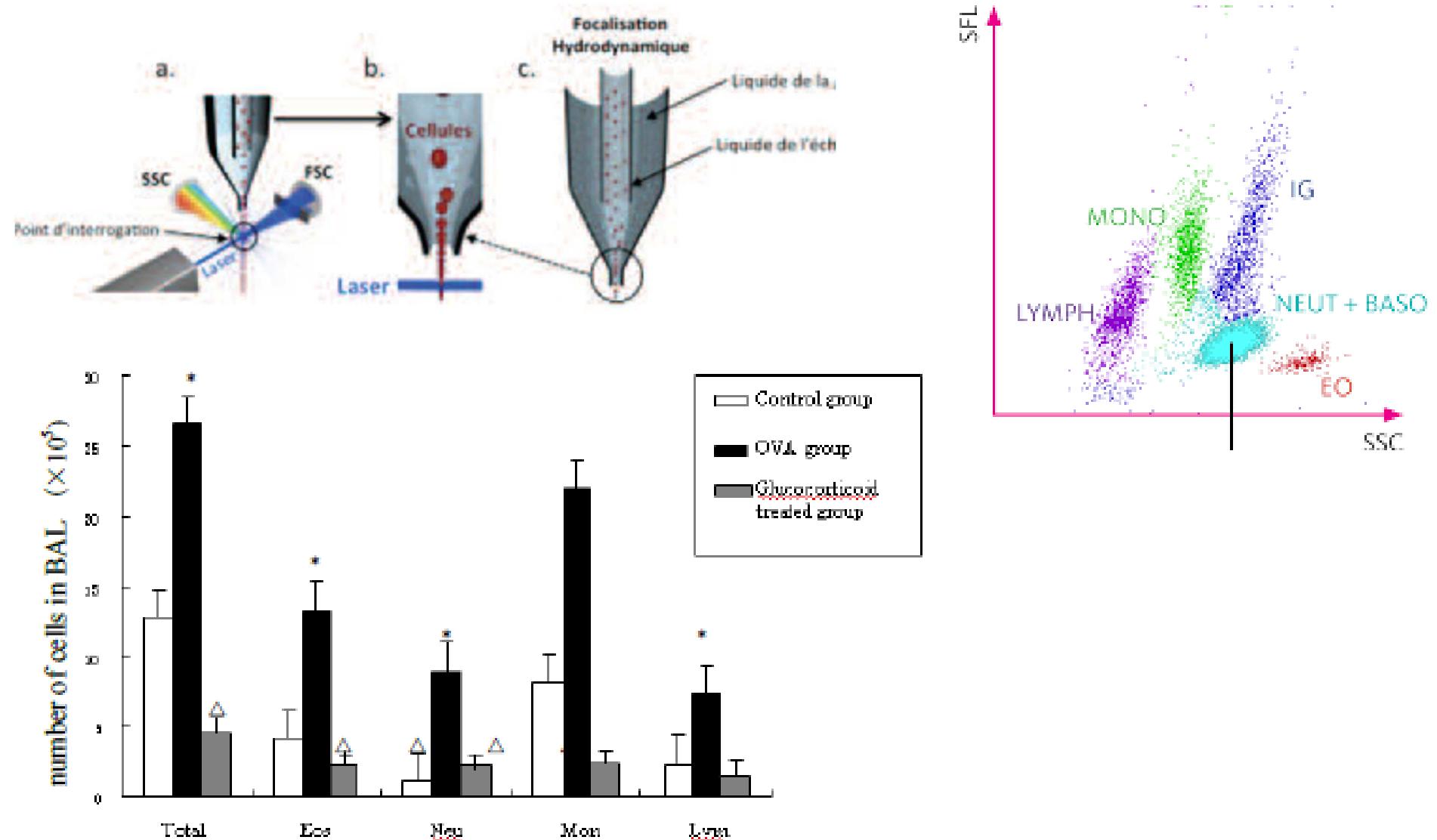
Modèle d'asthme : OVA

➤ FlexiVent : Technique des oscillations forcées



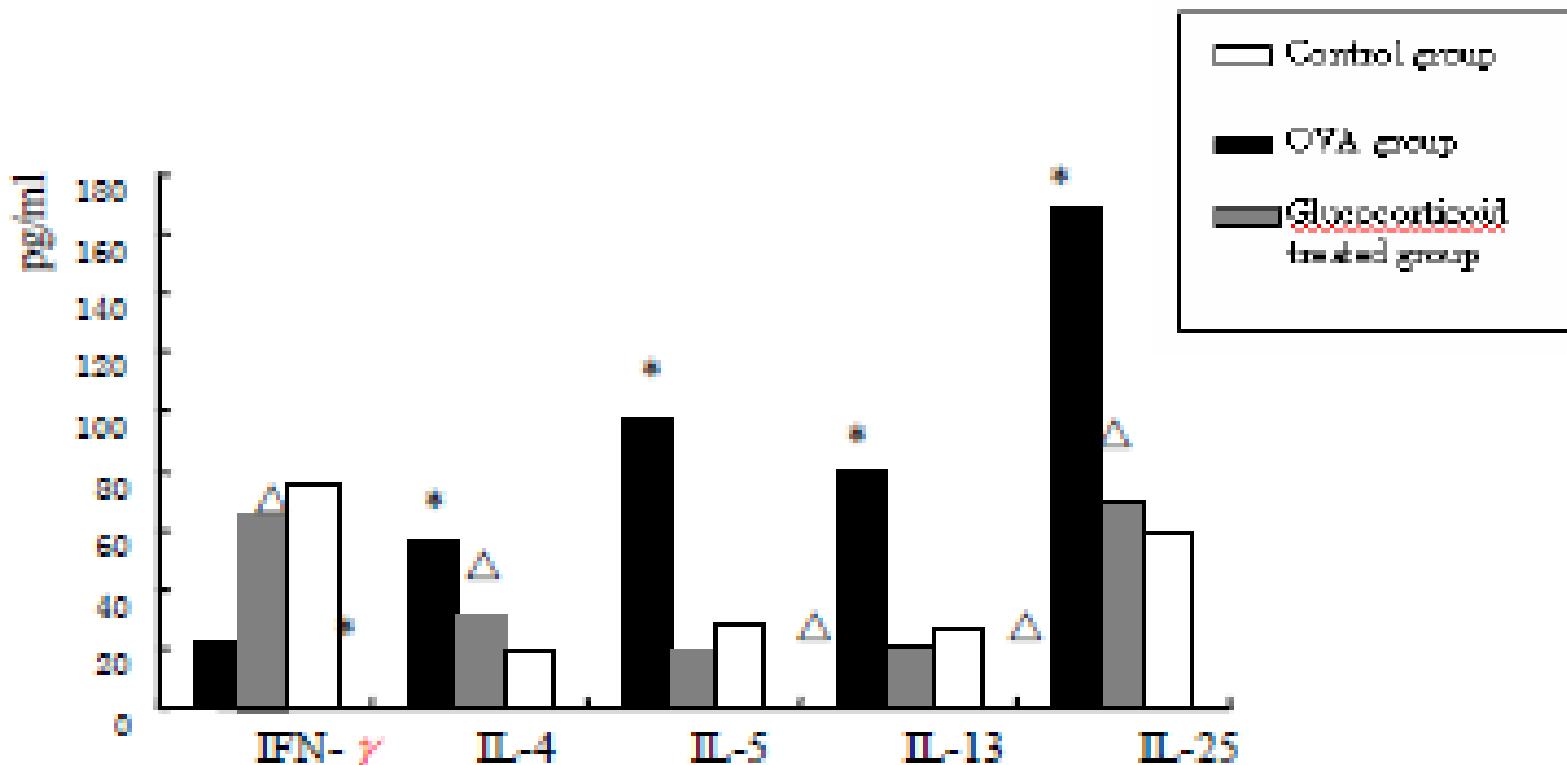
Modèle d'asthme : OVA

➤ Inflammation: Infiltrat cellulaire



Modèle d'asthme : OVA

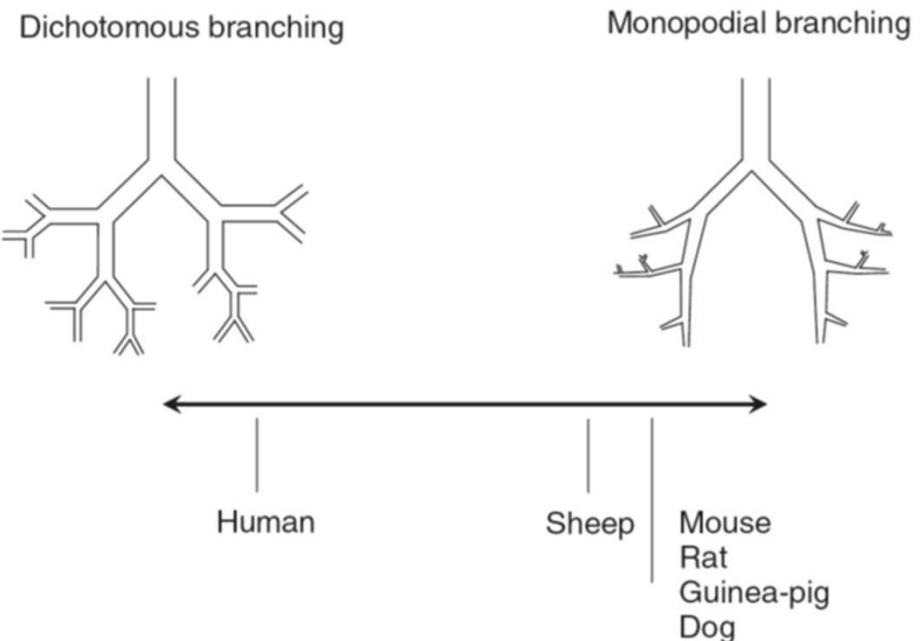
➤ Inflammation: Cytokine



Modèle d'asthme : OVA

➤ Conclusion

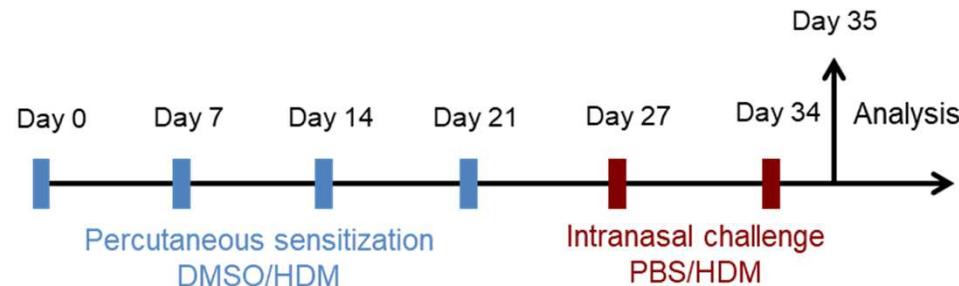
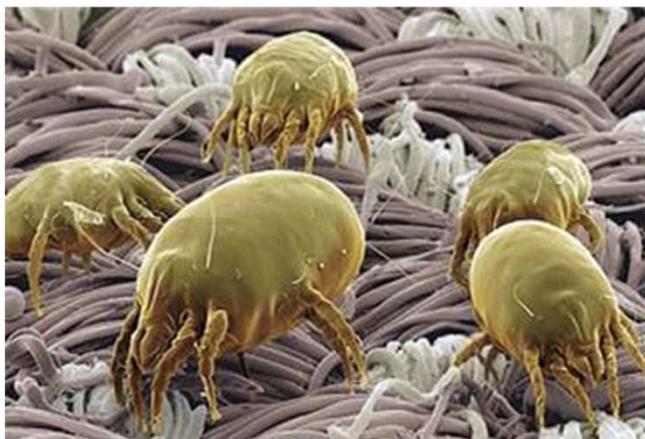
- OVA n'est pas un aero allergène
- Haute doses d'allergènes nécessaire
- Sensibilisation systémique
- Anatomie pulmonaire
- Pas de persistance de l'AHR
- Biais Th2



Modèle d'asthme : HDM

➤ HDM: Plus clinique

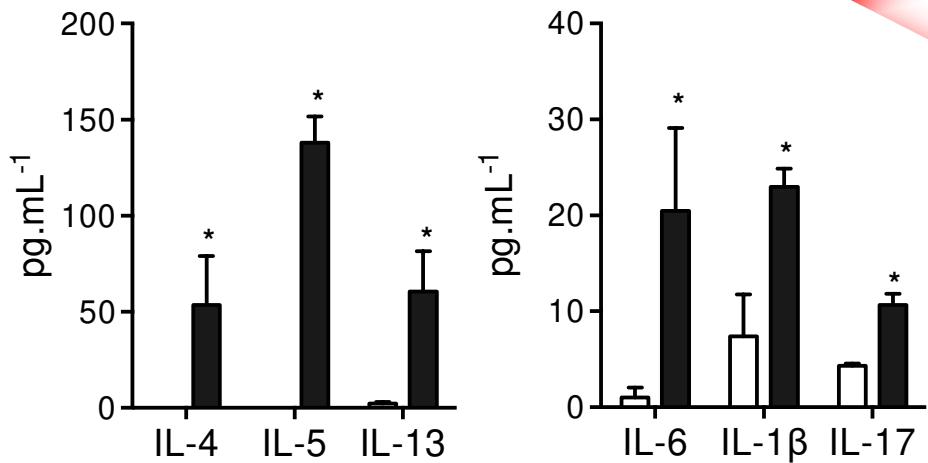
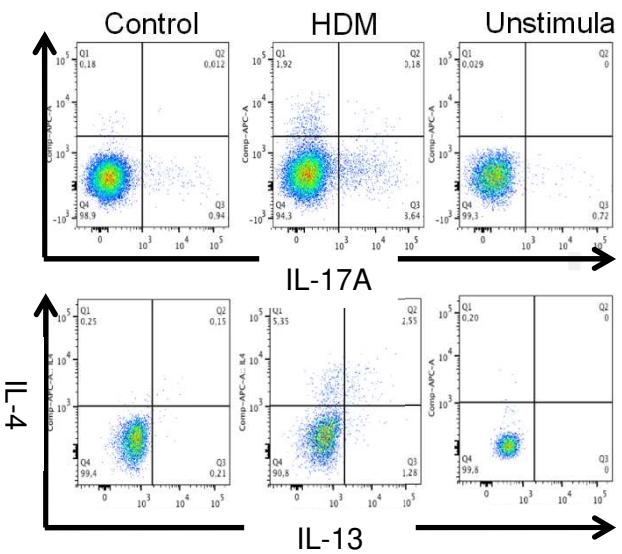
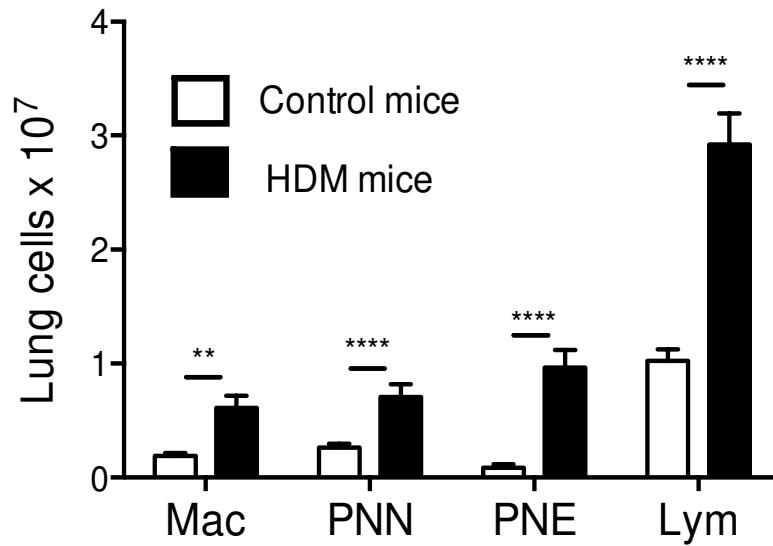
- **HDM** : Extrait d'acarien (Der p et Der f): activité protéase.
- Balb/c, 6 semaines, Sensibilisation pc ou in SANS adjuvant, Challenge intranasal



