

Les endotoxines dans l'asthme : amies ou ennemies ?

BEDORET D., LEKEUX P., BUREAU F.

¹ Faculté de Médecine vétérinaire, Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Moléculaire, GIGA-R, Université de Liège, 1, Avenue de l'Hôpital, 4000 Liège, Belgique

Correspondance : Dr Denis Bedoret – tél. : 0032/(0)4/366.40.53 – Email : denis.bedoret@ulg.ac.be

RÉSUMÉ : Le système respiratoire est continuellement exposé à un large spectre d'antigènes environnementaux non pathogéniques. En l'absence de signal proinflammatoire, l'inhalation d'antigènes inoffensifs induit une tolérance immunologique. Dans ces conditions, les cellules dendritiques pulmonaires stimulent le développement de lymphocytes T régulateurs. Néanmoins, les études épidémiologiques montrent que l'air ambiant ne contient pas que des antigènes inertes mais également des molécules immunostimulatrices d'origine microbienne dont les endotoxines. La présence dans l'environnement de ce composant de la paroi des bactéries négatives est ubiquiste. Malgré le fait que l'exposition à de hauts niveaux d'endotoxines durant l'enfance semble protéger contre la sensibilisation allergique, la plupart des études montrent que les endotoxines contenues dans la poussière domestique constituent un facteur de risque significatif pour la prévalence et la sévérité de l'asthme. Quand le système respiratoire est stimulé par les endotoxines aérogènes, les cellules dendritiques perdent leurs propriétés tolérogènes et deviennent capables d'induire le développement d'une réponse allergique. Bien que les endotoxines sont omniprésentes dans l'environnement et favorisent l'allergie des voies respiratoires, seulement une minorité de personnes est asthmatique. Ces observations contradictoires impliquent l'existence de mécanismes protecteurs non encore décrits capables de prévenir les réponses allergiques induites par les endotoxines.

INTRODUCTION

L'allergie respiratoire, et en particulier l'asthme atopique, a atteint des proportions épidémiques au cours des dernières décades. L'asthme affecte actuellement 300 millions d'individus dans le monde engendrant des coûts de plus en plus importants pour les systèmes de santé occidentaux (Masoli *et al.*, 2004 ; Braman, 2006).

Cette maladie est caractérisée par une bronchoconstriction réversible, une augmentation de la production de mucus dans les voies respiratoires, un accroissement de la quantité d'immunoglobulines de type E (IgE) dans le sang, et une hyperréactivité bronchique non-spécifique permanente, lesquels résultent d'une inflammation chronique à éosinophiles des voies respiratoires (Busse et Lemanske, 2001). D'un point de vue immunologique, l'asthme atopique peut être défini comme une réaction allergique localisée aux bronches et aux bronchioles

et dirigée contre des aéroallergènes normalement inoffensifs, tels que les déjections d'acariens, les spores de champignons ou les pollens (Holgate, 2008).

La description de deux sous-types de lymphocytes T auxiliaires CD4+, les lymphocytes CD4+ de type 1 (T helpers 1, Th1) et de type 2 (Th2), a permis un progrès considérable dans la compréhension des mécanismes régulateurs de la réponse immune (Mosmann *et al.*, 1986). La réaction asthmatique est orchestrée par les cytokines dérivées des lymphocytes Th2 (Wills-Karp, 2004). Celles-ci comprennent l'interleukine (IL)-4, l'IL-3, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-9, l'IL-13 et le GM-CSF (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor). Ensemble, ces cytokines ont la capacité d'initier et d'entretenir la réponse immune de type allergique (Kay, 2001). L'IL-4, l'IL-13 et l'IL-9 stimulent la production d'IgE par les lymphocytes B. L'IL-5, mais aussi l'IL-3, le GM-CSF

et l'IL-9, permettent le recrutement, l'activation et la survie des éosinophiles. L'IL-3, l'IL-4, l'IL-6 et l'IL-9 favorisent le développement et l'activation des mastocytes. Enfin, l'IL-13 joue un rôle prépondérant dans la production accrue de mucus et dans l'apparition de l'hyperréactivité bronchique caractéristique de l'asthme (Wills-Karp *et al.*, 1998).

Les lymphocytes Th2 sont issus de la polarisation des lymphocytes T CD4+ naïfs. Cette polarisation requiert la présentation de l'allergène aux lymphocytes Th naïfs par les cellules dendritiques qui sont les principales cellules présentatrices d'antigènes capables d'initier une réponse immune primaire et de stimuler, dans les voies respiratoires, les lymphocytes Th2 mémoires (Lambrecht *et al.*, 1998). L'activation des lymphocytes Th2 par les cellules dendritiques nécessite trois signaux distincts (Kapsenberg *et al.*, 2000). Un premier signal est la reconnaissance de l'allergène porté par le com-

plexe majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules dendritiques par le récepteur des lymphocytes. Un deuxième signal obligatoire est la liaison du récepteur CD28 présent à la surface des lymphocytes au CD86 ou au CD80 des cellules dendritiques. Enfin, les lymphocytes Th2 ne se développent et ne sont activés que dans un climat cytokinique favorable, c'est-à-dire en présence de quantités suffisantes d'IL-4 et de faibles concentrations en IL-12 et interféron (IFN)- γ , deux cytokines pro-Th1 (Kapsenberg *et al.*, 2000 ; Romagnani, 2006).

En l'absence de signal de danger, l'inhalation d'un antigène inoffensif résulte dans le développement d'une tolérance immunologique vraie. Dans ces conditions, deux sous types de cellules dendritiques pulmonaires — les cellules dendritiques myéloïdes productrices d'IL-10 (Akbari *et al.*, 2001) et les cellules dendritiques plasmacytoïdes (de Heer *et al.*, 2004) — induisent le développement de lymphocytes T régulateurs spécifiques de l'antigène (Akbari *et al.*, 2001 ; de Heer *et al.*, 2004 ; 2005).

Cependant, les études épidémiologiques montrent que l'air ambiant ne contient pas que des antigènes inertes mais aussi des molécules d'origine microbienne capables de stimuler le système immunitaire (Michel, 2003 ; Akira et Takeda, 2004). Depuis plusieurs années, de nombreuses études ont été consacrées aux relations entre les conditions environnementales et l'asthme, et plus particulièrement à ce que l'on appelle la théorie de l'hygiène. Selon cette hypothèse, le développement de l'asthme est en partie dû à un manque d'expositions aux infections et aux substances microbiennes chez le jeune enfant (Eder *et al.*, 2006). Deux des facteurs environnementaux dont on pense qu'ils jouent les rôles les plus importants sont les infections virales et l'exposition aux endotoxines (Wenzel et Covar, 2006). L'influence de l'exposition aux endotoxines sur le développement de l'asthme a fait l'objet de nombreuses études et continue à susciter l'intérêt. Considérées dans leur ensemble, ces études semblent montrer que les endotoxines entretiennent une relation ambiguë avec l'asthme, étant tantôt capable d'exacerber les manifestations de l'asthme et tantôt exerçant des effets protecteurs contre cette maladie.

