

Immunité innée du nouveau-né — Spécificités physiologiques et conséquences cliniques

Innate immunity — Physiological aspects and clinical consequences specific to neonatal immunity

M. Afanetti · P. Tissières

© SRLF et Springer-Verlag France 2011

Introduction

Continuellement, l'être humain, ou l'hôte, est exposé et doit parfois se défendre contre des agressions microbiennes issues de l'environnement. Pour cela, l'évolution a mis en place plusieurs lignes de défense dont la plus ancienne, partagée par l'ensemble du monde animal et végétal, est représentée par l'immunité innée. Celle-ci a pour but de limiter la prolifération d'agents microbiens en les détruisant/neutralisant le plus rapidement possible et au plus près de leur point d'entrée dans l'organisme. Il s'agit d'une réponse rapide, non-spécifique, et essentielle pour la survie de l'hôte.

La deuxième fonction de l'immunité innée est d'activer le système immunitaire dit adaptatif via les cellules présentatrices de l'antigène (CPA). Cette immunité adaptative n'existe que chez les vertébrés ; elle dépend essentiellement de lymphocytes et de leurs produits, les anticorps, acquérant après contact avec l'antigène, une spécificité vis-à-vis de l'agent microbien. La naissance représente un bouleversement immunitaire majeur. Le nouveau-né passe brutalement d'un environnement stérile à un environnement colonisé. Le système immunitaire qui était jusque-là physiologiquement réglé pour « tolérer » la présence d'antigènes issus de l'interface mère-fœtus doit alors se réorienter dans la défense contre des micro-organismes potentiellement pathogènes, tout en se laissant coloniser par les bactéries commensales. Le nouveau-né, qui dépend essentiellement de son immunité innée, puisque par définition son système adaptatif n'est pas encore sensibilisé, se trouve donc pris dans une phase de transition critique, le rendant plus susceptible aux infections graves.

Nous reprenons donc ici les mécanismes cellulaires expliquant les spécificités néonatales de cette immunité innée en plein remodelage ainsi que les dysfonctions de ce processus, pouvant conduire à des affections néonatales graves et à des états immunitaires pathologiques durables.

Récepteurs et effecteurs de la réponse immunitaire innée

En 1908, Metchnikoff reçut le prix Nobel pour ses travaux sur la phagocytose. Il montra qu'une épine de rose plantée dans une larve d'étoile de mer induisait l'agglutination de cellules, les phagocytes tentant de dégrader cet agent étranger. L'immunité innée se définit donc comme l'ensemble des processus visant à induire une réponse immunitaire (inflammation, phagocytose) en réponse à des motifs moléculaires spécifiques. Ces derniers peuvent être soit d'origine bactérienne, virale et parasitaire (lipopolysaccharide, lipopeptides, flagelle, ARN, ADN) ou d'origine endogène (HMGB1 pour *High-mobility group protein B1*) et se regroupent sous l'éponyme PAMPs (pour *pathogen associated molecular pattern*) ou plus récemment : DAMPs (*danger associated molecular pattern*). Ces motifs moléculaires sont reconnus spécifiquement par les PRR (*pattern of recognition receptor*) dont la famille des *toll-like receptor* (TLRs) en est l'expression la plus décrite. Toutefois, parallèlement à ces mécanismes de reconnaissance extrêmement élaborés, existent des systèmes moins spécifiques et tout autant essentiels participant pour certains aux mécanismes d'opsonophagocytose tels que le système du complément, les lectines, les pentraxines, etc. [1].

Les cellules de l'immunité innée représentent l'effecteur de la réponse immunitaire. Ce sont essentiellement les phagocytes et les cellules *natural killer* (NK). Les cellules NK jouent un rôle majeur de sentinelle dans la défense antivirale et anticancéreuse. Toutes les cellules nucléées normales expriment le complexe majeur d'histocompatibilité de type I (CMH1). En cas d'infection virale ou de transformation maligne, la cellule exprime un CMH1 altéré, voire absent.