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

Modèle d'asthme : HDM

➤ HDM: Inflammation



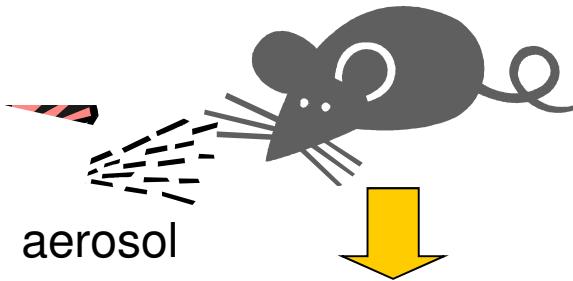
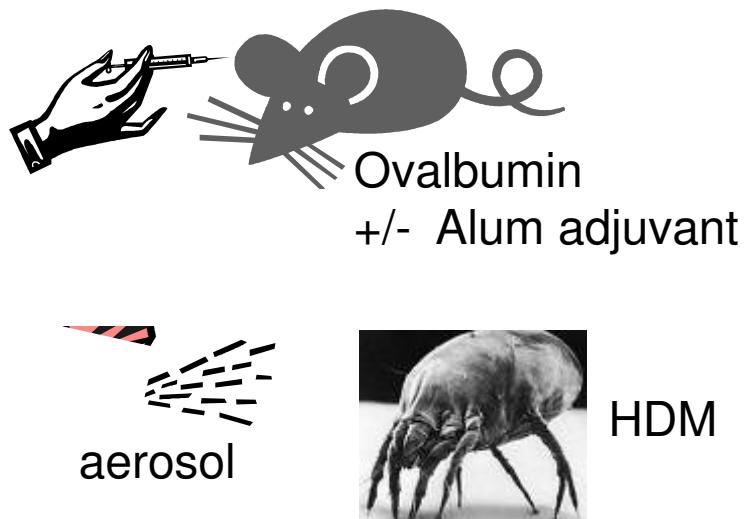
- Inflammation mixte: Th2/Th17 et Neutro/Eosino
- Rapprochement avec la pathologie humaine

Modèle d'asthme : Conclusion

Allergic sensitisation; IgE / Th2



Repeated allergen provocation



Airway manifestations
of asthma

	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, <i>B. pertussis</i> , 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

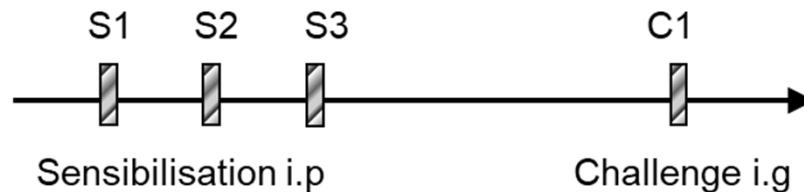
➤ Modèles Alimentaire



Modèle Alimentaire : blé

➤ Blé: Gluten

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

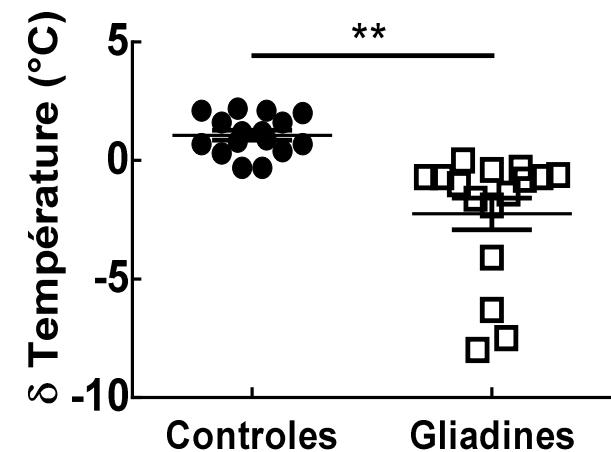
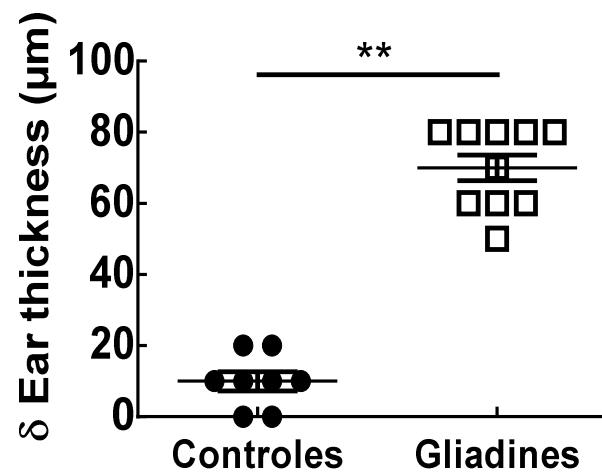
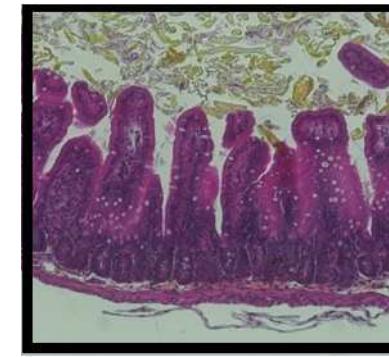
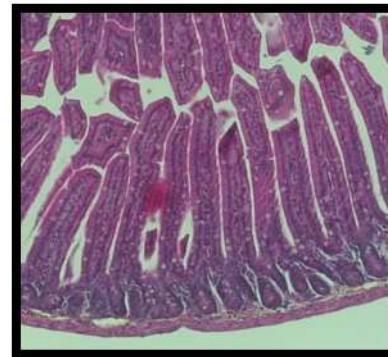


Réponse : clinique (histologie, température), Immunoglobuline (IgE, IgG1), Perméabilité intestinale, Réaction immune

Modèle alimentaire : blé

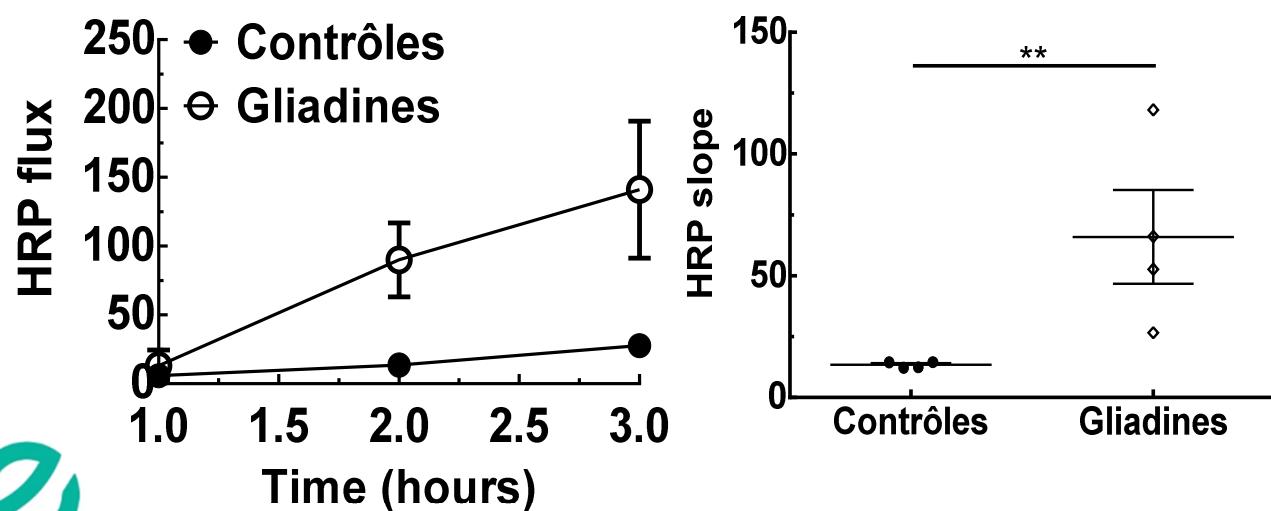
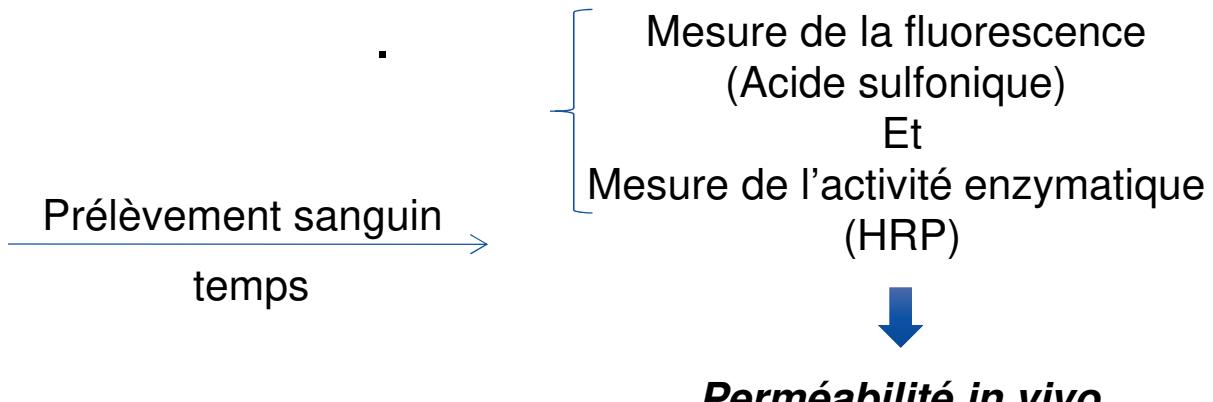
➤Signes Cliniques :

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



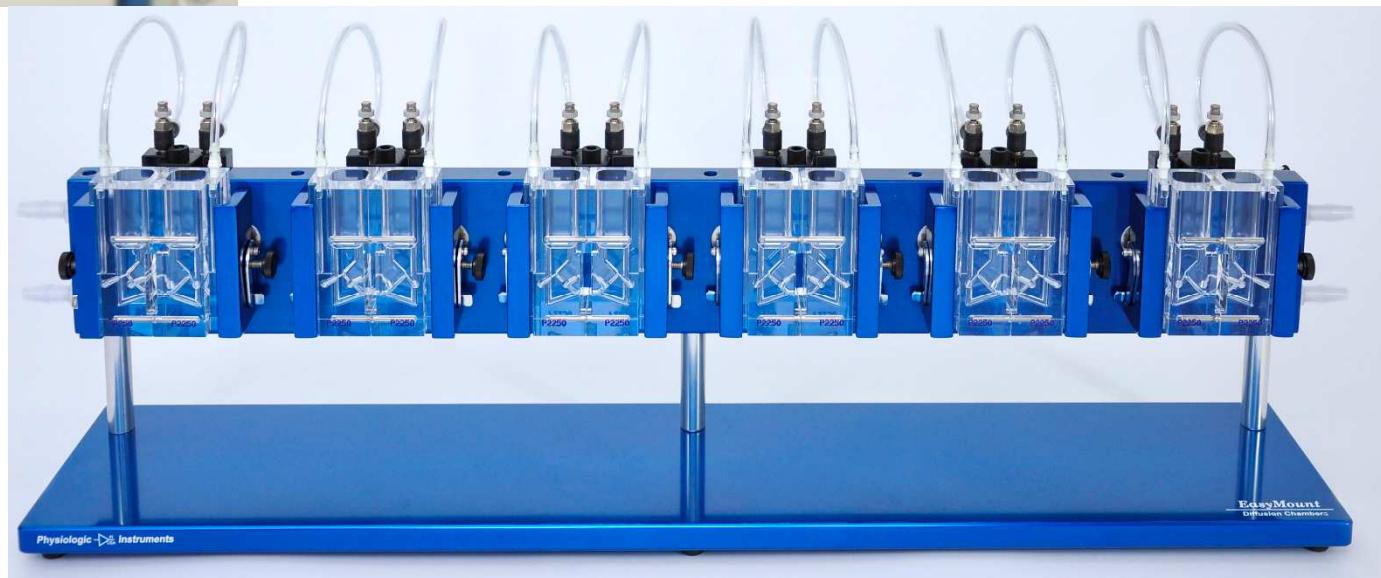
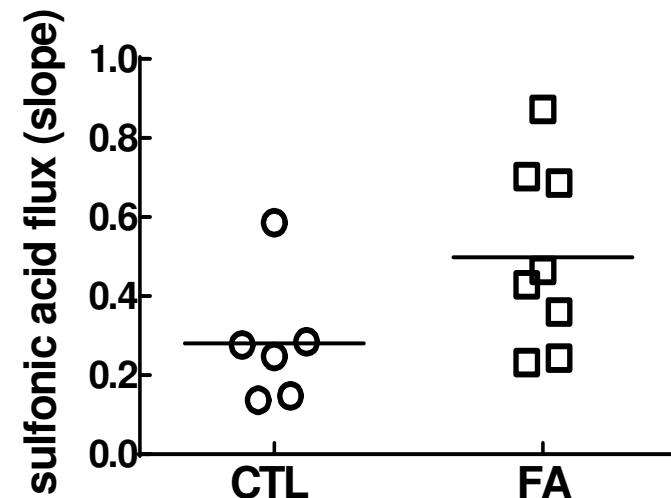
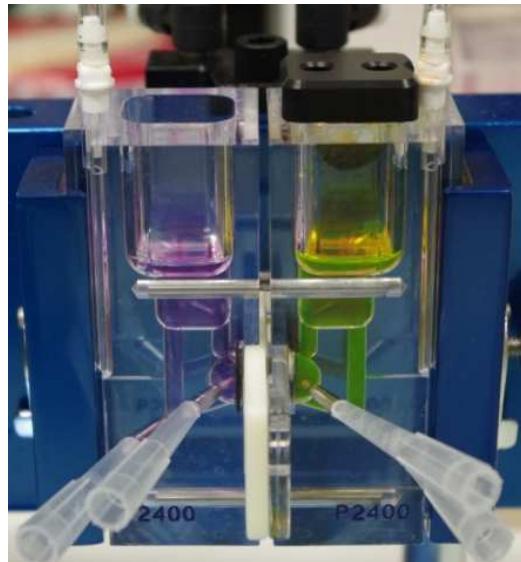
Modèle alimentaire : blé