LES ENDOTOXINES

Sources

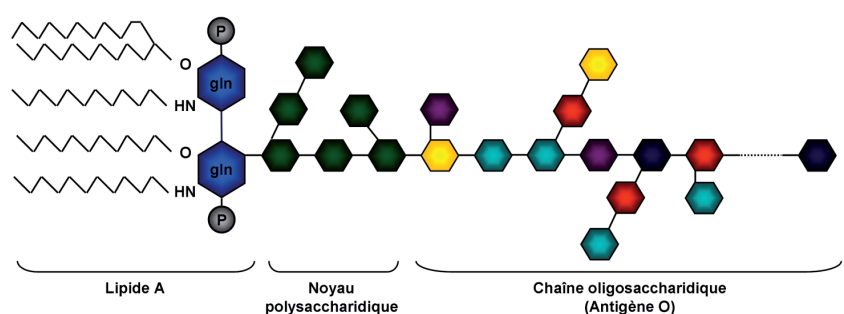
Les endotoxines ou lipopolysaccharide (LPS) sont localisées dans la couche externe de la membrane externe des bactéries gram négatives et constituent la principale molécule de surface de ces bactéries (Trent *et al.*, 2006). Ce glycolipide constitue une des principales structures microbiennes responsables de l'activation du système immunitaire inné. Le LPS étant continuellement déversé dans l'environnement, sa présence y est ubiquiste et aucun organisme n'est à l'abri de leurs effets. Les sources de LPS aéro-gène sont très variées et incluent, entre autres, les poussières domestique et agricole, l'eau du robinet, le lait et les systèmes de ventilation et de chauffage (Lapa e Silva *et al.*, 2000 ; Reed et Milton, 2001 ; Michel, 2003). Dans la poussière domestique, la contamination par le LPS est comprise entre 300 et 18000 ng/g (Michel *et al.*, 1996 ; Milton *et al.*, 1997 ; Rizzo *et al.*, 1997 ; Thorn et Rylander, 1998a ; Douwes *et al.*, 1999 ; Douwes *et al.*, 2000 ; Gereda *et al.*, 2000a ; Park *et al.*, 2001). Des niveaux élevés dans l'air pouvant atteindre 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ont également été rapportés dans certaines conditions environnementales (Michel, 2003).

Structure

Les LPS sont des complexes macromoléculaires toxiques présents de manière constitutive dans la membrane externe de toutes les bactéries à Gram négatif. Sur le plan structural, les LPS de nombreuses Gram négatives (dont celui d'*Escherichia coli* et d'autres membres de la famille des entérobactéries) sont organisés en trois domai-

nes structuraux : lipide A, un petit noyau (ou core) polysaccharidique et une chaîne oligosaccharidique appelée antigène O (Raetz et Whitfield, 2002 ; Trent *et al.*, 2006). Le lipide A constitue l'ancrage hydrophobique du LPS à la membrane (figure 1). Il est lié de manière covalente à la partie hétéropolysaccharide hydrophilique (Rietschel *et al.*, 1994). Le lipide A est constitué de deux sucres aminés liés par une liaison bêta 1-6, phosphorylés et liés à des acides gras hydroxylés sur leur troisième atome de carbone ainsi qu'à un ou deux autres acides gras non hydroxylés. La nature des sucres aminés (glucosamines ou parfois 3-aminoglucosamine) ainsi que la nature et le nombre des acides gras sont variables selon les espèces bactériennes. Le lipide A est doué de propriétés toxiques et correspond à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif qui n'est libérée, de manière massive, qu'après lyse de la bactérie. Le lipide A représente ainsi le domaine responsable de l'activité biologique du LPS et de l'activation du système immunitaire inné (Lapa e Silva *et al.*, 2000 ; Trent *et al.*, 2006). Une variation dans le domaine lipide A constitue, dès lors, une des stratégies des bactéries Gram négatives pour échapper à la reconnaissance par le système immunitaire (Trent *et al.*, 2006). Ainsi un certain nombre de pathogènes (incluant *Helicobacter pylori*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*...) synthétisent un lipide A qui n'est que très faiblement reconnu par le *Toll-like receptor* (TLR)4 (Trent *et al.*, 2006). Les clés de la structure du lipide A déterminant la capacité d'activation du TLR4 incluent les groupes phosphates ainsi que la longueur et le nombre des chaînes d'acides gras (Trent *et al.*, 2006). Le lipide A prototypique de *E. coli* contient 2 grou-

Figure 1 : structure schématique de la molécule de lipopolysaccharide. Le lipide A ancre la molécule dans la paroi bactérienne et est lié de manière covalente à un noyau polysaccharidique et à une chaîne variable oligosaccharidique, appelée Antigène O.



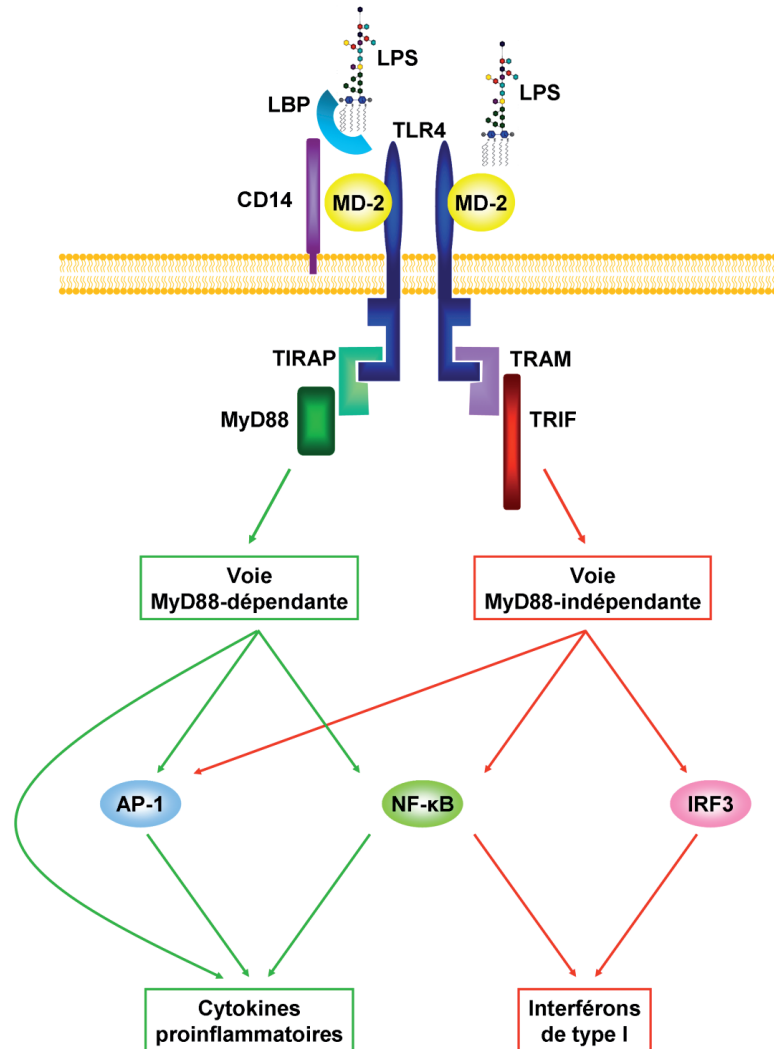
pes phosphates et six chaînes d'acides gras composées de 12 à 14 carbones et est un activateur puissant du système immunitaire (Takada et Kotani, 1989).

La fraction polysaccharidique est constitué d'un noyau (ou core) interne lié au lipide A et d'un noyau (ou core) externe lié à une chaîne polysaccharidique terminale appelée aussi chaîne O spécifique. Elle est responsable de la spécificité antigénique O permettant de décrire des sérovars au sein d'une même espèce bactérienne.