M. Afanetti · P. Tissières (✉)

Service de réanimation pédiatrique et néonatale,
Hôpital de Bicêtre, 78, rue du Général-Leclerc,
F-94275, Le Kremlin-Bicêtre, France
e-mail : pierre.tissieres@bct.aphp.fr

Modulation de la réponse immunitaire innée — MIIR Lab,
Unité Inserm U1012,
Faculté de médecine Paris-Sud—XI, 63, rue Gabriel-Péri,
F-94276, Le Kremlin-Bicêtre, France

La cellule NK ne peut alors plus se lier via son récepteur au CMH1 et détruit la cellule en lui envoyant un signal d'apoptose. Par ailleurs, la cellule NK est la principale productrice d'IFN-gamma, activateur majeur de la maturation des lymphocytes T (LT), mais aussi des protéines impliquées dans la réponse immunitaire innée. Les phagocytes (polynucléaire neutrophile [PNN], monocyte macrophage et cellule dendritique) dérivent de la lignée myéloïde. Les PNN et les monocytes circulent dans le sang et infiltrent le tissu infecté, alors que les cellules dendritiques (cellules de Langerhans dans la peau, cellules de Kupffer dans le foie, etc.) sont fixes et infiltrées dans les couches épithéliales. Les phagocytes sont tous capables de reconnaître des motifs conservés à la surface microbienne, via des récepteurs membranaires ou solubles. Cette liaison permet, d'une part, l'induction d'un signal intracellulaire, dont la transduction jusqu'au noyau conduit à la production de cytokines, et de chémokines et, d'autre part, une endocytose conduisant à la constitution d'un phagosome, puis d'un phagolysosome, dégradant le micro-organisme.

La famille des TLRs, classés de 1 à 10 chez l'homme, représente une des classes majeures de PRR. Ils peuvent reconnaître différents motifs, constitutifs des bactéries, virus et champignons. La fixation du lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (BGN) par MD-2/TLR4 représente un des exemples d'interaction PAMP-PRR et de transduction du signal le plus étudié. La reconnaissance du LPS est un mécanisme complexe incluant un complexe dit CD14/TLR4/MD-2 et est adapté aussi bien aux lignées myélomonocytaires qu'à l'endothélium ou à l'épithélium [1]. La reconnaissance du LPS par le récepteur/transducteur membranaire TLR4 nécessite la présence de plusieurs protéines dont MD-2 et CD14. La partie intracellulaire de TLR4, extrêmement conservée, se lie à des protéines adaptatrices, comme MyD88, elles-mêmes couplées à des protéines kinases, comme IRAK (*IL2 receptor associated kinase*) qui de par des phosphorylations en cascade vont conduire à l'activation du facteur de transcription NF-kappa B et sa translocation nucléaire. [2,3].

Interaction immunité innée et adaptative

Parallèlement à cette réponse *de novo*, la réponse immunitaire innée induit l'activation de l'immunité adaptative qui, entre autres, induira la sécrétion des cytokines stimulant les phagocytes tout en proposant une défense antimicrobienne complémentaire. Pour cela, les monocytes macrophages et les cellules dendritiques sont capables de « présenter l'antigène » aux LT des ganglions lymphatiques en acheminant certains peptides spécifiques issus de la dégradation phagolysosomale au sein de leur complexe majeur d'histocompatibilité de type 2 (CMH2), complexe présent uniquement sur la membrane de