➤ Perméabilité Intestinale *in vivo*



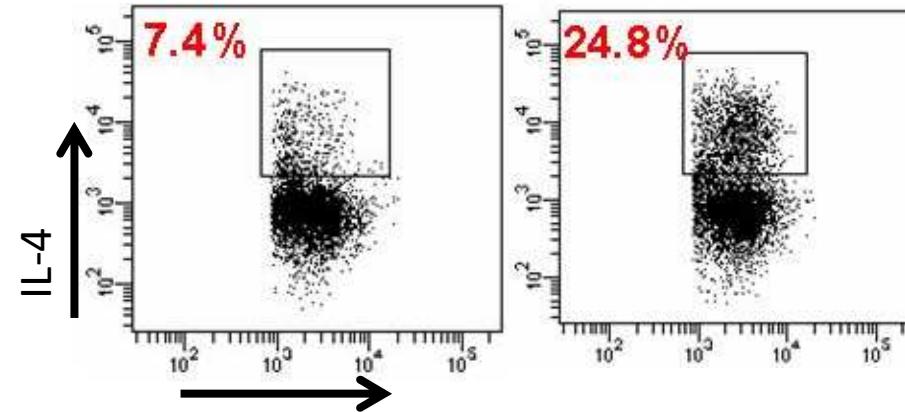
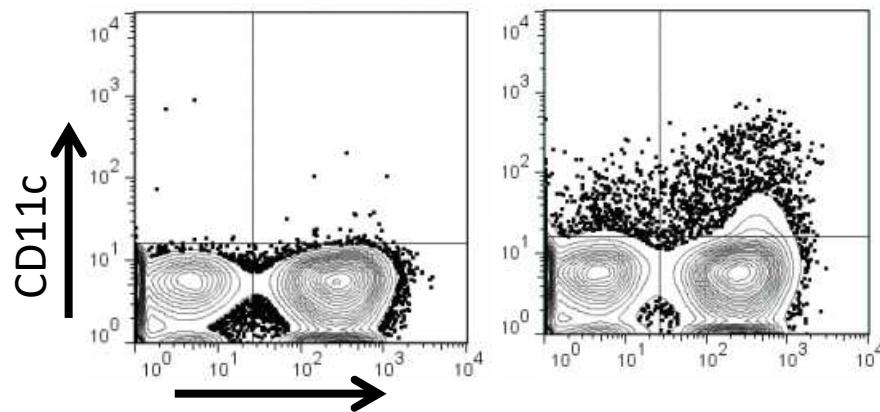
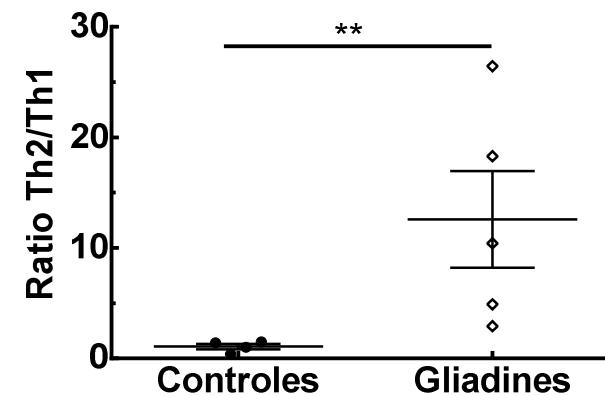
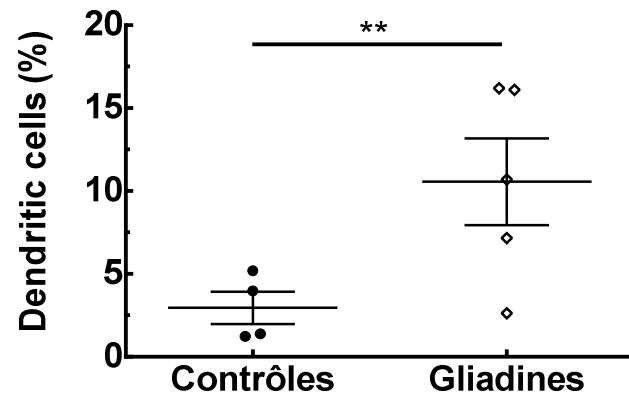
Modèle alimentaire : blé

➤ Perméabilité Intestinale *in vitro*



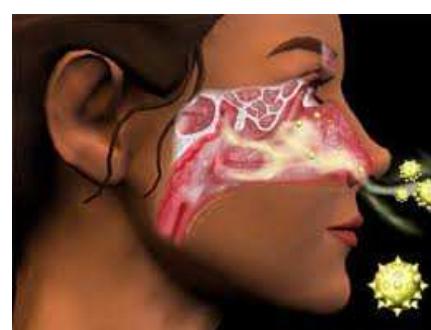
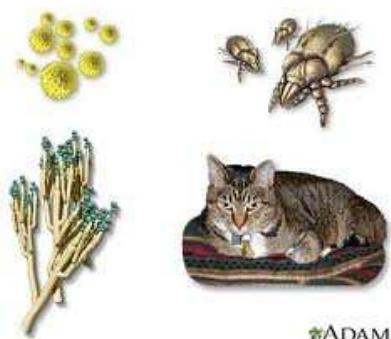
Modèle alimentaire : blé

➤ Inflammation

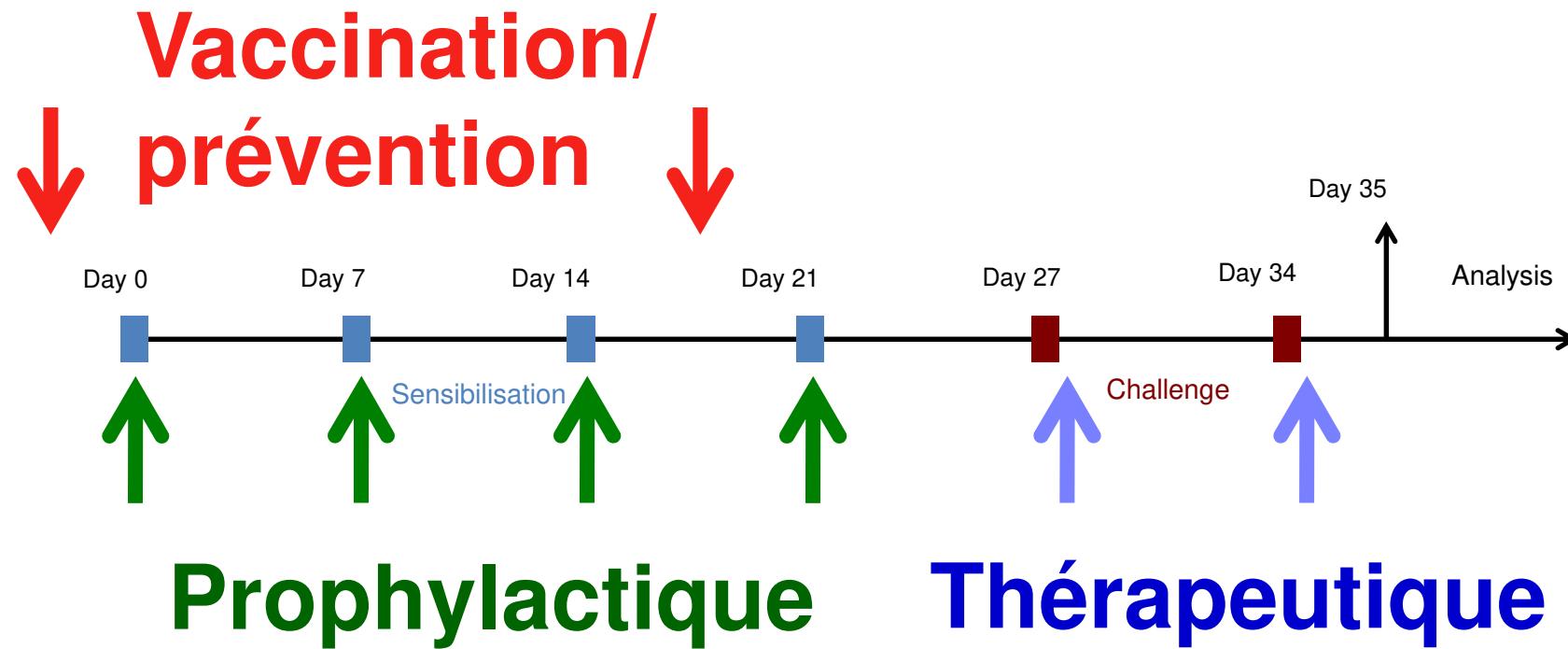


Modèles animaux d'allergie

➤ Utilisation des modèles



Utilisation des modèles



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

Conclusion

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

BUT

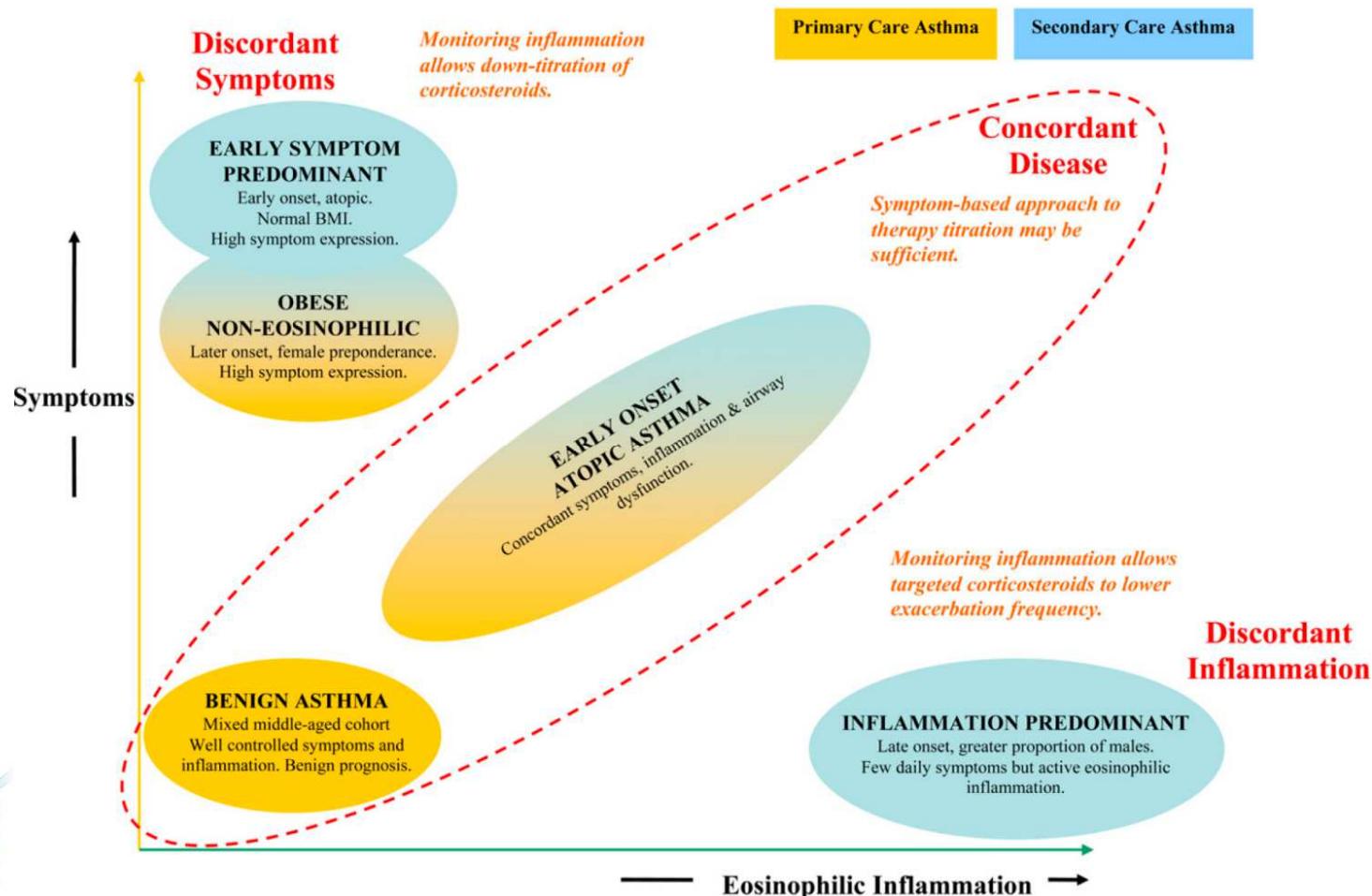
not perfect (not spontaneous, depend on the protocol used to induce allergy)

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

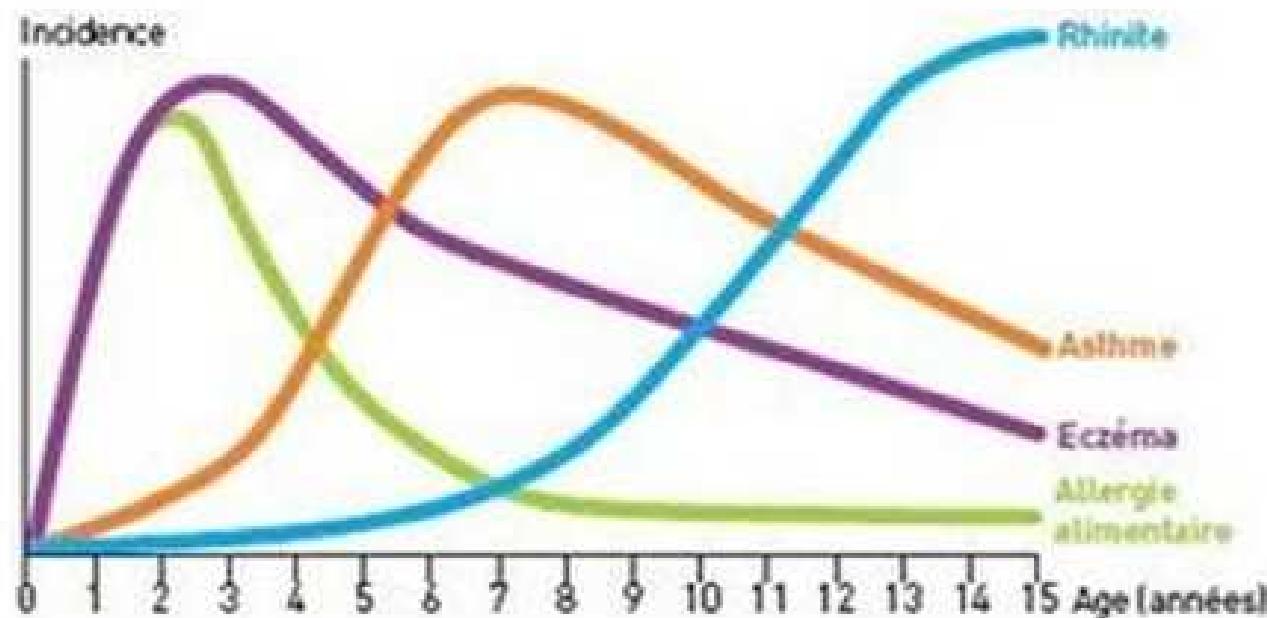
Modèles animaux d'allergie

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)