Voies de signalisation

Le LPS libéré de la membrane des bactéries s'agrège sous forme de micelles d'un poids moléculaire minimal de 1.000.000 kD. Ces agrégats se lient à des protéines plasmatiques (albumine, LPS binding-protein [LBP]) qui vont servir à convertir les micelles de LPS en particules monomériques qui peuvent interagir avec les cellules hôtes (Reed et Milton, 2001 ; Gioannini *et al.*, 2003). La LBP, particulièrement, se lie au lipide A, et dissocie les complexes de LPS pour former un complexe LBP/LPS de haute affinité capable d'interagir avec le CD14. Le LPS est alors capable d'activer les macrophages et neutrophiles à de très faibles doses (Lapa e Silva *et al.*, 2000 ; Thomas *et al.*, 2002). La LBP permet donc de délivrer la macromolécule de LPS au CD14 (Trent *et al.*, 2006). Le CD14 est une glycoprotéine de 55 kD qui existe sous une forme soluble et une forme membranaire, mCD14, est exprimée dans les monocytes, les macrophages et dans une moindre mesure, les neutrophiles. Elle permet l'activation des cellules myéloïdes. La forme soluble, sCD14, est présente dans le compartiment extracellulaire. Le complexe sCD14/LPS peut se fixer aux cellules non myéloïdes, telles que les cellules endothéliales et épithéliales, aboutissant à leur activation (Lapa e Silva *et al.*, 2000). Le CD14 ne possède pas de domaine intracytoplasmique et ne peut donc à lui seul initier la transduction d'un signal (Reed et Milton, 2001). L'activation cellulaire requiert l'engagement coordonné d'un complexe récepteur trimoléculaire consistant en CD14, TLR4 et MD2 (*myeloid differentiation protein 2*) (Triantafilou *et al.*, 2004). La molécule plus importante de ce triumvirat est le TLR4. Les TLRs sont des récepteurs exprimés par les cellules du système inné et qui sont activés par des motifs structuraux appelés PAMPs (*pathogen-associated mole-*

Figure 2 : schéma de la voie de signalisation du LPS (lipopolysaccharide). La reconnaissance du LPS, facilitée par la LBP (LPS-binding protein) et la protéine CD14, est médiée par le complexe TLR4 (Toll-like receptor 4)/MD-2 (*myeloid differentiation protein 2*). La signalisation induite par la liaison du LPS au TLR4 peut être divisée en une voie MyD88 (*myeloid differentiation primary response gene 88*)-dépendante et une voie MyD88-indépendante, qui aboutissent à l'expression de cytokines pro-inflammatoires et des interférons de type I (adapté d'après Lu et collaborateurs (2008)).



cular pattern) exprimés caractéristiquement par les bactéries, les virus et les champignons (Janeway et Medzhitov, 2002 ; Akira et Takeda, 2004). Le TLR4 est présent à la surface de nombreuses cellules dont les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules épithéliales des voies respiratoires (Reed et Milton, 2001 ; Trent *et al.*, 2006). Après que le TLR4 se soit lié au complexe LPS-CD14 avec l'aide d'une protéine accessoire appelée MD-2 (Shimazu *et al.*, 1999), il initie une cascade de signalisation intracellulaire qui va aboutir à la transcription de plusieurs centaines de gènes qui contribuent au phénotype de la réponse inflammatoire (Alexander et Rietschel, 2001 ; Zhao *et al.*, 2001 ;

Fessler *et al.*, 2002). Le LPS lié au MD2 peut aussi activer le TLR en l'absence de CD14 (Kennedy *et al.*, 2004) et permettre une réponse cellulaire à des concentrations de LPS de l'ordre du picomolaire (Gioannini *et al.*, 2003).

Après reconnaissance du LPS, le TLR4 subit une oligomérisation et recrute plusieurs protéines adaptatrices via des interactions avec les domaines TIR (*toll-interleukin-1 receptor*). Le domaine TIR du TLR4 est essentiel pour la transduction du signal. Il existe cinq protéines adaptatrices contenant un domaine TIR : MyD88 (*myeloid differentiation primary response gene 88*), TIRAP (*TIR domain contai-*

ning adaptator), TRIF (*TIR domain containing adaptator inducing IFN- β*), TRAM (*TRIF-related adaptator molecule*) et SARM (*sterile α and HEAT-Armadillo motifs-containing protein*) (O'Neill et Bowie, 2007). La signalisation du TLR4 a été divisée en deux voies : une MyD88-dépendante et une MyD88-indépendante. La voie MyD88-dépendante est responsable de l'expression des cytokines pro-inflammatoires tandis que la voie indépendante induit l'expression des interférons de type I et des gènes inducibles par les interférons (figure 2) (Lu *et al.*, 2008).

Après la stimulation du LPS, MyD88 recrute et active différentes familles de kinases, aboutissant à la phosphorylation et à la dégradation de I κ B (*inhibitor of κ light chain enhancer in B cells*). Ce processus induit la translocation nucléaire du facteur de transcription NF- κ B (*nuclear factor κ B*), l'expression de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (par ex. les IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IFN- γ , TNF- α , GM-CSF...) ainsi que d'autres gènes liés au système immunitaire telles que des molécules d'adhésion (l'*intercellular adhesion molecule*, ICAM et la *vascular cell adhesion molecule*, VCAM), des protéines de la phase aigüe (la *Serum amyloid A*, SAA), des enzymes inducibles (l'*inducible nitric oxyde synthase*, iNOS et la cyclo-oxygénase-2, COX-2) et des gènes critiques pour la régulation de l'apoptose (la *cellular inhibitor of apoptosis protein 1*, c-IAP1, le *Fas ligand* ou p53) (Zhang et Ghosh, 2001). Parallèlement à NF- κ B, un autre facteur de transcription appelé AP-1 (*activator protein 1*) va aussi être activé et induire l'expression de cytokines proinflammatoires (Lu *et al.*, 2008). Néanmoins certaines données suggèrent que NF- κ B et AP-1 peuvent également être activés mais de façon plus tardive par la voie MyD88 indépendante (Kawai *et al.*, 1999).

La voie MyD88 indépendante est contrôlée par TRIF (*TIR domain containing adaptator inducing IFN- β*). Elle joue un rôle crucial dans l'activation du facteur de transcription IRF3 et dans l'activation tardive de NF- κ B et AP-1. En effet, après stimulation du TLR4, TRIF recrute TRAF qui va s'associer avec d'autres protéines pour induire la dimérisation et la translocation nucléaire de IRF3 (Lu *et al.*, 2008). TRIF va aussi induire l'activation de NF- κ B via une protéine appelée RIP1 (*receptor interacting pro-*

tein 1). L'activation conjointe d'IRF3 et NF- κ B va activer la transcription de gènes tels que les interférons de type I et des gènes inducibles par les interférons qui sont importants notamment pour les réponses anti-virale et anti-bactérienne (Moynagh, 2005 ; Lu *et al.*, 2008).

ENDOTOXINES ET ASTHME

Dans l'asthme, les endotoxines peuvent avoir 2 rôles différents : protecteur contre le développement de l'atopie, ou déclenchant et aggravant de l'asthme. Ce double rôle est sans doute lié au moment de l'exposition (prévention dans les premiers mois de la vie ; aggravation plus tard), à la dose (prévention avec des doses plus faibles et plus fréquentes), aux co-facteurs de l'environnement, et aussi à la génétique du sujet.