ces cellules dites CPA. Le récepteur T du lymphocyte (TCR) reconnaît alors ce complexe CMH2-peptide comme une présentation du « non-soi » et active la prolifération clonale de lymphocytes B producteurs d'anticorps, de LT cytotoxiques (LT CD8+) et régulateurs (LT CD4+) et de lymphocytes T et B mémoires d'immunisation, permettant de réagir plus rapidement en cas de contact ultérieur avec l'antigène. À côté de ces contacts cellulaires directs, les immunités innée et acquise communiquent entre elles via des cytokines qui par des mécanismes paracrines, endocrines ou autocrines, modulent la réponse immunitaire. Ainsi, une fois le macrophage activé par un agent pathogène, celui-ci sécrète diverses cytokines dont de l'IL12, l'IL23, le TNF-alpha, l'IL6, l'IL1-bêta et des chémokines (cytokines favorisant l'attraction et la diapédèse des leucocytes). Cela permet tout d'abord d'amplifier la réponse innée en favorisant l'acheminement local, l'activation et la prolifération des phagocytes et des cellules NK. De plus, ces cytokines participent à l'activation de l'immunité adaptative en induisant la différenciation de LT régulateurs naïfs dits Th0 en Th1 pro-inflammatoires ou en Th2 anti-inflammatoires qui secréteront à leur tour un panel de cytokines spécifiques, rétrocontrôlant soit positivement, soit négativement la réponse immunitaire innée et acquise.

Les voies Th1 et Th2 sont caractérisées par des profils de sécrétion de cytokines. En cas de bascule Th1 pro-inflammatoire, IFN-gamma, IL2, IL3, IL12, GM-CSF et TNF-alpha sont les cytokines majoritaires produites par les CPA et les LT ; on observe alors une activation des lymphocytes cytotoxiques, des lymphocytes B sécréteurs d'IgG, des cellules NK et des phagocytes. En cas de bascule Th2 anti-inflammatoire, IL4, IL5, IL6, IL9, IL10 et IL13 sont sécrétées, les lymphocytes B sécréteurs d'IgE sont activés, les cellules NK et les phagocytes sont inhibés. Ces profils cytokiniques sont donc antagonistes, mais tous les deux séquentiellement nécessaires pour obtenir une réaction immunitaire puissante, mais rapidement maîtrisée, évitant des dégâts tissulaires. La régulation fine de cette balance Th1/Th2 est actuellement très étudiée et reste sujette à controverse. Il est actuellement admis qu'un excès de Th1 conduit à des phénomènes auto-immuns alors qu'un excès de Th2 conduit à un état d'immunosuppression, à la production d'IgE et donc à l'atopie.

Immunité innée fœtale et néonatale normale

La période néonatale représente une période de susceptibilité aux infections bactériennes (notamment aux bactéries intracellulaires), fongiques et virales. Le déficit de l'immunité adaptative s'explique facilement, car celle-ci est encore naïve. Le nouveau-né peut alors seulement compter sur les IgA/G maternelles transmises via le placenta et le lait maternel. Le déficit de l'immunité innée est plus difficile à

cerner. Tout d'abord, les taux de facteurs du complément peuvent être abaissés jusqu'à 70 % à la naissance [4]. Par ailleurs, l'immunité innée fœtale présente une polarisation Th2 prédominante avec un changement progressif vers la voie Th1 durant les premiers mois de vie [5].

Le système immunitaire fœtal est placé devant un paradoxe fonctionnel. Bien qu'il doive en partie assurer la défense antimicrobienne à l'interface placentaire, il doit surtout assurer la tolérance des antigènes maternels via une polarisation cytokinique Th2 durant toute la gestation. Le blocage *in utero* de la voie Th1 est bien illustré par l'absence de production de TNF-alpha par les macrophages et d'IFN-gamma par les LT en réponse à une stimulation antigénique des TLR [6,7]. Les processus physiologiques précis conduisant à ce déficit Th1 restent encore largement du domaine de la recherche, et seuls peuvent être donnés ici quelques éléments de réponse. Au niveau hormonal et cytokinique, le placenta est connu pour produire de la progestérone, de l'IL10 et du PGE2 [8,9]. Bien que certaines données soient contradictoires, à l'échelle cellulaire, la transduction du signal normalement induite par un PAMPs (par exemple le LPS) semble être réduite en période néonatale [10]. L'expression et la fonctionnalité des TLR2 et 4 chez le nouveau-né prématuré sont diminuées, mais augmentent durant la gestation pour devenir identiques à l'adulte chez le nouveau-né à terme [11,12]. Par contre, la signalisation intracellulaire (voie des MAPK, MyD88, IRAK) est peu efficace [11,13], et certaines protéines de signalisation comme Stat1 sont rendues inefficaces par hyperphosphorylation [14]. Au niveau nucléaire, on suspecte aussi une hyperméthylation de sites CpG des promoteurs des gènes des cytokines limitant l'accès des facteurs de transcription, comme cela a été montré pour le gène de l'IFN-gamma [15]. Ce déficit de production d'IFN-gamma et d'activation macrophagique est un des mécanismes majeurs du déficit immunitaire du nouveau-né.