Article

Accepted: 10 December 2017

DOI: 10.1111/all.13386

ORIGINAL ARTICLE

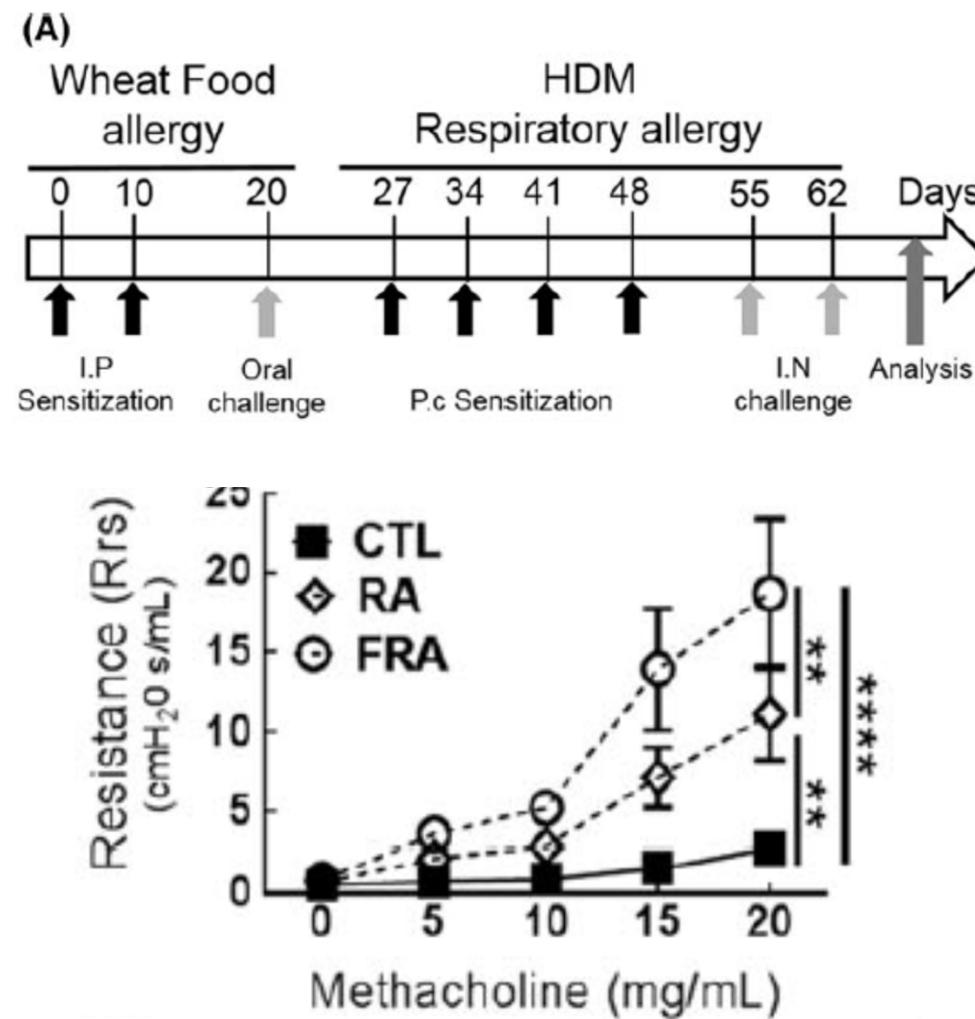
Gastrointestinal Diseases

WILEY **Allergy** EUROPEAN JOURNAL OF ALLERGY
AND CLINICAL IMMUNOLOGY 

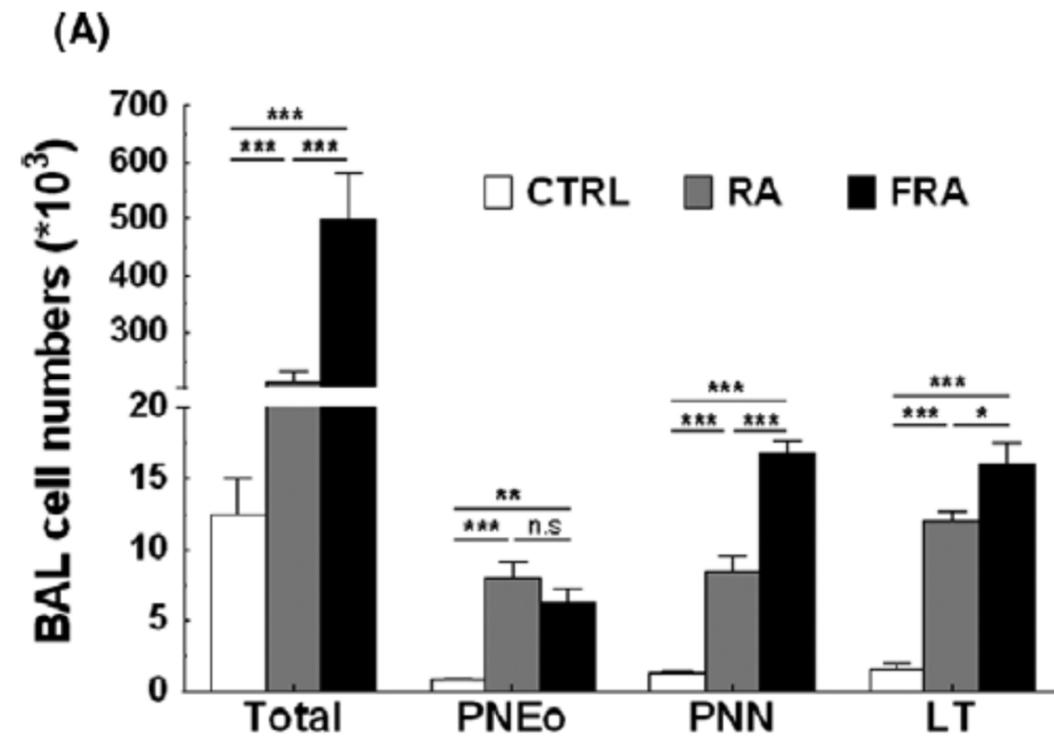
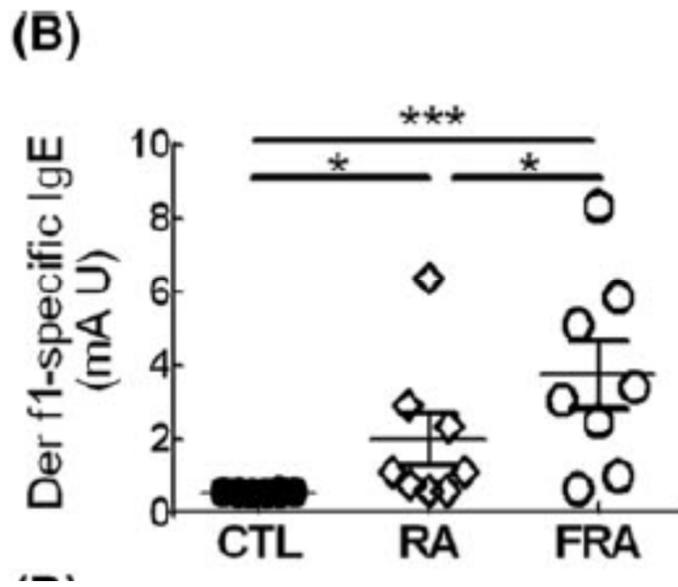
Food allergen-sensitized CCR9⁺ lymphocytes enhance airways allergic inflammation in mice

L Castan^{1,2} | M.-A. Cheminant² | L Colas^{2,3} | S. Brouard^{3,4} | A. Magnan^{2,3} |
G. Bouchaud¹ 

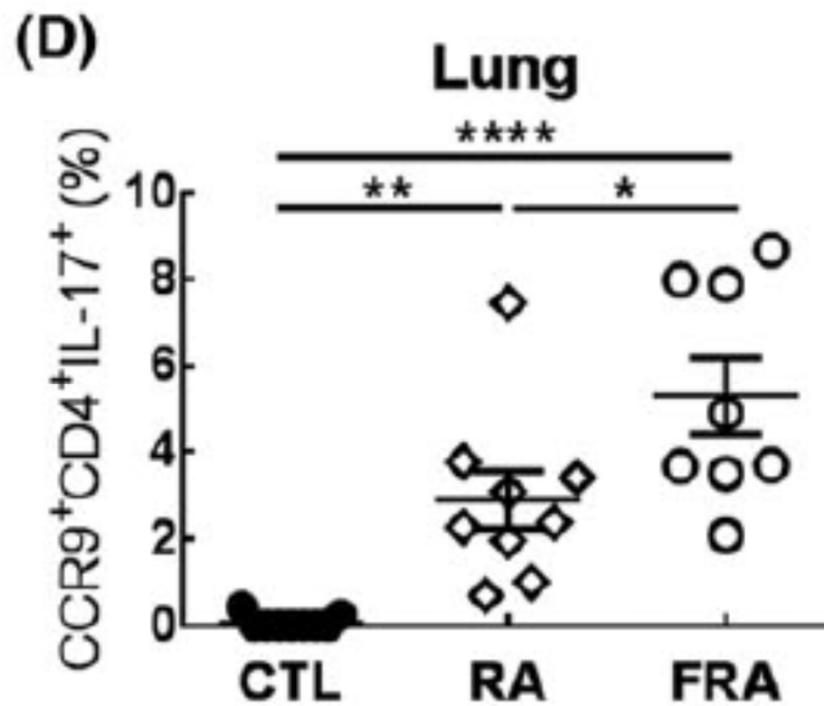
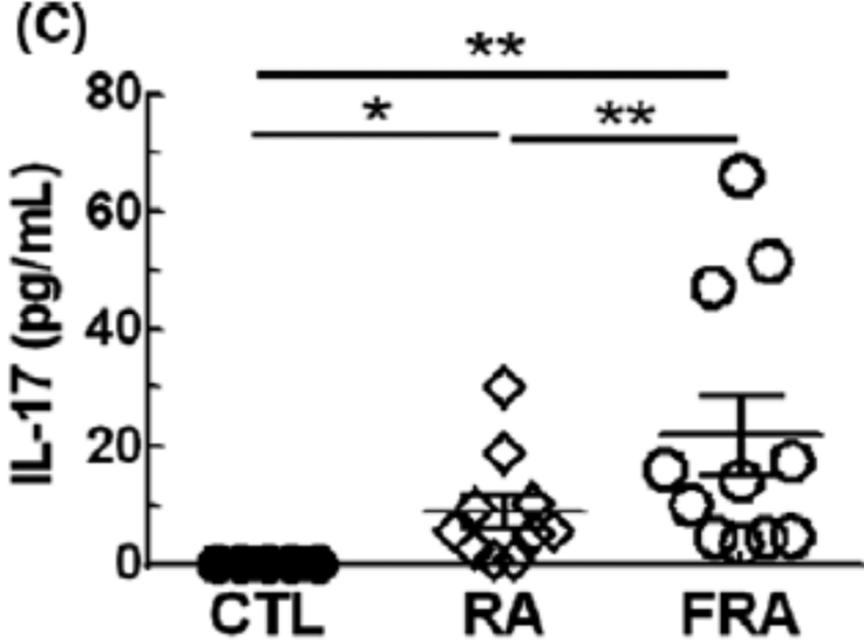
Article



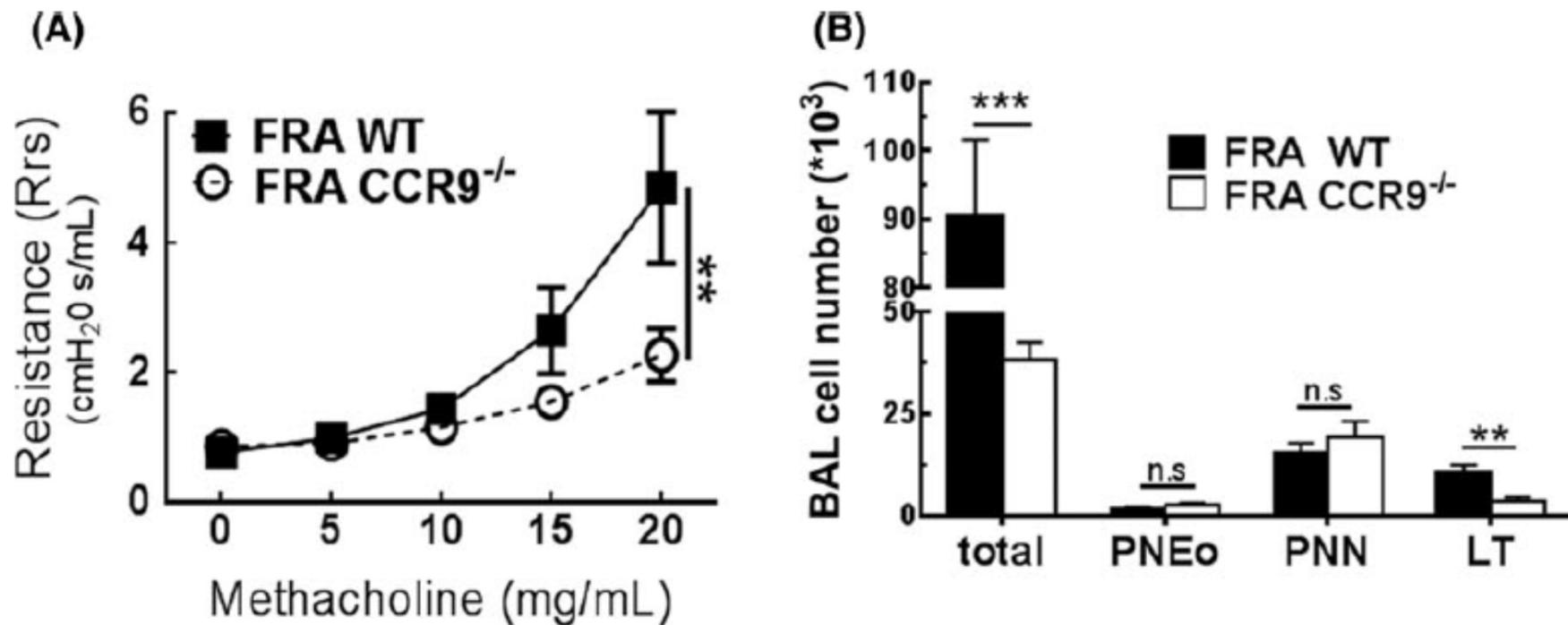
Article



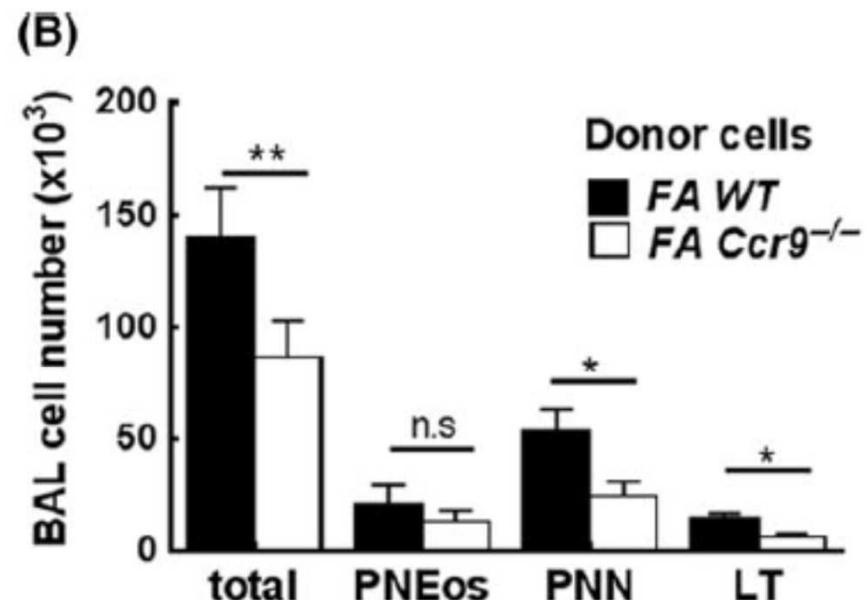
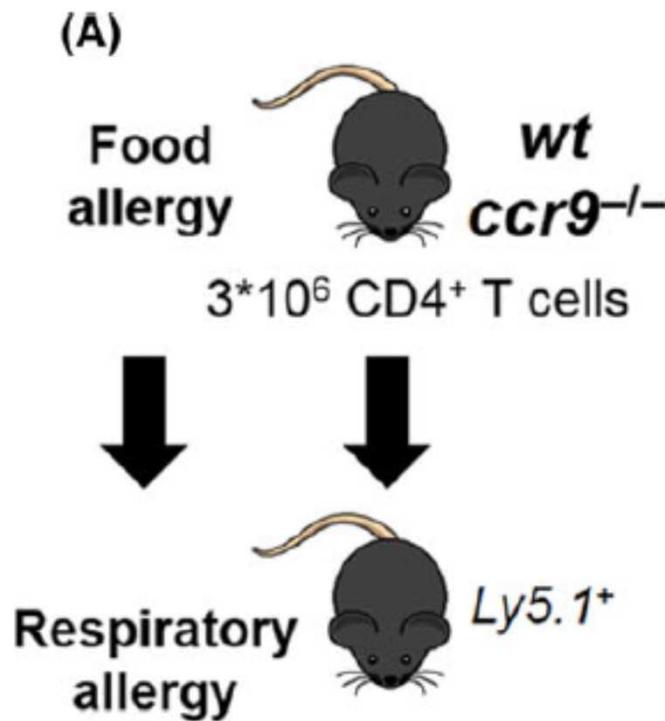
Article