Les endotoxines comme facteur protecteur de l'asthme

Plusieurs études épidémiologiques montrent que l'exposition aux endotoxines durant la petite enfance pourrait protéger contre le développement de l'asthme et minimiser le risque de sensibilisation allergique (Martinez, 1999 ; Gereda *et al.*, 2000a ; Braun-Fahrlander *et al.*, 2002). Dans les pays occidentaux, les enfants qui ont grandi dans un environnement rural semblent en effet présenter moins de risques de souffrir de rhinite allergique, d'asthme, de sensibilisation aux allergènes inhalés et d'hyperréactivité des voies aériennes que ceux qui ont grandi dans un environnement urbain (Braun-Fahrlander *et al.*, 1999 ; Kilpelainen *et al.*, 2000 ; Riedler *et al.*, 2000 ; Von Ehrenstein *et al.*, 2000 ; Braun-Fahrlander *et al.*, 2002). Ces observations ont été associées à la présence plus importante d'endotoxines dans l'environnement et à la poussière domestique des fermes et des maisons rurales (Gereda *et al.*, 2000b ; von Mutius *et al.*, 2000 ; Braun-Fahrlander *et al.*, 2002 ; Liu, 2002). Cette notion constitue la théorie de l'hygiène.

Il a été montré que le locus génétique du CD14 se trouve à proximité de la région contrôlant le niveau d'expression des IgE et qu'un polymorphisme dans la région du promoteur de CD14 pourrait influencer la différenciation des cellules T et le niveau d'IgE sérique (Baldini *et al.*, 1999). L'allèle T a en effet été associé chez l'enfant à de plus hauts niveaux de sCD14 circulants et à de faibles niveaux d'IgE et d'IL-4, tandis que l'allèle C était lui associé à de faibles niveaux de

sCD14 et des hauts niveaux d'IgE et d'IL-4 (Baldini *et al.*, 1999). Les enfants homozygotes pour l'allèle T semblent bénéficier d'un effet protecteur des hauts niveaux de sCD14. Ceux-ci pourraient permettre une plus forte stimulation des réponses Th1 durant les infections bactériennes et l'exposition au LPS dans la petite enfance (Baldini *et al.*, 1999). Bien que l'influence des variations du gène CD14 sur le développement de la réaction asthmatique ait été confirmée (Smit *et al.*, 2009) et que la plupart des études suggèrent un effet protecteur de l'allèle T (Baldini *et al.*, 1999 ; McLeish et Turner, 2007), certaines études épidémiologiques ont montré des résultats contradictoires en proposant soit un effet aggravant de l'allèle T (Ober *et al.*, 2000) soit une absence de relation entre les variations du gène CD14 et le risque de développement de l'asthme (Sengler *et al.*, 2003). Ces résultats contradictoires pourraient être expliqués par le fait que les différents allèles exerceraient un effet protecteur ou aggravant en fonction du niveau d'endotoxines dans l'environnement (Vercelli, 2003 ; Eder *et al.*, 2005).

Les endotoxines représentent un puissant moyen d'induire la sécrétion d'IFN- γ et d'IL-12, deux cytokines clés dans le développement d'une réponse Th1 (Gereda *et al.*, 2000a ; Liu, 2002). L'exposition environnementale au LPS et aux autres composants des parois bactériennes pourrait être ainsi une étape nécessaire pour la maturation du système immunitaire et le développement d'une réponse Th1 via la présentation de l'antigène en présence d'IL-12 (Holt *et al.*, 1997 ; Liu et Leung, 2000). Ces données sont en accord avec l'hypothèse de la théorie de l'hygiène.

Il a également été montré que le LPS étant capable d'anergiser les cellules NKT (*T natural killer*), limitant leur activation ultérieure (Kim *et al.*, 2008). Ces cellules jouent un rôle important dans le développement de l'hyperréactivité bronchique dans certaines formes d'asthme (Akbari *et al.*, 2003 ; Meyer *et al.*, 2008 ; Pichavant *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2009). En diminuant leur capacité à répondre à une activation ultérieure, le LPS pourrait contribuer à réguler le développement de l'hyperréactivité. De plus, il a été suggéré que le LPS, en induisant la sécrétion d'IFN- γ par les lymphocytes NKT pouvait faciliter l'induction des réponses Th1 (Nagarajan et Kronenberg, 2007).

Il est donc tentant de postuler que les endotoxines en stimulant le développement d'une réponse Th1 pourrait par conséquent, inhiber les réponses Th2 et protéger contre les manifestations allergiques (Martinez, 1999 ; Liu et Leung, 2000 ; Liu, 2002). Ces observations doivent néanmoins être interprétées avec précaution. Le concept de balance entre les réponses Th1 et Th2 et l'hypothèse qu'un déséquilibre de celle-ci sous-tend l'émergence de la réponse asthmatique ont montré leur limites pour expliquer plusieurs observations expérimentales (van Oosterhout et Bloksma, 2005). En effet, les réponses Th1 sont capables à elles seules d'induire de l'inflammation réversible et de l'hyperréactivité des voies aériennes (Schwartz, 2001). De plus, les lymphocytes Th1 ne sont pas toujours bénéfiques dans des modèles murins d'asthme ; ils peuvent en effet contribuer aux manifestations de la maladie, voire même les exacerber (Hessel *et al.*, 1997 ; Hansen *et al.*, 1999 ; Dahl *et al.*, 2004).

Les endotoxines comme facteur aggravant de l'asthme

Contrairement à l'hypothèse de l'hygiène, qui suggère que l'exposition aux endotoxines pendant l'enfance protège contre l'atopie et l'asthme, l'exposition aux endotoxines chez les adultes semble plutôt constituer un facteur important de risque pour le développement de l'asthme et des symptômes liés à l'asthme (Thorne *et al.*, 2005). De nombreuses études cliniques démontrent clairement un lien entre la concentration en endotoxines mesurée dans l'environnement et la prévalence de l'asthme, sa sévérité, l'occurrence des symptômes ou encore l'utilisation de thérapies visant à réduire les symptômes asthmatiques (Michel *et al.*, 1996 ; Rizzo *et al.*, 1997 ; Douwes *et al.*, 2000 ; Park *et al.*, 2001 ; Thorne *et al.*, 2005 ; Douwes *et al.*, 2006 ; Smit *et al.*, 2008).

Ainsi, l'inhalation de poussières contenant des endotoxines ou de LPS purifié induit chez l'homme les signes caractéristiques de l'asthme, c'est-à-dire de l'inflammation des voies aériennes, de la dyspnée, de la bronchoconstriction et de l'hyperréactivité (Rylander *et al.*, 1989 ; Larsson *et al.*, 1994 ; Michel *et al.*, 1997 ; Kline *et al.*, 1999 ; Michel *et al.*, 2001). De plus, les sujets souffrant d'asthme semblent plus sensibles aux effets du LPS, les doses requises pour induire

la bronchoconstriction étant plus élevées chez l'individu normal (Michel *et al.*, 1989). L'inhalation d'endotoxines exacerbe donc l'obstruction des voies aériennes et l'inflammation chez les individus prédisposés ou asthmatiques. De manière plus surprenante, il a été montré que, parmi les individus sensibles aux acariens contenus dans la poussière domestique, la concentration en endotoxines dans l'environnement domestique, et non la concentration en allergènes d'acariens (Der P1), était corrélée significativement à la sévérité de l'asthme (Michel *et al.*, 1996 ; Rizzo *et al.*, 1997). L'exposition après l'enfance semble en réalité pouvoir affecter les patients asthmatiques de trois façons différentes (i) en augmentant la sévérité de l'inflammation pulmonaire, (ii) en augmentant la susceptibilité aux rhinovirus et rhumes, (iii) en provoquant le développement de bronchites chroniques et d'emphyse associés à de l'obstruction irréversibles des voies aériennes (Reed et Milton, 2001).