Bouleversement de la naissance

À la naissance, le nouveau-né passe brutalement d'un environnement stérile à un environnement rempli de micro-organismes commensaux ou pathogènes. Le système immunitaire doit donc se polariser vers la voie Th1 de défense antimicrobienne, et ce d'autant plus que la nécessité de tolérance du non-soi maternel n'existe plus. Cette transition Th2/Th1 va donc se faire progressivement, au mieux sans poussée inflammatoire délétère, au gré des sollicitations antigéniques au niveau de la peau, des muqueuses digestive et respiratoire à partir desquelles les cytokines pro-Th1 seront produites, réorientant la réponse immunitaire de l'ensemble de l'organisme.

Ainsi, la peau et le tube digestif sont colonisés par des bactéries commensales. Le système immunitaire doit pouvoir y réagir pour initier sa transition Th2/Th1 sans pour autant créer de réaction inflammatoire incontrôlée. Ainsi, les follicules pileux de la peau vont rapidement se coloniser par du *Staphylococcus epidermidis*, à l'origine d'une production d'IL6 pro-Th1 par les macrophages locaux [5]. Cette réaction inflammatoire expliquerait l'érythème toxique souvent constaté chez les nouveau-nés [16]. Le tube digestif est lui aussi rapidement colonisé par des BGN. Or, dès cette période, les entérocytes expriment à leur surface beaucoup de TLR4/MD-2. La raison pour laquelle une réaction inflammatoire épithéliale digestive n'est pas observée à la naissance reste encore à définir précisément. Il est probable que la voie de signalisation intracellulaire de TLR4, notamment IRAK1 soit down-régulée transitoirement à la naissance [17]. Le lait maternel possède par ailleurs des effets immunomodulateurs de mieux en mieux compris. Il contient notamment du TLR2 soluble et des peptides inhibiteurs du TLR2 membranaires limitant la réaction aux bactéries commensales à Gram positif [18,19]. Les voies aériennes représentent un environnement censé rester stérile, mais ouvert sur l'extérieur, il est sans cesse exposé à des germes aéroportés. Comme pour le tube digestif, il existe des arguments sur des modèles animaux en faveur d'une immunomodulation néonatale du système immunitaire respiratoire via une absence d'expression de *TLR2* et *TLR4* jusqu'à 30 semaines d'âge gestationnel et une hyporéactivité aux LPS jusqu'à un mois de vie [20,21]. Cela permet ainsi une polarisation Th1 « en douceur ».

Conséquences du déficit de l'immunité innée et d'anomalies de la transition Th2/Th1

Nous venons de voir que pendant la vie fœtale, la voie Th1 était peu efficace. Toutefois, en cas d'infection materno-fœtale avec stimulation antigénique massive, la voie Th1 peut finir par être activée. La réaction inflammatoire induite est alors très intense et peu rétrocontrôlée. Cela a été bien démontré dans les modèles animaux de chorioamniotite ou en cas d'infection de type TORCH (pour *Toxoplasmosis, Other agents, Rubella, Cytomegalovirus, and Herpes simplex virus*). Certaines cytokines (TNF-alpha et l'IFN-gamma) sont alors produites de manière prolongée induisant une apoptose placentaire à l'origine de menace d'accouchement prématuré [8] et de retard de croissance *in utero*, ainsi que des lésions organiques, notamment cérébrales, classiquement retrouvées dans les infections TORCH [22]. Cette activation anormale de la voie Th1 est actuellement très étudiée chez le grand prématuré et pourrait être à l'origine de diverses pathologies spécifiques de la prématurité.

