

# IPEX-syndrome – une base moléculaire pour les allergies graves

**Frank M. Ruemmele**

**Service de Gastroentérologie, Hépatologie et Nutrition Pédiatriques**

**Programme d'immunopathologie digestive**

**Hôpital Necker Enfants Malades**

**149 Rue de Sèvres**

**75419 PARIS**

**email : [frank.ruemmele@nck.aphp.fr](mailto:frank.ruemmele@nck.aphp.fr)**

**Introduction** : Les allergies alimentaires sont devenues un réel problème de santé publique. A ce jour, nous ne connaissons très peu les mécanismes moléculaires responsable des réponses allergiques. Dans ce contexte, nous avons récemment décrit une nouvelle forme clinique du syndrome IPEX (**I**mmune dysregulation, **P**olyendocrinopathy, autoimmune **E**nteropathy, **X**-linked) caractérisée par des multiples allergies alimentaires. Cette observation pourrait ouvrir une nouvelle approche dans l'analyse moléculaire des allergies alimentaires sévères.

**Méthodes** : Le gène FOXP3 a été séquencé et l'ARN messager a été quantifié par PCR en temps réel. L'expression de la protéine FOXP3 par des lymphocytes du sang périphérique a été analysée par cytométrie en flux après marquage intra-cytoplasmique. Un système de co-culture entre cellules régulatrices CD4+CD25+ et cellules effectrices CD4+CD25- a été établi afin d'évaluer la fonction des cellules T régulatrices. L'expression de différentes cytokines a été analysée par PCR en temps réel et par ELISA.

**Résultats** : Deux frères présentent avec un tableau clinique identique au cours de premières six semaines de vie, caractérisé par la combinaison d'eczéma majeur, une entéropathie exsudative extrêmement sévère déclenché par l'ingestion de protéines de vaches, avec hyper-IgE et hyper-eosinophilie. Par la suite, les deux garçons présentent plusieurs épisodes de réactions allergiques digestives (vomissements, diarrhée) et cutanées (rush, eczéma, oedème) jusqu'aux réactions

anaphylactiques suite à l'ingestion de différents allergènes alimentaires. Les analyses moléculaires chez ces deux garçons suggéraient un défaut de la fonction des cellules T régulatrices. C'est pourquoi nous avons commencé à séquencer le gène FOXP3 permettant d'identifier une délétion de 1388 bases paires (del(-)6247\_(-)4859) en amont de la région non-codante de l'exon 1 et une partie de l'intron 1. C'est délétion provoque une altération du processus du lissage de l'ARN, causant l'accumulation de pro-ARN messenger. Par la suite, il n'y a pas ou presque pas d'ARN messenger et protéine FOXP3 détectable. Le nombre de cellules CD4+CD25+ exprimant normalement FOXP3 est très réduit et ces cellules n'assurent pas correctement leurs fonctions de régulation. Comme conséquence biologique, les réponses T, comme contre des allergènes d'origine alimentaire ne sont pas supprimées provoquant des réactions Th2 très importantes, documenté par production excessive de l'interleukine (IL)-4 ou IL13.

**Conclusions:** Nos données montrent pour la première fois, qu'un défaut de la fonction des cellules T régulatrice FOXP3+ est crucial dans le développement d'une allergie alimentaire. Ces données moléculaires précises peuvent ouvrir une nouvelle vue et compréhension de l'allergie alimentaire indiquant des nouvelles pistes thérapeutiques.

**Background:** Severe food allergy is an increasing health problem and to date only few data on the exact pathophysiology of this disorder exist. We previously identified a subset of children with Immune dysregulation, Polyendocrinopathy, autoimmune Enteropathy, X-linked (IPEX)-Syndrome characterized by the occurrence of severe food allergy. This observation may open new molecular insights into the pathogenesis of severe food allergies.

**Methods:** The *FOXP3* gene was sequenced, FOXP3 mRNA was quantified by real-time PCR and protein expression in peripheral blood lymphocytes was analyzed by flow cytometry after intracellular staining. In co-culture experiments (CD4+CD25- and CD4+CD25+ cells), the functions of regulatory T cells were analyzed. Cytokine expression was quantified by real-time PCR and ELISA.

**Results:** Two brothers developed within the first six weeks an identical clinical picture combining severe eczema, cow's milk protein-induced life-threatening protein-losing enteropathy, along with

hyper-IgE and hypereosinophilia. In the following, skin and GI-reactions up to severe anaphylactic reactions were observed in response to various food allergens. Molecular analyses pointed out to a defect of regulatory T cell functions. Therefore, we sequenced the *FOXP3* gene and identified an unusual 1388-base pair deletion (del(-)6247\_(-)4859) of the *FOXP3* gene encompassing a portion of an upstream non-coding exon (exon -1) and the adjacent intron (intron -1). This deletion impairs mRNA splicing resulting in accumulation of unspliced pre-mRNA. This causes low *FOXP3* mRNA levels and markedly decreased protein expression in T cells. Numbers of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells are extremely low and the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells that are present exhibit little regulatory function. As a biological consequence T cell responses, such as directed against food antigens are uncontrolled leading to massive immune Th2 responses, seen in dramatically elevated IL-4 and IL-13 expression.

**Summary/Conclusion:** These data show for the first time that a defect of the function of FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells is crucial in the development of severe food allergy. These molecular findings open new perspectives in the understanding and also treatment of severe food allergy.