Il a également été montré chez la souris que l'inhalation d'endotoxines exacerbait la réponse inflammatoire à l'allergène chez les individus sensibilisés (Tulic *et al.*, 2000). De manière similaire aux observations faites chez l'homme, l'inhalation d'endotoxines chez la souris semble induire de l'hyperréactivité des voies aériennes. En effet, l'inhalation sub-chronique de poussières de grain induit de l'hyperréactivité chez les souris sensibles aux endotoxines (C3H/BFeJ) mais non chez les souris résistantes aux endotoxines (C3H/HeJ). Ces résultats suggèrent que le LPS est un des principaux composants des poussières qui causent le développement de maladies chroniques des voies aériennes (George *et al.*, 2001).

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets délétères des endotoxines. Celles-ci sont en effet capables d'interagir avec plusieurs types cellulaires du système respiratoire et la plupart des modèles expérimentaux montrent que l'exposition au LPS active le processus inflammatoire.

Chez l'homme, l'instillation de LPS dans les bronches induit l'activation des macrophages et des cellules épithéliales, aboutissant à la transcription de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF) et de chémokines (O'Grady *et al.*, 2001). Il a aussi été montré

dans un modèle murin d'asthme que la sécrétion par les cellules épithéliales de *thymic stromal lymphopoietin* (TSLP), de GM-CSF, d'IL-25 et d'IL-33 — quatre cytokines aux effets fortement pro-Th2 (Stampfli *et al.*, 1998 ; Soumelis *et al.*, 2002 ; Schmitz *et al.*, 2005 ; Angkasekwinai *et al.*, 2007 ; Kondo *et al.*, 2008) — était TLR4 dépendante (Hammad *et al.*, 2009), suggérant un effet des endotoxines. La stimulation du système respiratoire avec le LPS aérogène est capable, chez l'homme et dans les modèles murins, d'induire *in vivo* la maturation et l'activation des cellules dendritiques, directement par la stimulation du TLR4 des cellules dendritiques immatures et/ou indirectement par la sécrétion entre autres de TSLP, de GM-CSF et d'IL-1 β des cellules épithéliales. Les cellules dendritiques pulmonaires perdent alors leurs propriétés tolérogènes et sont capables d'induire une réponse allergique dirigée contre les antigènes inhalés concomitamment (Eisenbarth *et al.*, 2002 ; Alexis *et al.*, 2004 ; 2005 ; Hammad *et al.*, 2009). Il a de plus été suggéré que l'inhalation de faibles doses de LPS pourrait favoriser le développement d'une réponse Th2 alors que des doses plus fortes induiraient le développement d'une réponse Th1 (Eisenbarth *et al.*, 2002). Cependant, la dose employée pour induire une réponse Th1 est tellement élevée par rapport aux doses naturellement retrouvées dans l'environnement que la relevance physiologique de cette observation peut être mise en doute.

Le LPS n'agit pas que sur les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules épithéliales. Chez les individus sains, l'instillation de 100 μ g d'endotoxine pure induit une augmentation d'un facteur 100 des neutrophiles du lavage broncho-alvéolaire (Sandstrom *et al.*, 1992). Dans le sputum induit, des doses de 5 à 60 μ g d'endotoxines suffisent pour induire une neutrophilie significative (Michel *et al.*, 1997 ; Nightingale *et al.*, 1998 ; Thorn et Rylander, 1998b ; Michel *et al.*, 2001). L'inhalation de LPS induit également de l'éosinophilie dans les voies aériennes nasales (Peden *et al.*, 1999) et une augmentation de la concentration en ECP (*eosinophil cationic protein*) (Michel *et al.*, 1997 ; Thorn et Rylander, 1998b ; Michel *et al.*, 2001).

La sensibilité des individus asthmatiques aux endotoxines peut aussi être

liée à la LBP (*LPS binding-protein*). Dans les conditions normales, de faibles quantités de LBP sont présentes dans le compartiment broncho-alvéolaire mais après inhalation d'un antigène, une extravasation de LBP et de sCD14 vers ce compartiment semble induite. Ce phénomène pourrait permettre au LPS qui est inhalé avec l'antigène d'amplifier la réponse inflammatoire dirigée contre celui-ci (Dubin *et al.*, 1996 ; Lapa e Silva *et al.*, 2000).

De plus, les stratégies d'échappement de la reconnaissance du LPS par le TLR4 développées par certaines bactéries (*Haemophilus influenzae*, *Campylobacter jejuni* et *Helicobacter pylori*, par exemple) permettent à celles-ci d'échapper aux réponses immunitaires (Trent *et al.*, 2006). Les surinfections qui en résultent pourraient également contribuer à exacerber la réponse inflammatoire allergique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats des recherches cliniques et fondamentales montrent un lien important des endotoxines à la pathogénie de l'asthme. Les endotoxines semblent être à la fois capables de causer et de prévenir l'asthme, en fonction de la dose, du moment d'exposition et de la génétique de l'hôte. Elles sont également capables d'exacerber les manifestations de l'asthme chez les sujets sensibles. L'impact tout à fait différent de l'exposition aux endotoxines sur l'asthme chez l'en-

fant et l'adulte montre la complexité et la plasticité de la réponse immune/inflammatoire dans l'asthme.

Malgré le fait que de hauts ou très hauts niveaux d'exposition au LPS durant l'enfance semble protéger contre la sensibilisation Th2 en stimulant l'immunité Th1, la plupart des études suggèrent cependant que l'exposition aux endotoxines contenues dans la poussière domestique constitue un risque significatif d'augmentation de la prévalence et de la sévérité de l'asthme.

Cependant, bien que le LPS soit omniprésent dans l'environnement et favorise l'allergie des voies respiratoires, seulement une minorité de personnes développent de l'asthme. Ces observations contradictoires impliquent l'existence de mécanismes encore non décrits capables de préserver l'homéostasie immunitaire du système respiratoire. Des études complémentaires mériteraient donc d'être réalisées pour tenter d'expliquer le paradoxe des relations qu'entretiennent les endotoxines avec l'asthme.

Endotoxins in asthma: friends or foes?

SUMMARY

Respiratory mucosal surfaces are constantly exposed to a broad range of non-pathogenic environmental antigens. In the absence of proinflammatory signals, inhalation of harmless antigens results in

immunological tolerance. Indeed, lung dendritic cells stimulate the development of antigen-specific regulatory T cells. Nevertheless, epidemiological studies have shown that ambient air contains not only inert antigens but also immunostimulatory molecules of microbial origin. Of particular interest are endotoxins, a cell wall component of gram-negative bacteria that is ubiquitous in the environment. In spite of the fact that high levels of endotoxin exposure in early life protect against allergic sensitization, most evidence indicates that exposure to house-dust endotoxin is a significant risk factor for increased asthma prevalence and severity. When the respiratory tract is stimulated with airborne endotoxins, lung dendritic cells lose their tolerogenic properties and rather promote the development of an allergic response directed against concomitant aeroantigens. Although endotoxins are omnipresent in the environment and favour airway allergy, only a minority of people develops asthma. These contradictory observations imply the existence of unknown mechanisms capable of preventing endotoxin-triggered allergic responses to inhaled antigens.