L'entérocolite ulcéronécrosante est une pathologie digestive redoutable en néonatalogie, touchant environ 7 % des prématurés de moins de 1 500 g [23]. Les mécanismes sous-tendant cette maladie sont complexes, mais une réaction inflammatoire excessive à la colonisation bactérienne prématurée du tube digestif semble être impliquée [24]. Les récepteurs TLR4 sont physiologiquement sous-exprimés et peu réactifs pendant la vie fœtale. Cependant, en cas de stress hypoxique ou d'apport d'un lait artificiel inadapté aux prématurés, le nombre et l'activité des récepteurs TLR4 peuvent dramatiquement augmenter [24]. Les LPS amenés par les bactéries commensales pourraient alors induire une réaction inflammatoire massive et mal contrôlée avec notamment une production de PAF et de TNF-alpha potentiellement responsable de nécrose de l'épithélium intestinale [25].

Sur le plan respiratoire, la dysplasie bronchopulmonaire est une pathologie classique du prématuré, définie par une oxygénéodépendance à 28 jours de vie et caractérisée par une réaction inflammatoire et des anomalies structurales bronchioalvéolaires [26]. Les mécanismes impliqués sont ici aussi complexes, mais il est probable qu'une exposition prématurée de l'épithélium respiratoire aux bactéries à Gram positif ou négatif puisse induire une réaction inflammatoire liée à une expression anormale de *TLR2* et de *TLR4*, perturbant la maturation pulmonaire, notamment au niveau des bronchioles terminales et des alvéoles [27,28].

La naissance et les premiers mois de vie représentent un moment crucial dans la transition Th2/Th1, et une anomalie de timing (nature, intensité, fréquence et durée des stimulations antigéniques) ainsi qu'un contexte génétique déficient pourraient conduire à une disimmunité durable. L'hypothèse hygiéniste [29] part de la constatation épidémiologique que les enfants peu exposés à des allergènes respiratoires (poussière, poils d'animaux...) ont plus de risques de développer une atopie et/ou un asthme pendant l'enfance. Physiologiquement, pendant les premiers mois de vie, le tractus respiratoire doit être exposé à des quantités limitées, mais répétées d'antigènes microbiens et allergéniques afin de glisser lentement de la voie Th2 vers la voie Th1. Une fois cette période passée, si la stimulation antigénique a été insuffisante, le déséquilibre Th2 conduira à une atopie systémique et à une bronchoréactivité pouvant durer des années ainsi qu'à une classique susceptibilité accrue aux infections respiratoires [30,31].

Conclusion et perspectives

L'immunité innée constitue notre première ligne de défense antimicrobienne partagée par l'ensemble du monde animal et végétal. Elle permet de neutraliser les agents infectieux au plus près de leur point d'entrée, évitant le plus souvent l'activation de l'immunité acquise. Même si les monocytes–