Article



Article





Microbiote et allergie



Bouchaud Grégory, CR

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

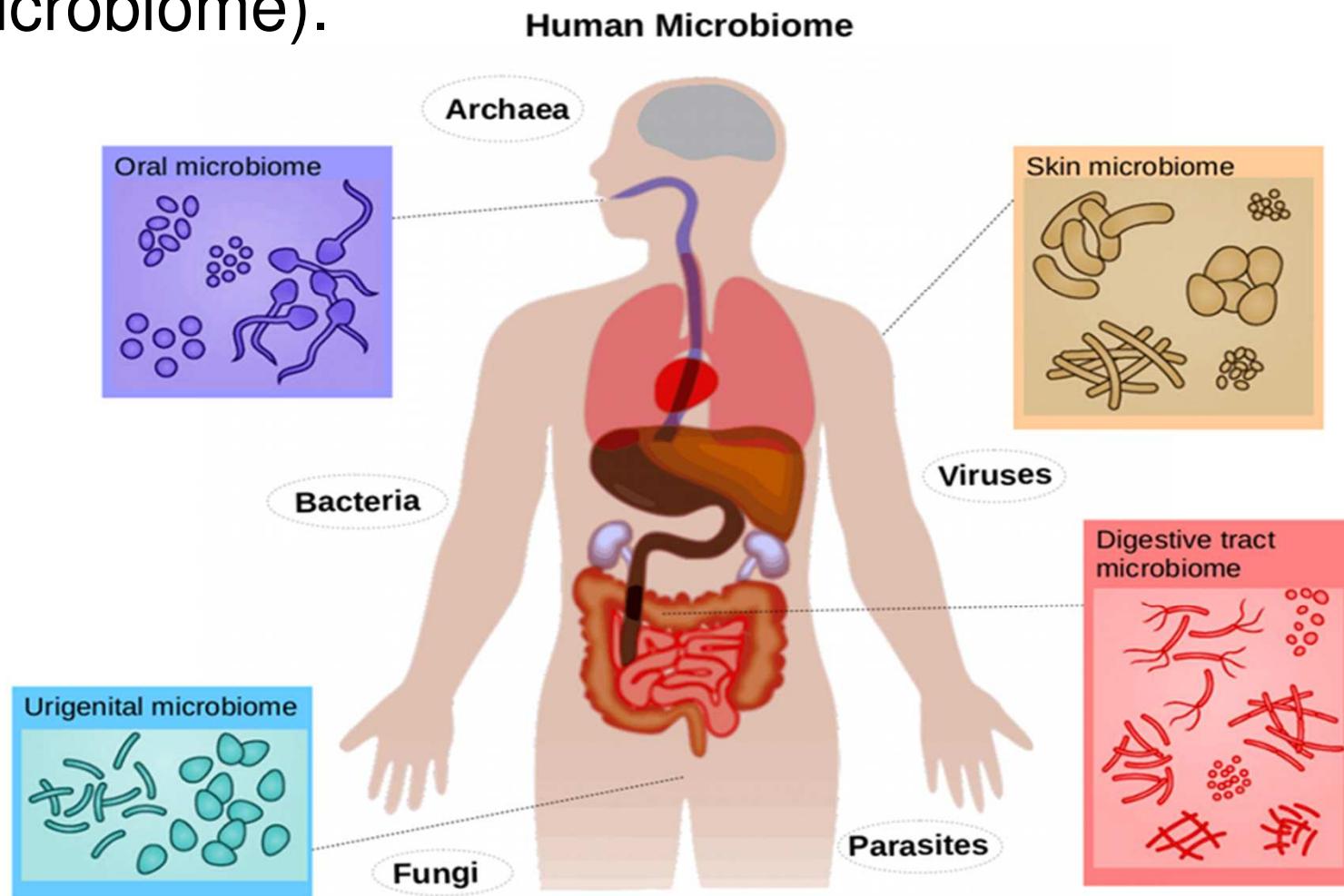


Gregory.bouchaud@inrae.fr



Le microbiote

- Σ microbes, éléments génomiques et leurs interactions dans une niche écologique donnée (microbiome).



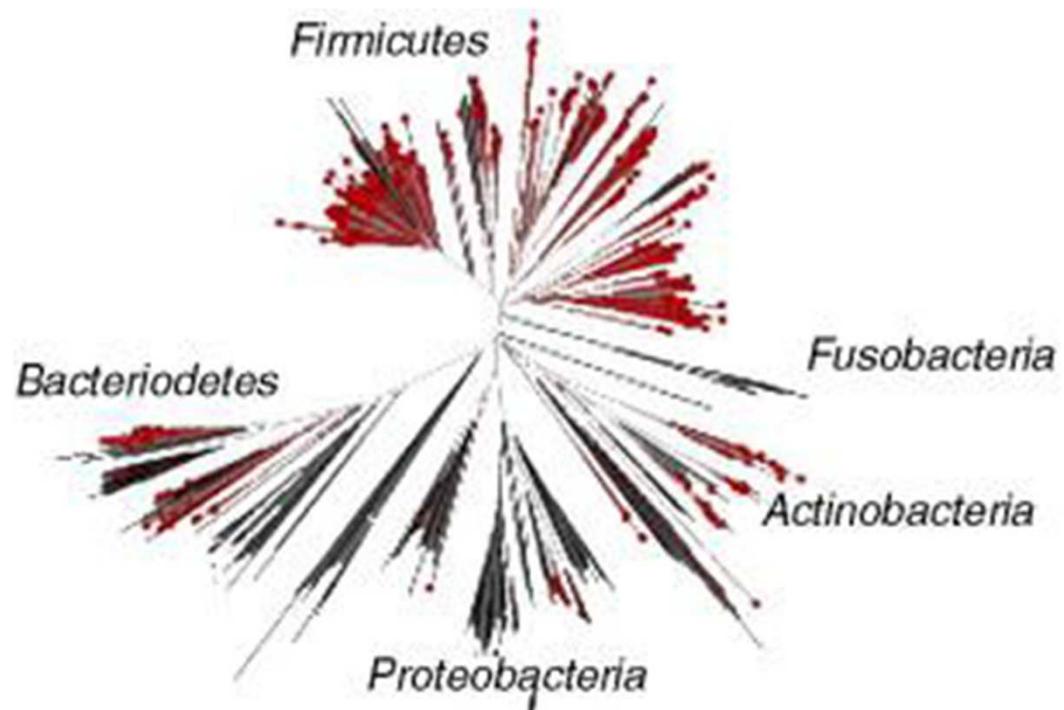


Le microbiote

- Le microbiote varie (composition, diversité) selon les sites (peau, poumons, intestin....) → **originalité de site et d'individus**
- Son établissement est liée à l'hôte donc fortement **influencable** (antibiotique, alimentation, environnement...)
- Retard ou altération du microbiote → risque accrue de pathologies chroniques : allergies, obésité....

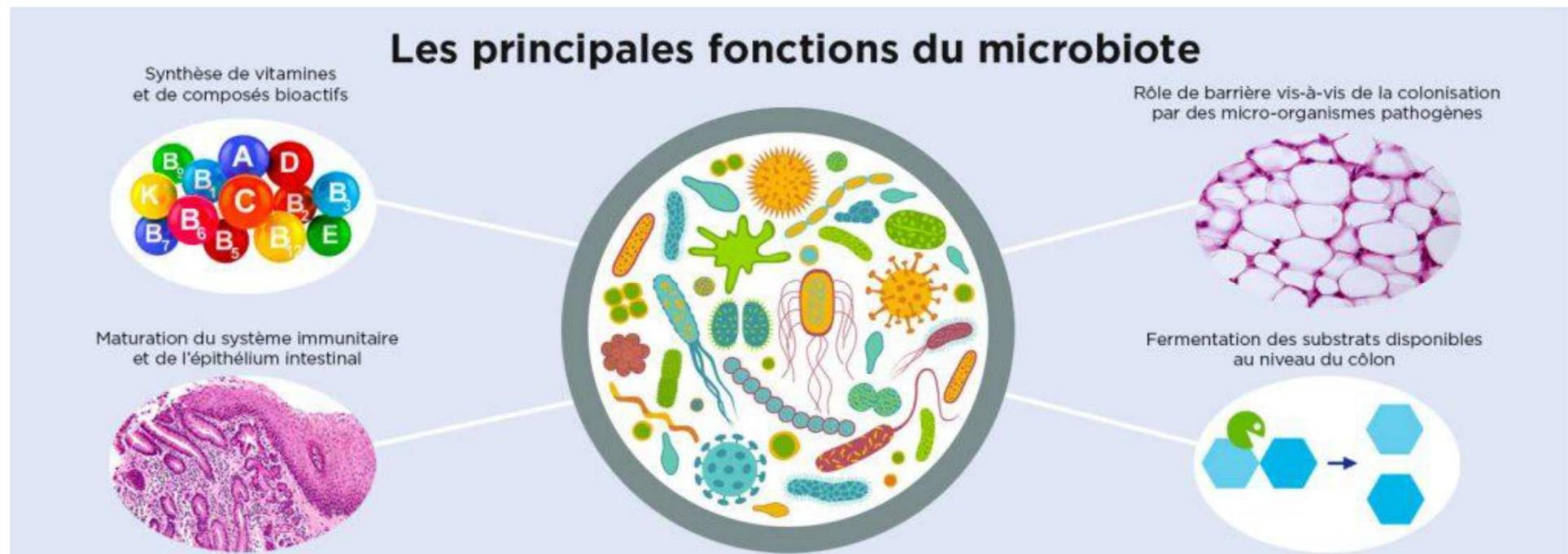
Structure du microbiote

- 1000 espèces bactériennes/individu
- Organe : Structure-Fonction-Relation avec l'hôte
- **Bacteroidetes (20-40)**
Bacteroides fragilis
- **Firmicutes (60-80)**
Staphylococcus
Clostridium
Lactobacillus
- **Actinobacteria**
Bifidobacterium
- **Proteobacteria (<10%)**
Escherichia coli
Klebsiella pneumoniae



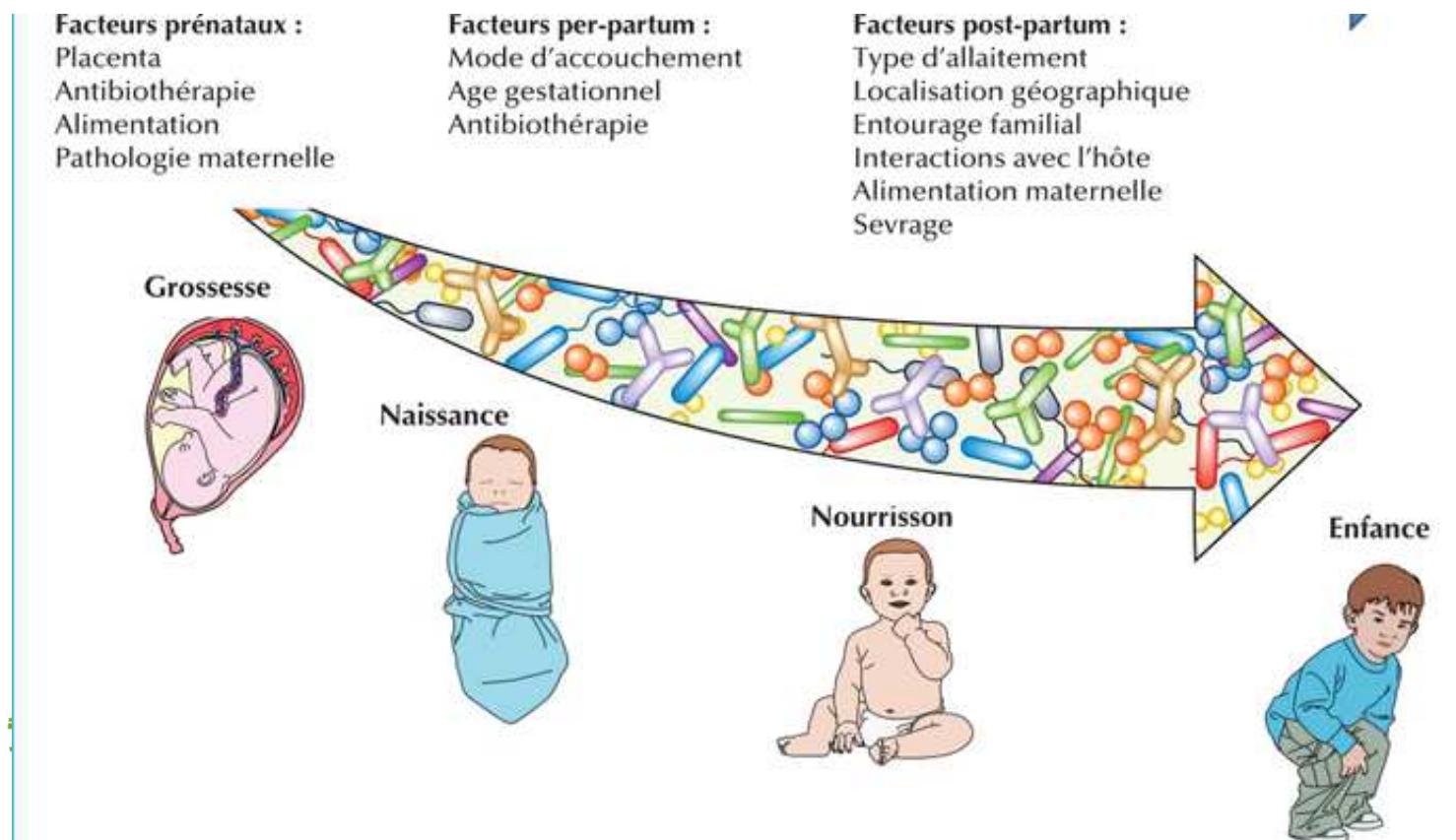
Fonction du microbiote

- Effet digestif : motricité, dégradation, synthèse.
- Effet immunitaire : développement, maturation
- Effet barrière : résistance, perméabilité.
- Effet métabolique : sucre, lipide, fermentation



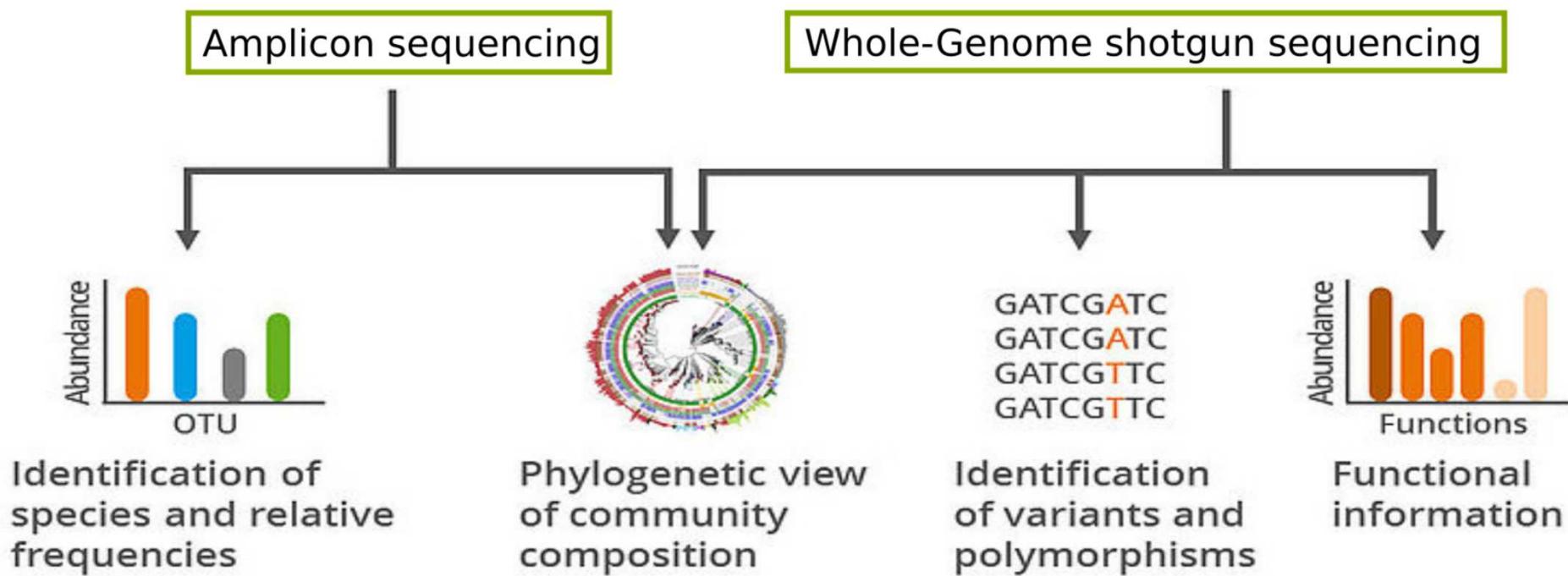
Colonisation : période crucial

- Dès les premiers instants de vie et est modifiable
- Lait maternel : flore bactérienne abondante et diverse (Lactobacillus-Bifidobacterium)
- 2 ans : microbiote stable



Etude du microbiote

- Culture : Vivante, aérobie (anaérobiose facultative) => Partielle (20-30%)
- Moléculaire : vivante ou morte
- Métagénomique : 16S ou Shotgun