RÉFÉRENCES

- AKBARI O., DEKRUYFF R.H., UMETSU D.T. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen. *Nat. Immunol.*, 2001, **2**, 725-731.
- AKBARI O., STOCK P., MEYER E., KRONENBERG M., SIDOBRE S., NAKAYAMA T., TANIGUCHI M., GRUSBY M., DEKRUYFF R., UMETSU D. Essential role of NKT cells producing IL-4 and IL-13 in the development of allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat. Med.*, 2003, **9**, 582-588.
- AKIRA S., TAKEDA K. Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, **4**, 499-511.
- ALEXANDER C., RIETSCHEL E.T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J. Endotoxin Res.*, 2001, **7**, 167-202.
- ALEXIS N., LAY J., ALMOND M., PEDEN D. Inhalation of low-dose endotoxin favors local T(H)2 response and primes airway phagocytes in vivo. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, **114**, 1325-1331.
- ALEXIS N., LAY J., ALMOND M., BROMBERG P., PATEL D., PEDEN D. Acute LPS inhalation in healthy volunteers induces dendritic cell maturation in vivo. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, **115**, 345-350.
- ANGKASEKWINAI P., PARK H., WANG Y.H., CHANG S.H., CORRY D.B., LIU Y.J., ZHU Z., DONG C. Interleukin 25 promotes the initiation of proallergic type 2 responses. *J. Exp. Med.*, 2007, **204**, 1509-1517.
- BALDINI M., LOHMAN I.C., HALONEN M., ERICKSON R.P., HOLT P.G., MARTINEZ F.D. A polymorphism* in the

- 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **20**, 976-983.
- BRAMAN S. The global burden of asthma. *Chest*, 2006, **130**, 4S-12S.
- BRAUN-FAHRLANDER C., GASSNER M., GRIZE L., NEU U., SENNHAUSER F.H., VARONIER H.S., VUILLE J.C., WUTHRICH B. Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmer's children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution. *Clin. Exp. Allergy*, 1999, **29**, 28-34.
- BRAUN-FAHRLÄNDER C., RIEDLER J., HERZ U., EDER W., WASER M., GRIZE L., MAISCH S., CARRD., GERLACH F., BUFE A., LAUENER R., SCHIERL R., RENZ H., NOWAK D., VON MUTIUS E. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N. Engl. J. Med.*, 2002, **347**, 869-877.
- BUSSE W., LEMANSKE R.J. Asthma. *N. Engl. J. Med.*, 2001, **344**, 350-362.
- DAHL M.E., DABBAGH K., LIGGITT D., KIM S., LEWIS D.B. Viral-induced T helper type 1 responses enhance allergic disease by effects on lung dendritic cells. *Nat. Immunol.*, 2004, **5**, 337-343.
- DE HEER H., HAMMAD H., SOULLIÉ T., HIJDRA D., VOS N., WILLART M., HOOGSTEDEN H., LAMBRECHT B. Essential role of lung plasmacytoid dendritic cells in preventing asthmatic reactions to harmless inhaled antigen. *J. Exp. Med.*, 2004, **200**, 89-98.
- DE HEER H., HAMMAD H., KOOL M., LAMBRECHT B. Dendritic cell subsets and immune regulation in the lung. *Semin. Immunol.*, 2005, **17**, 295-303.
- DOUWES J., VAN DER SLUIS B., DOEKES G., VAN LEUSDEN F., WIJNANDS L., VAN STRIEN R., VERHOEFF A., BRUNEKREEF B. Fungal extracellular polysaccharides in house dust as a marker for exposure to fungi: relations with culturable fungi, reported home dampness, and respiratory symptoms. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **103**, 494-500.
- DOUWES J., ZUIDHOF A., DOEKES G., VAN DER ZEE S., WOUTERS I., BOEZEN M., BRUNEKREEF B. (1 $\rightarrow$ 3)-beta-D-glucan and endotoxin in house dust and peak flow variability in children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, **162**, 1348-1354.
- DOUWES J., VAN STRIEN R., DOEKES G., SMIT J., KERKHOF M., GERRITSEN J., POSTMA D., DE JONGSTE J., TRAVIER N., BRUNEKREEF B. Does early indoor microbial exposure reduce the risk of asthma? The Prevention and Incidence of Asthma and Mite Allergy birth cohort study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, **117**, 1067-1073.
- DUBIN W., MARTIN T.R., SWOVELAND P., LETURCQ D.J., MORIARTY A.M., TOBIAS P.S., BLEECKER E.R., GOLDBLUM S.E., HASDAY J.D. Asthma and endotoxin: lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in bronchoalveolar compartment. *Am. J. Physiol.*, 1996, **270**, L736-744.
- EDER W., KLIMECKI W., YU L., VON MUTIUS E., RIEDLER J., BRAUN-FAHRLANDER C., NOWAK D., MARTINEZ F.D. Opposite effects of CD 14/260 on serum IgE levels in children raised in different environments. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, **116**, 601-607.
- EDER W., EGE M., VON MUTIUS E. The asthma epidemic. *N. Engl. J. Med.*, 2006, **355**, 2226-2235.
- EISENBARTH S., PIGGOTT D., HULEATT J., VISINTIN I., HERRICK C., BOTTOMLY K. Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J. Exp. Med.*, 2002, **196**, 1645-1651.
- FESSLER M.B., MALCOLM K.C., DUNCAN M.W., WORTHEN G.S. A genomic and proteomic analysis of activation of the human neutrophil by lipopolysaccharide and its mediation by p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 31291-31302.
- GEORGE C.L.S., JIN H., WOHLFORD-LENANE C.L., O'NEILL M.E., PHIPPS J.C., O'SHAUGHNESSY P., KLINE J.N., THORNE P.S., SCHWARTZ D.A. Endotoxin responsiveness and subchronic grain dust-induced airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2001, **280**, L203-L213.
- GEREDA J., LEUNG D., THATAYATIKOM A., STREIB J., PRICE M., KLINNERT M., LIU A. Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. *Lancet*, 2000a, **355**, 1680-1683.
- GEREDA J.E., LEUNG D.Y., LIU A.H. Levels of environmental endotoxin and prevalence of atopic disease. *JAMA*, 2000b, **284**, 1652-1653.
- GIOANNINI T.L., TEGHANEMT A., ZAREMBER K.A., WEISS J.P. Regulation of interactions of endotoxin with host cells. *J. Endotoxin Res.*, 2003, **9**, 401-408.
- HAMMAD H., CHIEPPA M., PERROS F., WILLART M.A., GERMAIN R.N., LAMBRECHT B.N. House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat. Med.*, 2009, **15**, 410-416.
- HANSEN G., BERRY G., DEKRUYFF R.H., UMETSU D.T. Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J. Clin. Invest.*, 1999, **103**, 175-183.
- HESSEL E.M., VAN OOSTERHOUT A.J., VAN ARK I., VAN ESCH B., HOFMAN G., VAN LOVEREN H., SAVELKOUL H.F., NIJKAMP F.P. Development of airway hyperresponsiveness is dependent on interferon-gamma and independent of eosinophil infiltration. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1997, **16**, 325-334.
- HOLGATE S. Pathogenesis of asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2008, **38**, 872-897.
- HOLT P.G., SLY P.D., BJORKSTEN B. Atopic versus infectious diseases in childhood: a question