macrophages, les cellules NK et autres cellules impliquées sont identifiés depuis de nombreuses décennies, les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant la régulation de ces mécanismes immunitaires commencent à peine à être compris aujourd'hui. La localisation et le fonctionnement des TLRs, ainsi que la transduction nucléaire du signal qu'ils induisent prennent actuellement une place grandissante dans la compréhension de l'immunité innée. Les classiques voies Th1 et Th2 sont caractérisées par des motifs cytokiniques distincts, mais complémentaires influençant la réponse innée et l'activation de la réponse acquise. Chez le nouveau-né, l'immunité innée prend une importance capitale, puisqu'elle représente le seul système disponible. Pendant la gestation, l'immunité innée est polarisée Th2 pour répondre au besoin absolu de tolérance des antigènes maternels. À la naissance, les sollicitations microbiennes répétées au niveau de la peau, du tube digestif et du poumon doivent permettre de réorienter l'immunité innée vers la voie Th1, induisant progressivement une défense anti-infectieuse efficace. Cette transition Th2/Th1 est une étape cruciale de la maturation de l'immunité innée, et toute anomalie de timing à cette période peut conduire à des états dysimmunitaires durant plusieurs années. Enfin, même si la voie Th1 est physiologiquement hyporéactive pendant la vie fœtale, certaines infections graves chez le fœtus et chez le prématuré peuvent induire une réponse Th1 massive et incapable de se « rétrocontrôler », provoquant potentiellement de sérieuses lésions tissulaires.

La compréhension des mécanismes de régulations de l'immunité innée représente aujourd'hui un sujet majeur de recherche avec des applications thérapeutiques potentielles dans de nombreux domaines. On peut, par exemple, espérer pouvoir moduler la voie de signalisation TLRs permettant de restaurer une immunité efficace, préventivement chez le patient à risque ou curativement en cas de sepsis grave [32]. La signalisation des TLRs est aussi très étudiée dans le domaine de la vaccinologie, puisque certains adjuvants stimulant ces récepteurs pourraient sensiblement améliorer la réponse vaccinale souvent médiocre chez le nourrisson [33]. Enfin, l'emploi de substances immunomodulatrices, comme les probiotiques digestifs, permet de soutenir l'orientation Th1 dès la naissance et semble montrer des résultats intéressants dans la prévention de l'atopie de l'enfance [34].

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

1. Tissières P, Pugin J (2009) The role of MD-2 in the opsonophagocytosis of Gram-negative bacteria. *Curr Opin Infect Dis* 22 (3):286–91