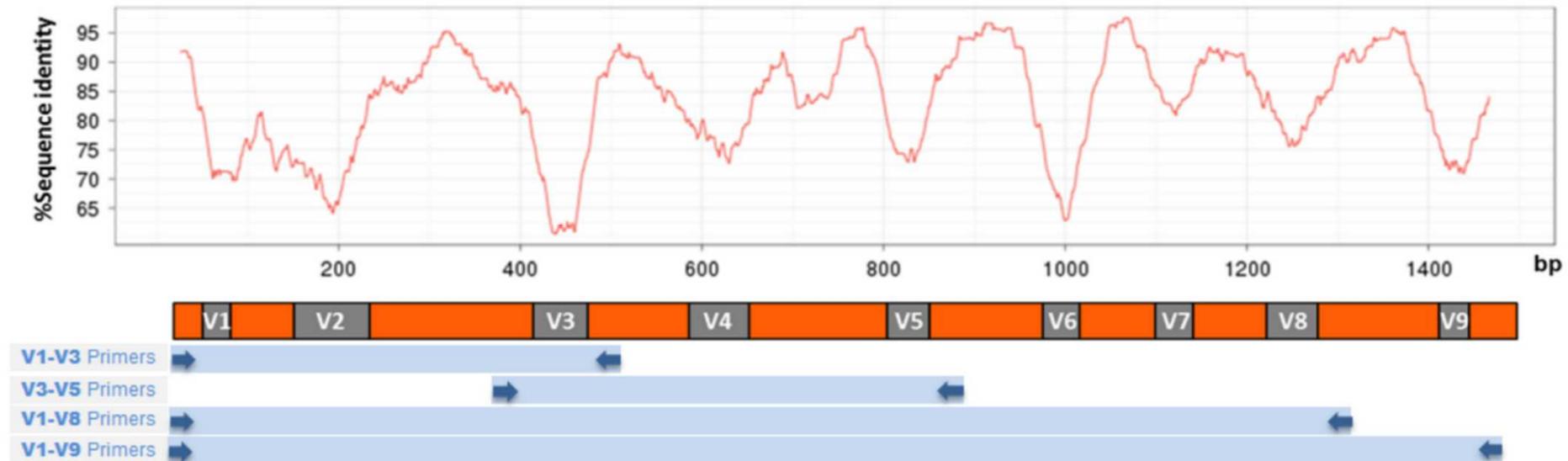
Etude du microbiote

- **Shotgun** : Séquençage de l'ADN total

- Mélange de plusieurs génomes
- Pas d'a priori
- Information maximale
- Complexité d'analyse

Etude du microbiote

- **Ciblé** : Séquençage 16S (ARN non codant avec des régions conservées et variables) : présent chez les bactéries
- 1 région spécifique séquencée et amplifiée
- Analyses plus rapides et facilitées
- Plusieurs méthodologies publiées





Evaluation du microbiote

- **Diversité** : Abondance relative
- **Index** : Shannon, Simpson, chao

α -diversité : intrinsèque à chaque échantillon

β -diversité : comparaison des échantillons entre eux

Chao-1 : Richesse + correction pour diversité

Shannon/simpson : Richesse + diversité

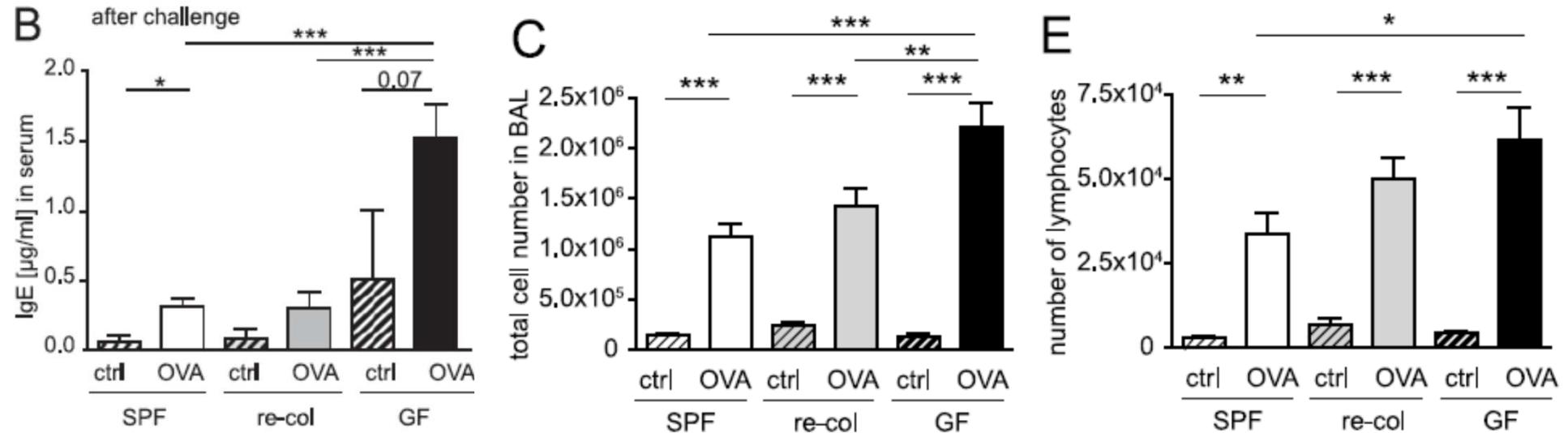
Allergies et microbiome

- **Hypothèse de l'hygiène** (Strachan 1989) : Relation inverse entre exposition microbienne dans la petite enfance et le risque allergique.
- **Hypothèse microbienne** (Rook 2008) : « if an environmental change was related to the increase of allergic (and autoimmune) disease, it should satisfy 2 criteria: (1) it must be something that has been present throughout the evolution of the mammalian immune system, and (2) it must be something that has been progressively depleted from the environment of developed countries ».
- ➔ Microbiome : toujours présent, différences individuelle (allergiques *versus* non allergiques)

Rôle du microbiome dans l'asthme

- Modèles précliniques
 - Microbiote intestinale et asthme

Herbst et al, 2011



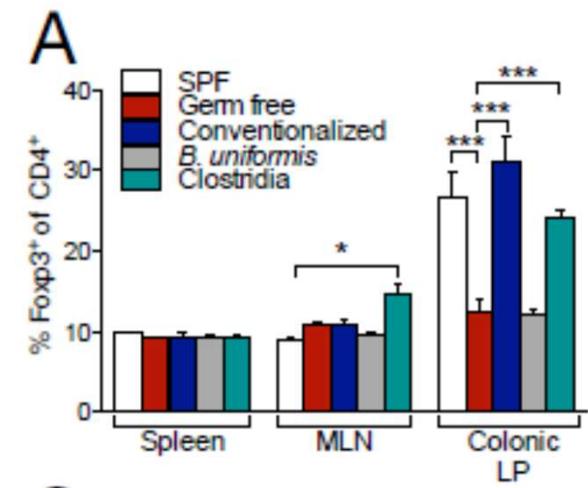
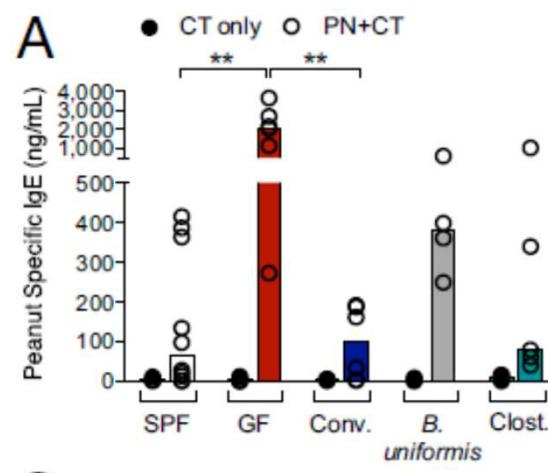
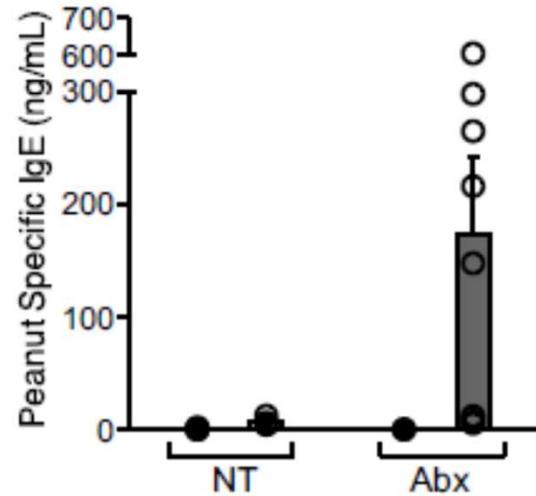
Le microbiote joue un rôle protecteur dans l'asthme allergique chez la souris.

Rôle du microbiome dans l'allergie

➤ Modèles précliniques

➤ Microbiote intestinale et allergie alimentaire

Stefka *et al*, 2014



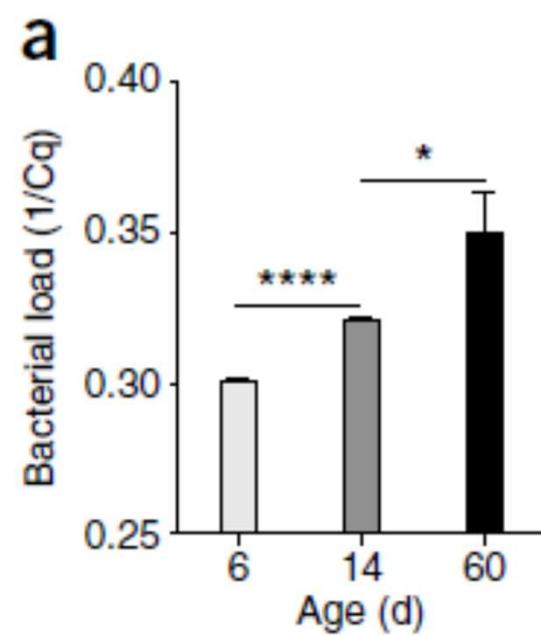
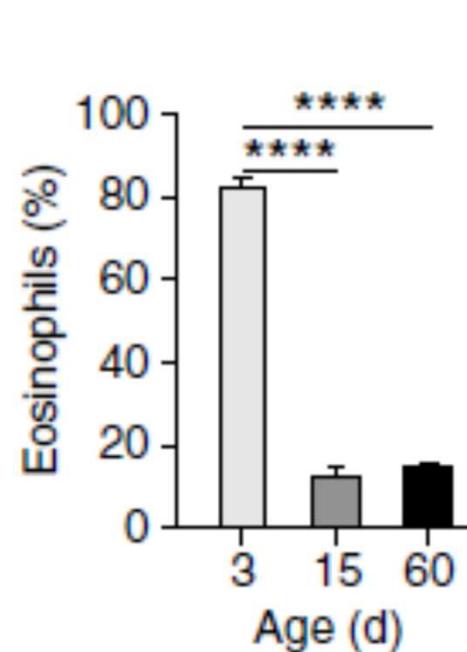
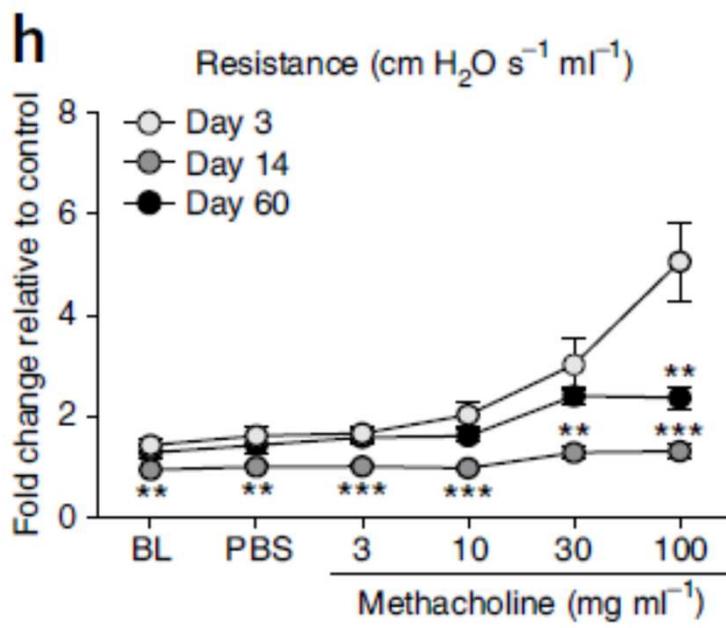
Le microbiote joue un rôle protecteur l'allergie alimentaire chez la souris.

Rôle du microbiome pulmonaire

➤ Modèles précliniques

➤ Microbiote pulmonaire et asthme

Gollwitzer *et al*, 2014

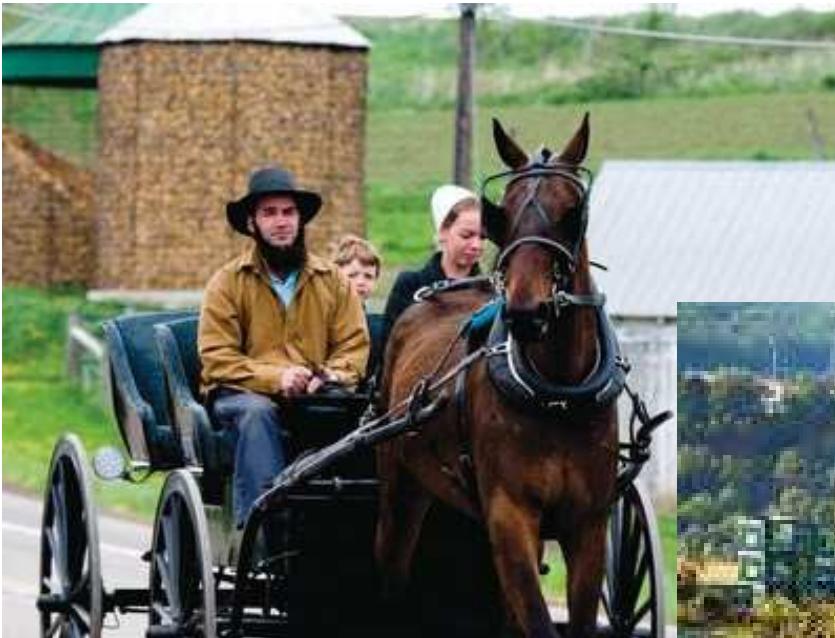


Le microbiote joue un rôle protecteur dans l'asthme allergique chez la souris.