- of balance? *Pediatr. Allergy Immunol.*, 1997, **8**, 53-58.
- JANEWAY C.A., MEDZHITOV R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.*, 2002, **20**, 197-216.
- KAPSENBERG M., HILKENS C., VAN DER POUW KRAAN T., WIERENGA E., KALINSKI P. Atopic allergy: a failure of antigen-presenting cells to properly polarize helper T cells? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, **162**, S76-80.
- KAWAI T., ADACHI O., OGAWA T., TAKEDA K., AKIRA S. Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin. *Immunity*, 1999, **11**, 115-122.
- KAY A. Allergy and allergic diseases. Second of two parts. *N. Engl. J. Med.*, 2001, **344**, 109-113.
- KENNEDY M.N., MULLEN G.E.D., LEIFER C.A., LEE C., MAZZONI A., DILEEPAN K.N., SEGAL D.M. A complex of soluble MD-2 and lipopolysaccharide serves as an activating ligand for Toll-like receptor 4. *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 34698-34704.
- KILPELAINEN M., TERHO E.O., HELENIUS H., KOSKENVUO M. Farm environment in childhood prevents the development of allergies. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, **30**, 201-208.
- KIM H.Y., PICHAVANT M., MATANGKASOMBUT P., KOH Y.I., SAVAGE P.B., DEKRUYFF R.H., UMETSU D.T. The development of airway hyperreactivity in T-bet-deficient mice requires CD1d-restricted NKT cells. *J. Immunol.*, 2009, **182**, 3252-3261.
- KIM S., LALANI S., PAREKH V.V., VINCENT T.L., WU L., VAN KAER L. Impact of bacteria on the phenotype, functions, and therapeutic activities of invariant NKT cells in mice. *J. Clin. Invest.*, 2008, **118**, 2301-2315.
- KLINE J.N., COWDEN J.D., HUNNINGHAKE G.W., SCHUTTE B.C., WATT J.L., WOHLFORD-LENANE C.L., POWERS L.S., JONES M.P., SCHWARTZ D.A. Variable airway responsiveness to inhaled lipopolysaccharide. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999, **160**, 297-303.
- KONDO Y., YOSHIMOTO T., YASUDA K., FUTATSUGI-YUMIKURA S., MORIMOTO M., HAYASHI N., HOSHINO T., FUJIMOTO J., NAKANISHI K. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *Int. Immunol.*, 2008, **20**, 791-800.
- LAMBRECHT B., SALOMON B., KLATZMANN D., PAUWELS R. Dendritic cells are required for the development of chronic eosinophilic airway inflammation in response to inhaled antigen in sensitized mice. *J. Immunol.*, 1998, **160**, 4090-4097.
- LAPA E SILVA J.R., POSSEBON DA SILVA M.D., LEFORT J., VARGAFTIG B.B. Endotoxins, asthma, and allergic immune responses. *Toxicology*, 2000, **152**, 31-35.
- LARSSON K.A., EKLUND A.G., HANSSON L.O., ISAKSSON B.N., MALMBERG P.O. Swine dust causes intense airways inflammation in healthy subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1994, **150**, 973-977.
- LIU A. Endotoxin exposure in allergy and asthma: reconciling a paradox. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, **109**, 379-392.
- LIU A.H., LEUNG D.Y.M. Modulating the early allergic response with endotoxin. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, **30**, 1535-1539.
- LU Y., YEH W., OHASHI P. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*, 2008, **42**, 145-151.
- MARTINEZ F.D. Maturation of immune responses at the beginning of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **103**, 355-361.
- MASOLI M., FABIAN D., HOLT S., BEASLEY R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy*, 2004, **59**, 469-478.
- MCLEISH S., TURNER S.W. Gene-environment interactions in asthma. *Arch. Dis. Child.*, 2007, **92**, 1032-1035.
- MEYER E., DEKRUYFF R., UMETSU D. T cells and NKT cells in the pathogenesis of asthma. *Annu. Rev. Med.*, 2008, **59**, 281-292.
- MICHEL O., DUCHATEAU J., SERGYSELS R. Effect of inhaled endotoxin on bronchial reactivity in asthmatic and normal subjects. *J. Appl. Physiol.*, 1989, **66**, 1059-1064.
- MICHEL O., KIPS J., DUCHATEAU J., VERTONGEN F., ROBERT L., COLLET H., PAUWELS R., SERGYSELS R. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, **154**, 1641-1646.
- MICHEL O., NAGY A.M., SCHROEVEN M., DUCHATEAU J., NEVE J., FONDU P., SERGYSELS R. Dose-response relationship to inhaled endotoxin in normal subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1997, **156**, 1157-1164.
- MICHEL O., DENTENER M., CORAZZA F., BUURMAN W., RYLANDER R. Healthy subjects express differences in clinical responses to inhaled lipopolysaccharide that are related with inflammation and with atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, **107**, 797-804.
- MICHELO. Role of lipopolysaccharide (LPS) in asthma and other pulmonary conditions. *J. Endotoxin Res.*, 2003, **9**, 293-300.
- MILTON D., JOHNSON D., PARK J. Environmental endotoxin measurement: interference and sources of variation in the Limulus assay of house dust. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 1997, **58**, 861-867.
- MOSMANN T., CHERWINSKI H., BOND M., GIEDLIN M., COFFMAN R. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.*, 1986, **136**, 2348-2357.
- MOYNAGH P.N. TLR signalling and activation of IRFs: revisiting old friends from the NF-kappaB pathway. *Trends Immunol.*, 2005, **26**, 469-476.
- NAGARAJAN N.A., KRONENBERG M. Invariant NKT cells amplify the innate immune response to