2. Hasegawa K, Ichiyama T, Isumi H, et al (2003) NF-kappa B activation in peripheral blood mononuclear cells in neonatal asphyxia. *Clin Exp Immunol* 132(2):261–4
3. Yan SR, Qing G, Byers DM, et al (2004) Role of MyD88 in diminished tumor necrosis factor alpha production by newborn mononuclear cells in response to lipopolysaccharide. *Infect Immun* 72(3):1223–9
4. Firth MA, Shewen PE, Hodgins DC (2005) Passive and active components of neonatal innate immune defenses. *Anim Health Res Rev* 6(2):143–58
5. Levy O (2007) Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol* 7(5):379–90
6. Wynn JL, Scumpia PO, Delano MJ, et al (2007) Increased mortality and altered immunity in neonatal sepsis produced by generalized peritonitis. *Shock* 28(6):675–83
7. Lee SM, Suen Y, Chang L, et al (1996) Decreased interleukin-12 (IL12) from activated cord versus adult peripheral blood mononuclear cells and upregulation of interferon-gamma, natural killer, and lymphokine-activated killer activity by IL12 in cord blood mononuclear cells. *Blood* 88(3):945–54
8. Vitoratos N, Papadias C, Economou E, et al (2006) Elevated circulating IL1-beta and TNF-alpha, and unaltered IL6 in first-trimester pregnancies complicated by threatened abortion with an adverse outcome. *Mediators Inflamm* 2006(4):30485
9. Szekeres-Bartho J (2002) Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol* 21(6):471–95
10. Beutler B (2005) The toll-like receptors: analysis by forward genetic methods. *Immunogenetics* 57(6):385–92
11. Levy O, Zarembek KA, Roy RM, et al (2004) Selective impairment of TLR-mediated innate immunity in human newborns: neonatal blood plasma reduces monocyte TNF-alpha induction by bacterial lipopeptides, lipopolysaccharide, and imiquimod, but preserves the response to R-848. *J Immunol* 173(7):4627–34
12. Forster-Waldl E, Sadeghi K, Tamandl D, et al (2005) Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *Pediatr Res* 58(1):121–4
13. Zhang J, Bui TN, Xiang J, et al (2006) Cyclic AMP inhibits p38 activation via CREB-induced dynein light chain. *Mol Cell Biol* 26(4):1223–34
14. Marodi L, Goda K, Palicz A, et al (2001) Cytokine receptor signalling in neonatal macrophages: defective STAT-1 phosphorylation in response to stimulation with IFN-gamma. *Clin Exp Immunol* 126(3):456–60
15. White GP, Watt PM, Holt BJ, et al (2002) Differential patterns of methylation of the IFN-gamma promoter at CpG and non-CpG sites underlie differences in IFN-gamma gene expression between human neonatal and adult CD45RO-T cells. *J Immunol* 168(6):2820–7
16. Marchini G, Berggren V, Djilali-Merzoug R, et al (2000) The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta Paediatr* 89(9):1082–6
17. Lotz M, Gütle D, Walther S, et al (2006) Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells. *J Exp Med* 203(4):973–84
18. LeBouder E, Rey-Nores JE, Rushmere NK, et al (2003) Soluble forms of toll-like receptor (TLR) 2 capable of modulating TLR2 signaling are present in human plasma and breast milk. *J Immunol* 171(12):6680–9
19. LeBouder E, Rey-Nores JE, Raby AC, et al (2006) Modulation of neonatal microbial recognition: TLR-mediated innate immune responses are specifically and differentially modulated by human milk. *J Immunol* 176(6):3742–52
20. Harju K, Glumoff V, Hallman M (2001) Ontogeny of toll-like receptors TLR2 and TLR4 in mice. *Pediatr Res* 49(1):81–3
21. Martin TR, Ruzinski JT, Wilson CB, et al (1995) Effects of endotoxin in the lungs of neonatal rats: age-dependent impairment of the inflammatory response. *J Infect Dis* 171(1):134–44
22. Lehnardt S, Massillon L, Follett P, et al (2003) Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(14):8514–9
23. Guillet R, Stoll BJ, Cotten CM, et al (2006) Association of H2-blocker therapy and higher incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 117(2):e137–e42
24. Jilling T, Simon D, Lu J, et al (2006) The roles of bacteria and TLR4 in rat and murine models of necrotizing enterocolitis. *J Immunol* 177(5):3273–82
25. Caplan MS, Sun XM, Hseuh W, et al (1990) Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 116(6):960–4
26. Allen J, Zwerdling R, Ehrenkranz R, et al (2003) Statement on the care of the child with chronic lung disease of infancy and childhood. *Am J Respir Crit Care Med* 168(3):356–96
27. Schelonka RL, Katz B, Waites KB, et al (2005) Critical appraisal of the role of ureaplasma in the development of bronchopulmonary dysplasia with metaanalytic techniques. *Pediatr Infect Dis J* 24(12):1033–9
28. Prince LS, Dieperink HI, Okoh VO, et al (2005) toll-like receptor signaling inhibits structural development of the distal fetal mouse lung. *Dev Dyn* 233(2):553–61
29. Bach JF (2002) The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 347(12):911–20
30. Gereda JE, Leung DY, Thatayatikom A, et al (2000) Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. *Lancet* 355(9216):1680–3
31. Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA, et al (2000) Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. *N Engl J Med* 343(8):538–43
32. Wittebole X, Castanares-Zapatero D, Laterre PF (2010) toll-like receptor 4 modulation as a strategy to treat sepsis. *Mediators Inflamm* 568396
33. Black M, Trent A, Tirrell M, Olive C (2010) Advances in the design and delivery of peptide subunit vaccines with a focus on toll-like receptor agonists. *Expert Rev Vaccines* 9(2):157–73
34. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, et al (2009) Probiotics and immunity. *J Gastroenterol* 44(1):26–46