Théorie hygiéniste

- Etudes clinique
 - Amish et huttérites

Stein et al, 2016

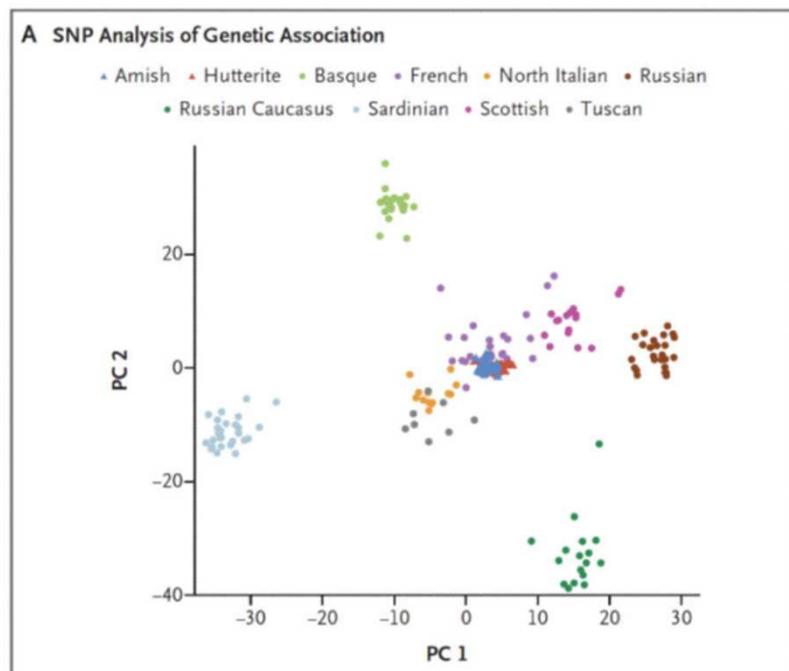


Rôle de l'environnement

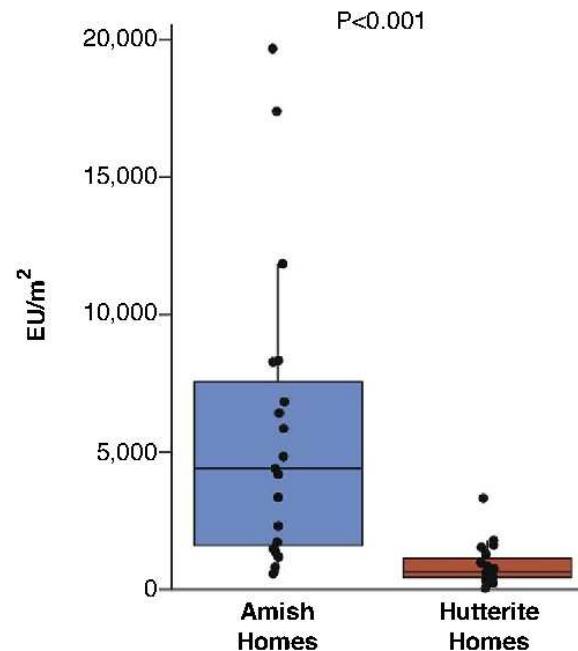
- Etudes clinique
- Amish et huttérites

Stein et al, 2016

	Amish	Hutterites
Asthma	5.2 %	21.3 %
Atopy	7.2%	33.3%



Endotoxin Levels in Airborne Dust

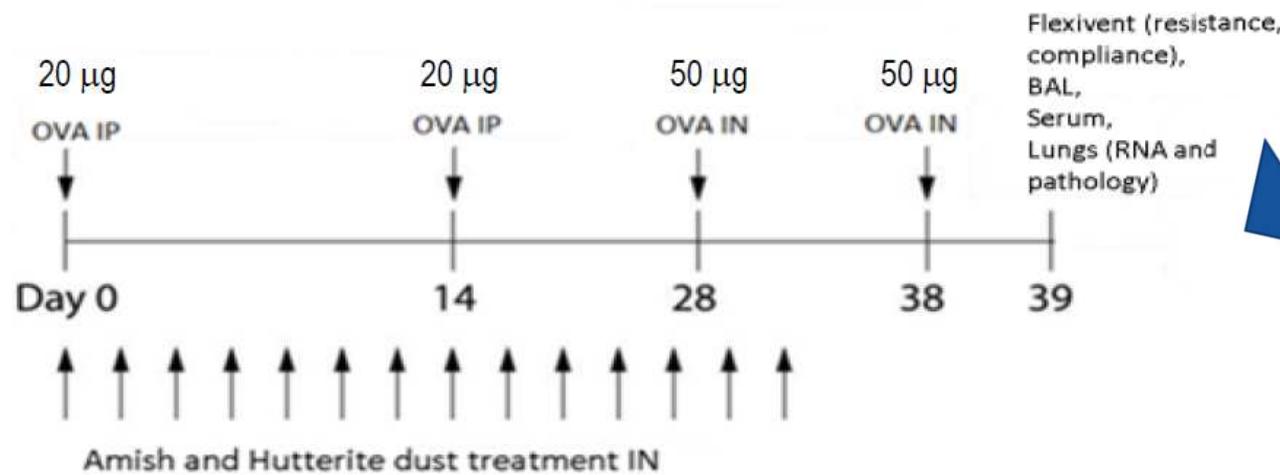


L'environnement riche en micro-organismes joue un rôle protecteur dans l'asthme.

Microbiote pulmonaire

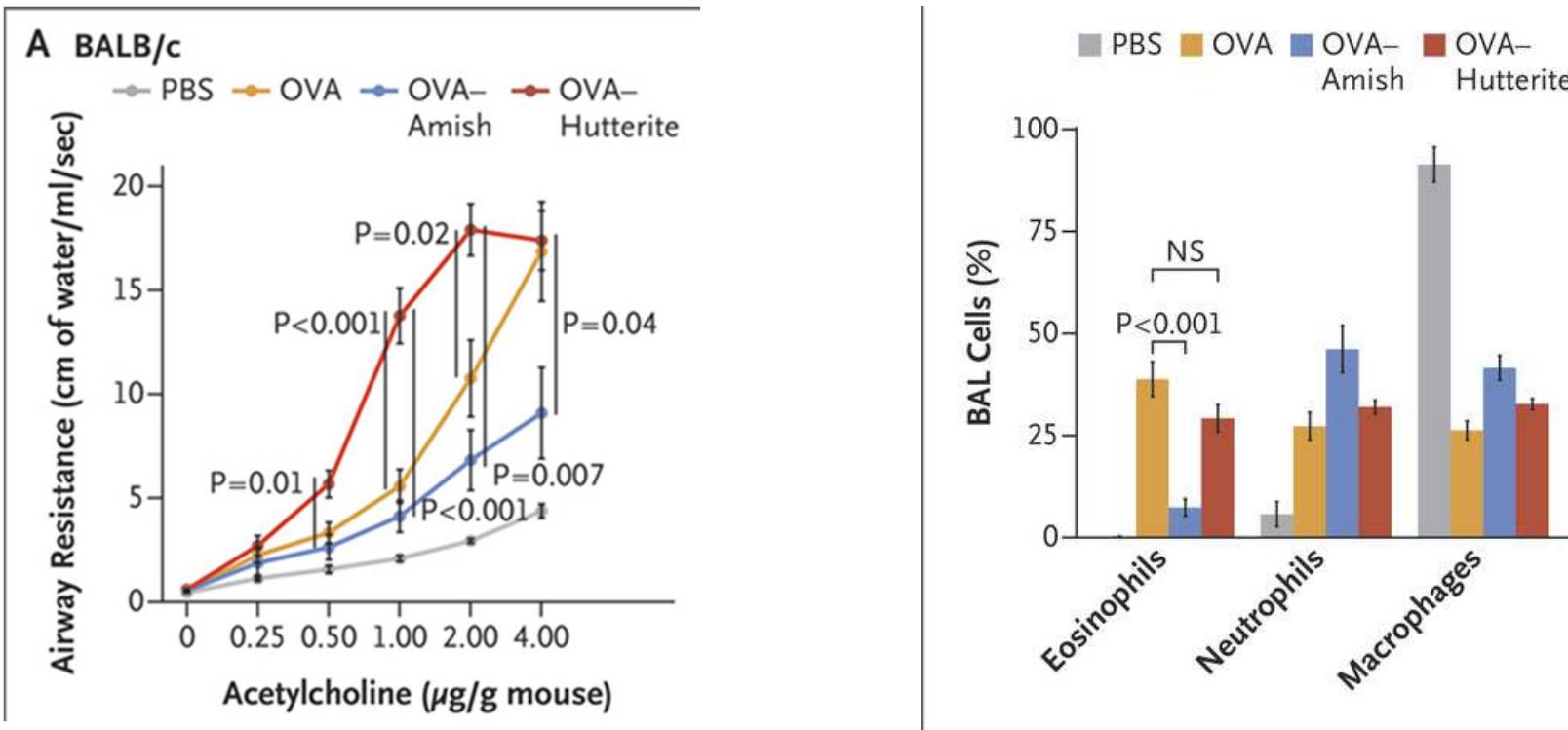


Amish ou
hutterite



Microbiote pulmonaire

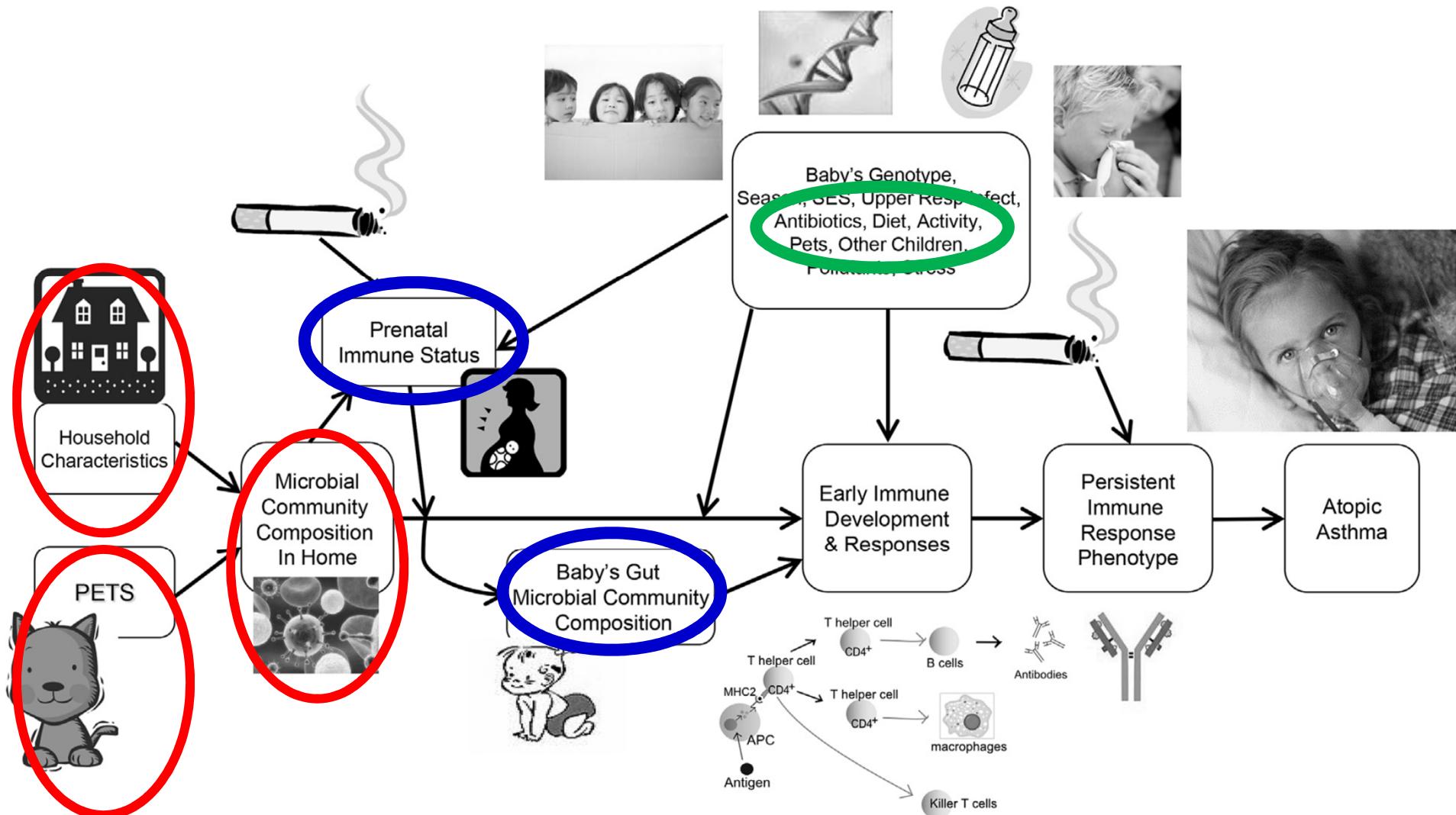
➤ Bactérie ayant une activité anti-inflammatoire



Les poussières de maison Amish protègent de l'asthme (composition, diversité) via un mécanismes MyD88 et Trif dépendant.

Allergies et microbiome

Une maladie complexe et multi factoriel

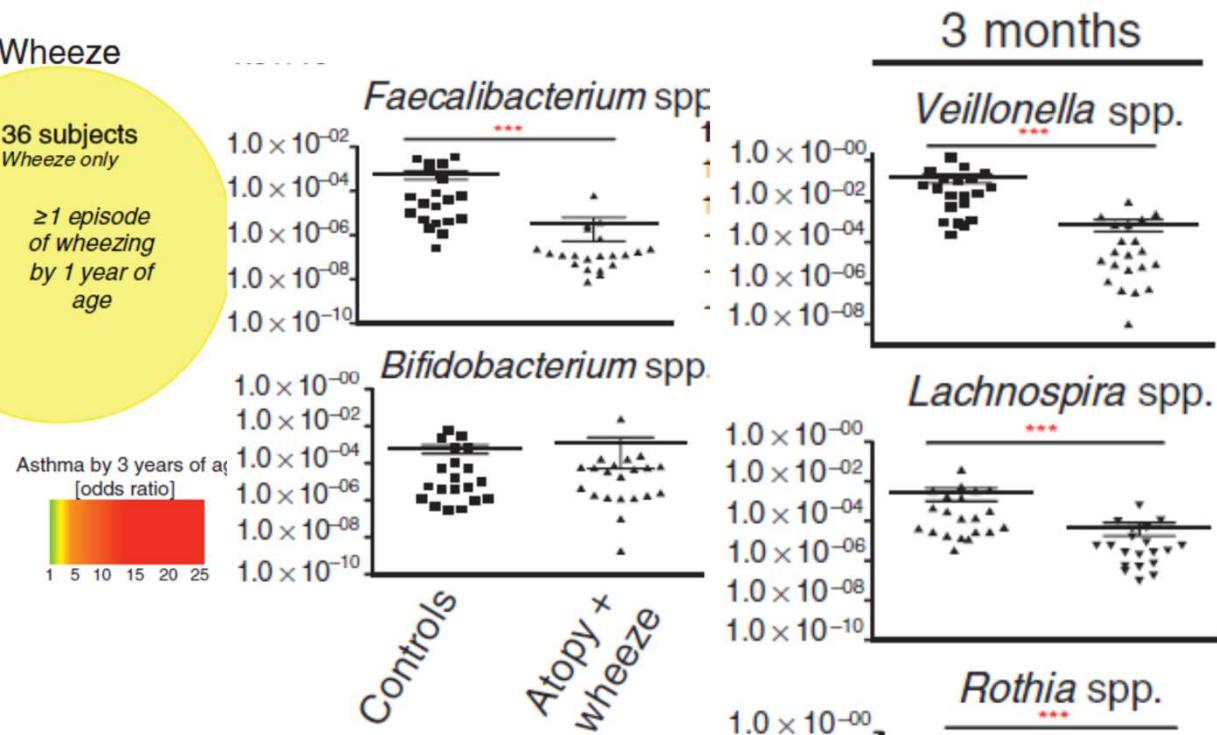
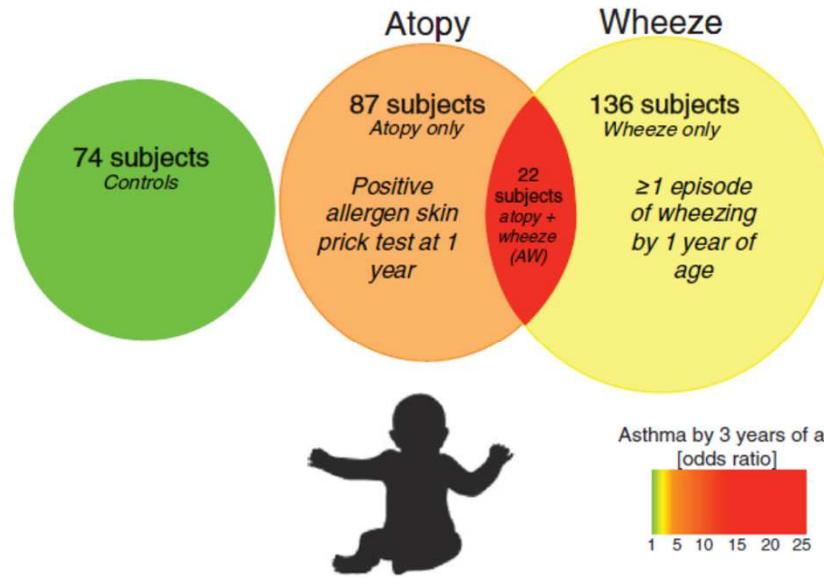