- lipopolysaccharide. *J. Immunol.*, 2007, **178**, 2706-2713.
- NIGHTINGALE J.A., ROGERS D.F., HART L.A., KHARITONOV S.A., CHUNG K.F., BARNES P.J. Effect of inhaled endotoxin on induced sputum in normal, atopic, and atopic asthmatic subjects. *Thorax*, 1998, **53**, 563-571.
- O'GRADY N.P., PREAS H.L., PUGIN J., FIUZA C., TROPEA M., REDA D., BANKS S.M., SUFFREDINI A.F. Local inflammatory responses following bronchial endotoxin instillation in humans. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, **163**, 1591-1598.
- O'NEILL L.A., BOWIE A.G. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, **7**, 353-364.
- OBER C., TSALENKO A., PARRY R., COX N.J. A second-generation genomewide screen for asthma-susceptibility alleles in a founder population. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000, **67**, 1154-1162.
- PARK J., GOLD D., SPIEGELMAN D., BURGE H., MILTON D. House dust endotoxin and wheeze in the first year of life. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, **163**, 322-328.
- PEDEN D.B., TUCKER K., MURPHY P., NEWLIN-CLAPP L., BOEHLECKE B., HAZUCHA M., BROMBERG P., REED W. Eosinophil influx to the nasal airway after local, low-level LPS challenge in humans. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **104**, 388-394.
- PICHAVANT M., GOYA S., MEYER E.H., JOHNSTON R.A., KIM H.Y., MATANGKASOMBUT P., ZHU M., IWAKURA Y., SAVAGE P.B., DEKRUYFF R.H., SHORE S.A., UMETSU D.T. Ozone exposure in a mouse model induces airway hyperreactivity that requires the presence of natural killer T cells and IL-17. *J. Exp. Med.*, 2008, **205**, 385-393.
- RAETZ C.R.H., WHITFIELD C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.*, 2002, **71**, 635-700.
- REED C., MILTON D. Endotoxin-stimulated innate immunity: A contributing factor for asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, **108**, 157-166.
- RIEDLER J., EDER W., OBERFELD G., SCHREUER M. Austrian children living on a farm have less hay fever, asthma and allergic sensitization. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, **30**, 194-200.
- RIETSCHER E.T., KIRIKAE T., SCHADE F.U., MAMAT U., SCHMIDT G., LOPPNOW H., ULMER A.J., ZHRINGER U., SEYDEL U., DIPADOVA F., SCHREIER M., BRADE H. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J.*, 1994, **8**, 217-225.
- RIZZO M., NASPITZ C., FERNÁNDEZ-CALDAS E., LOCKEY R., MIMIÇA I., SOLÉ D. Endotoxin exposure and symptoms in asthmatic children. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 1997, **8**, 121-126.
- ROMAGNANI S. Regulation of the T cell response. *Clin. Exp. Allergy*, 2006, **36**, 1357-1366.
- RYLANDER R., BAKE B., FISCHER J.J., HELANDER I.M. Pulmonary function and symptoms after inhalation of endotoxin. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1989, **140**, 981-986.
- SANDSTROM T., BJERMER L., RYLANDER R. Lipopolysaccharide (LPS) inhalation in healthy subjects increases neutrophils, lymphocytes and fibronectin levels in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur. Respir. J.*, 1992, **5**, 992-996.
- SCHMITZ J., OWYANG A., OLDHAM E., SONG Y.L., MURPHY E., MCCLANAHAN T.K., ZURAWSKI G., MOSHREFI M., QIN J.Z., LI X.X., GORMAN D.M., BAZAN J.F., KASTELEIN R.A. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*, 2005, **23**, 479-490.
- SCHWARTZ D. Does inhalation of endotoxin cause asthma? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, **163**, 305-306.
- SENGLER C., HAIDER A., SOMMERFELD C., LAU S., BALDINI M., MARTINEZ F., WAHN U., NICKEL R. Evaluation of the CD14 C-159 T polymorphism in the German Multicenter Allergy Study cohort. *Clin. Exp. Allergy*, 2003, **33**, 166-169.
- SHIMAZU R., AKASHI S., OGATA H., NAGAI Y., FUKUDOME K., MIYAKE K., KIMOTO M. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.*, 1999, **189**, 1777-1782.
- SMIT L., HEEDERIK D., DOEKES G., BLOM C., VAN ZWEDEN I., WOUTERS I. Exposure-response analysis of allergy and respiratory symptoms in endotoxin exposed adults. *Eur. Respir. J.*, 2008,
- SMIT L.A., SIROUX V., BOUZIGON E., ORYSZCZYN M.P., LATHROP M., DEMENAI S., KAUFFMANN F. CD14 and toll-like receptor gene polymorphisms, country living, and asthma in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009, **179**, 363-368.
- SOUHELIS V., RECHE P.A., KANZLER H., YUAN W., EDWARD G., HOMEY B., GILLIET M., HO S., ANTONENKO S., LAUERMA A., SMITH K., GORMAN D., ZURAWSKI S., ABRAMS J., MENON S., MCCLANAHAN T., DE WAAL-MALEFYT R., BAZAN F., KASTELEIN R.A., LIU Y.J. Human epithelial cells trigger dendritic cell-mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat. Immunol.*, 2002, **3**, 673-680.
- STAMPFLI M.R., WILEY R.E., NEIGH G.S., GAJEWSKA B.U., LEI X.F., SNIDER D.P., XING Z., JORDANA M. GM-CSF transgene expression in the airway allows aerosolized ovalbumin to induce allergic sensitization in mice. *J. Clin. Invest.*, 1998, **102**, 1704-1714.
- TAKADA H., KOTANI S. Structural requirements of lipid A for endotoxicity and other biological activities. *Crit. Rev. Microbiol.*, 1989, **16**, 477-523.
- THOMAS C.J., KAPOOR M., SHARMA S., BAUSINGER F., ZYILAN U., LIPSKER D., HANAU D., SUROLIA A. Evidence of a trimolecular complex involving LPS, LPS

- binding protein and soluble CD14 as an effector of LPS response. *FEBS Lett.*, 2002, **531**, 184-188.
- THORN J., RYLANDER R. Airways inflammation and glucan in a rowhouse area. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998a, **157**, 1798-1803.
- THORN J., RYLANDER R. Inflammatory response after inhalation of bacterial endotoxin assessed by the induced sputum technique. *Thorax*, 1998b, **53**, 1047-1052.
- THORNE P., KULHÁNKOVÁ K., YIN M., COHN R., ARBES S.J., ZELDIN D. Endotoxin exposure is a risk factor for asthma: the national survey of endotoxin in United States housing. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2005, **172**, 1371-1377.
- TRENT M.S., STEAD C.M., TRAN A.X., HANKINS J.V. Diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *J. Endotoxin Res.*, 2006, **12**, 205-223.
- TRIANTAFILOU M., BRANDENBURG K., KUSUMOTO S., FUKASE K., MACKIE A., SEYDEL U., TRIANTAFILOU K. Combinational clustering of receptors following stimulation by bacterial products determines lipopolysaccharide responses. *Biochem. J.*, 2004, **381**, 527-536.
- TULIC M.K., WALE J.L., HOLT P.G., SLY P.D. Modification of the inflammatory response to allergen challenge after exposure to bacterial lipopolysaccharide. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2000, **22**, 604-612.
- VAN OOSTERHOUT A., BLOKSMA N. Regulatory T-lymphocytes in asthma. *Eur. Respir. J.*, 2005, **26**, 918-932.
- VERCELLI D. Learning from discrepancies: CD14 polymorphisms, atopy and the endotoxin switch. *Clin. Exp. Allergy*, 2003, **33**, 153-155.
- VON EHRENSTEIN O.S., VON MUTIUSE., ILLIS., BAUMANN L., BOHM O., VON KRIES R. Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, **30**, 187-193.
- VON MUTIUS E., BRAUN-FAHRLANDER C., SCHIERL R., RIEDLER J., EHLERMANN S., MAISCH S., WASER M., NOWAK D. Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, **30**, 1230-1234.
- WENZEL S.E., COVAR R. Update in asthma 2005. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006, **173**, 698-706.
- WILLS-KARP M., LUYIMBAZI J., XU X., SCHOFIELD B., NEBEN T.Y., KARP C.L., DONALDSON D.D. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science*, 1998, **282**, 2258-2261.
- WILLS-KARP M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Immunol. Rev.*, 2004, **202**, 175-190.
- ZHANG G., GHOSH S. Toll-like receptor-mediated NF-kappaB activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *J. Clin. Invest.*, 2001, **107**, 13-19.
- ZHAO B.T., BOWDEN R.A., STAVCHANSKY S.A., BOWMAN P.D. Human endothelial cell response to gram-negative lipopolysaccharide assessed with cDNA microarrays. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2001, **281**, C1587-C1595.