Microbiote intestinale

➤ Etudes cliniques

➤ Asthme et microbiote

Arrieta et al, 2015 - Stiensma et al, 2016



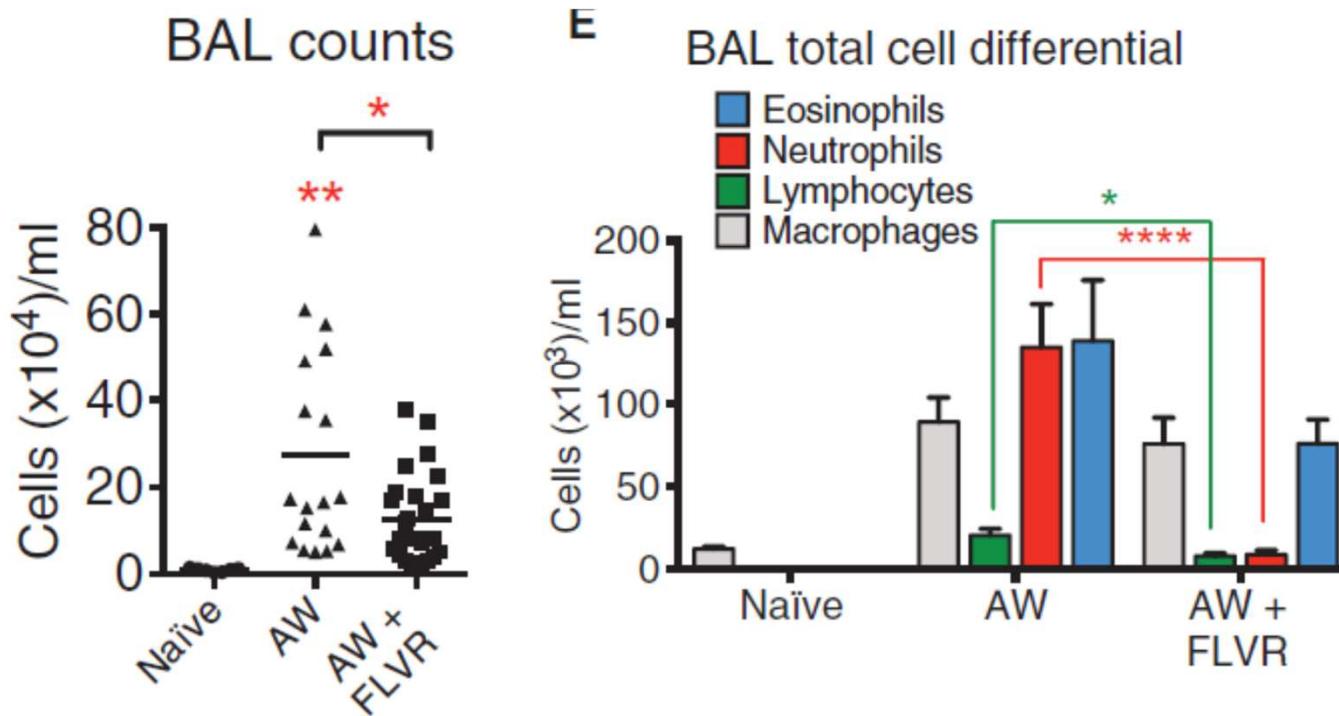
L'altération du microbiote à 3 mois affecte l'asthme de l'enfant

Microbiote intestinale

➤ Etudes cliniques

➤ Asthme et microbiote

Arrieta *et al*, 2015 - Stiensma *et al*, 2016



*Le microbiote infantile favorise l'asthme chez la souris et
FLVR réduit l'asthme
Rôle de ce consortium dans la pathogénèse.*

Utiliser le microbiote

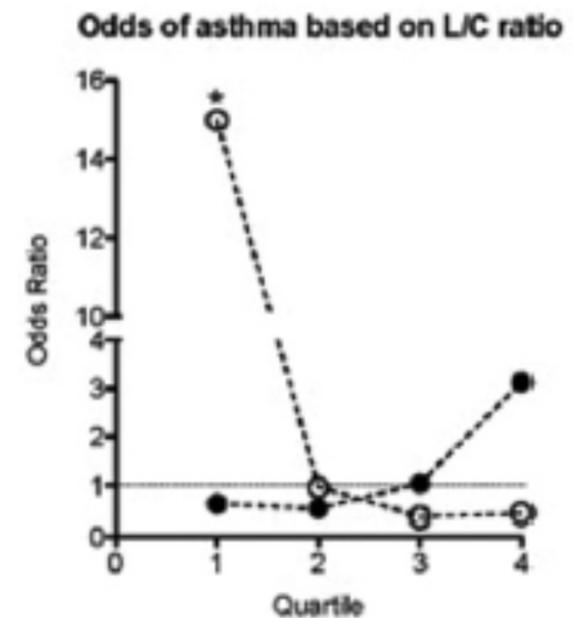
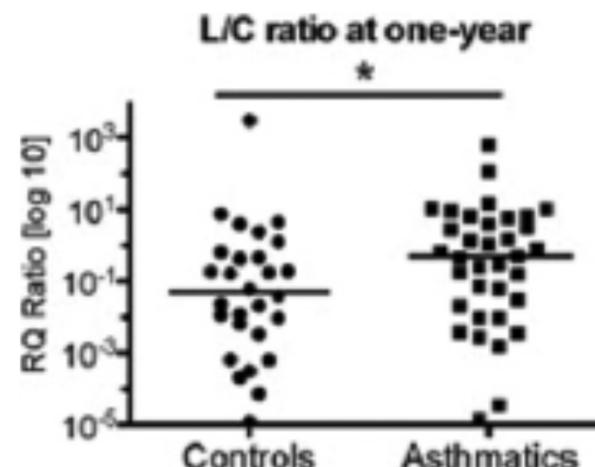
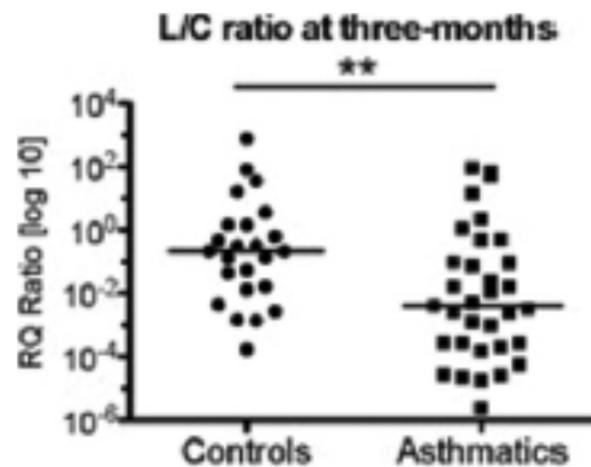
- Rôle prépondérant largement démontré.
- Comment le microbiome influence la réponse immune?
 - Au niveau pulmonaire et intestinale en lien avec l'asthme
- Développement d'approche clinique (diagnostique, préventif, thérapeutique) basée sur le microbiome dans l'allergie.

Utiliser le microbiote

➤ Etudes cliniques

➤ Asthme et microbiote

Arrieta et al, 2015 and Stiensma et al, 2016



Le microbiote de l'enfant est prédictif de la survenue de l'asthme

Article

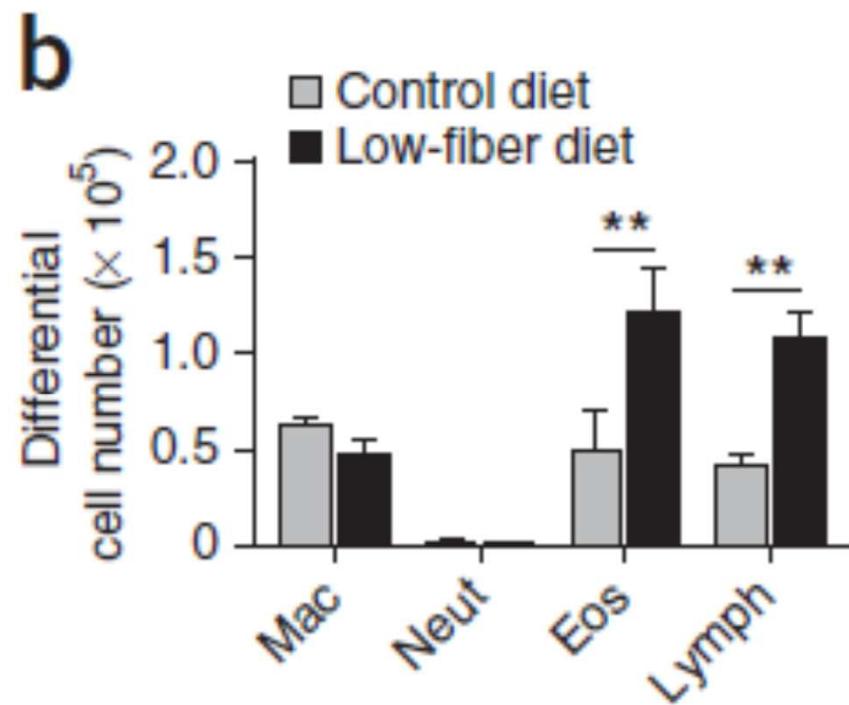
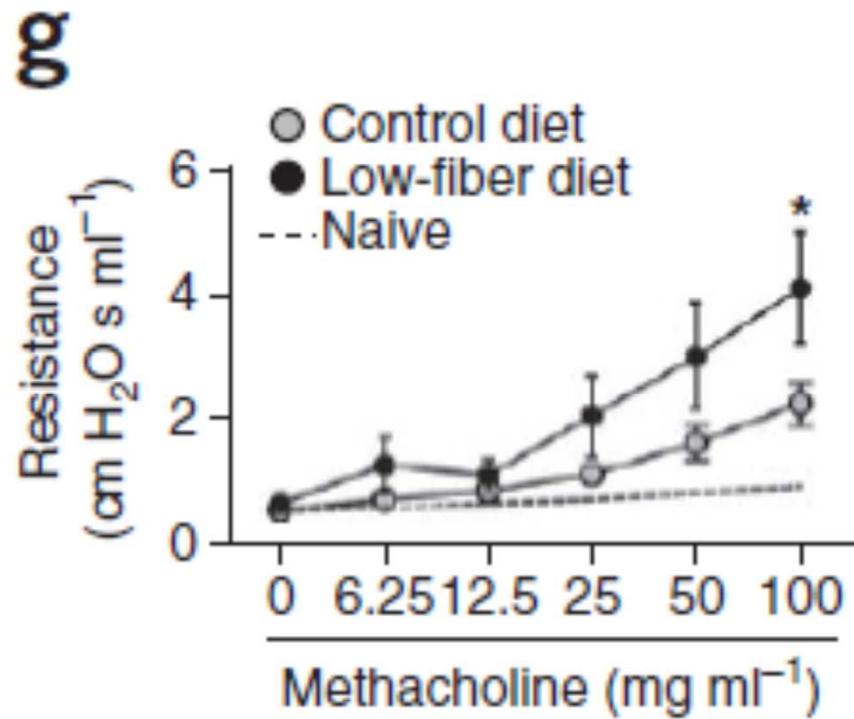
ARTICLES

nature
medicine

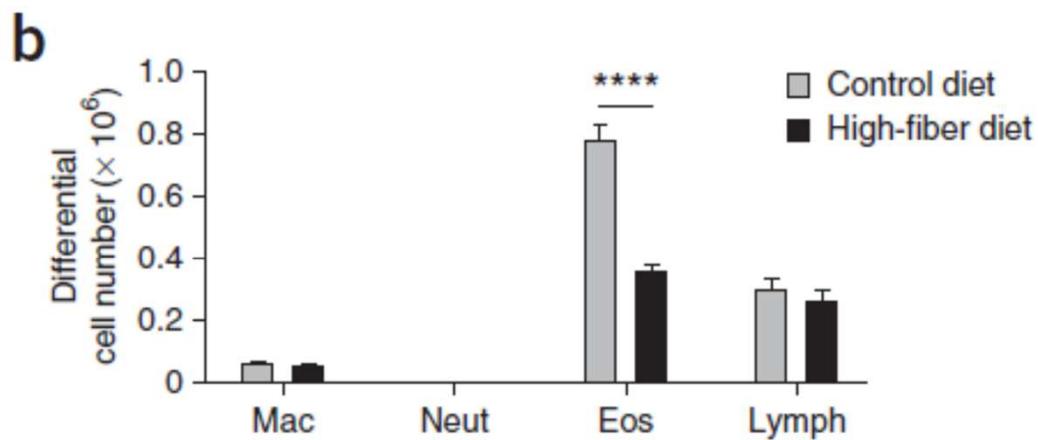
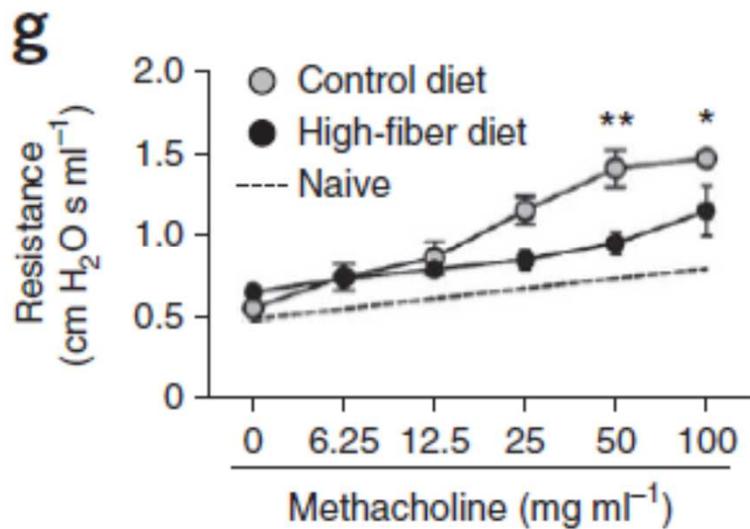
Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis

Aurélien Trompette¹, Eva S Gollwitzer¹, Koshika Yadava¹, Anke K Sichelstiel¹, Norbert Sprenger², Catherine Ngom-Bru², Carine Blanchard², Tobias Junt³, Laurent P Nicod¹, Nicola L Harris⁴ & Benjamin J Marsland¹

Article

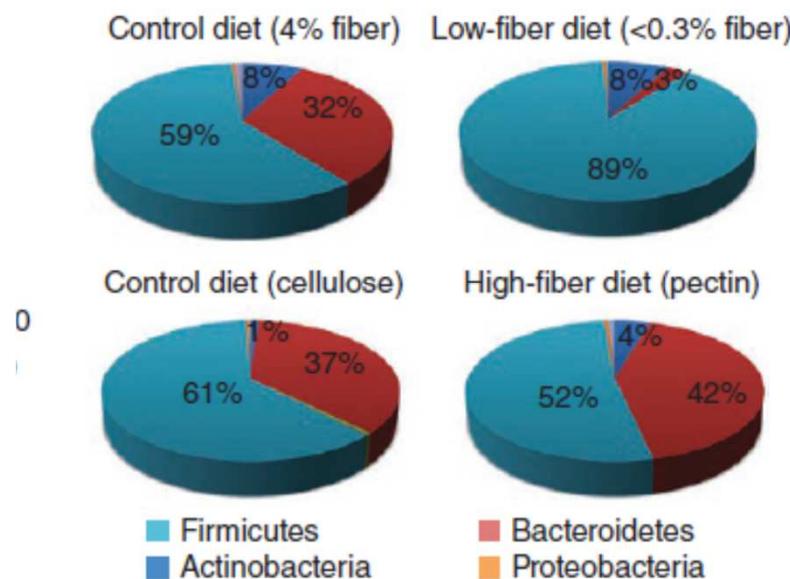


Article

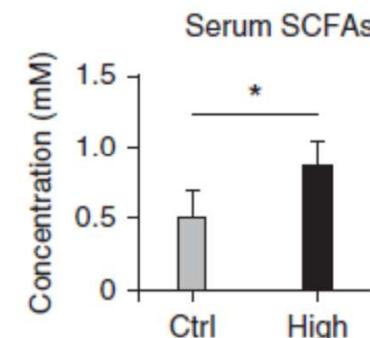
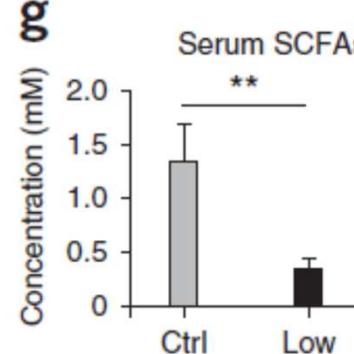


Article

d



e



Article

