



ELSEVIER
MASSON



Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie 53 (2013) 591–597

Revue générale

Utilisation des peptides dans l'immunothérapie spécifique : actualités et perspectives

Use of peptides in allergen-specific immunotherapy: Today and tomorrow

D. Lair^{a,*,b,c,d}, S. Vrtala^e, A. Magnan^{a,b,c,d}

^a Inserm UMR1087, CNRS UMR 6291, IRS-UN, 8, quai Moncoussu, BP 70721, 44007 Nantes cedex 1, France

^b IRT-UN, institut du thorax, université de Nantes, 44000 Nantes, France

^c Département hospitalo-universitaire DHU 2020, 44000 Nantes, France

^d Réseau allergie respiratoire et alimentaire (REAL²), 44000 Nantes, France

^e Department of pathophysiology and allergy research, center for pathophysiology, infectiology and immunology, Vienna, Autriche

Reçu le 10 juin 2013 ; accepté le 27 juin 2013

Disponible sur Internet le 23 août 2013

Résumé

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique majoritairement allergique dont l'un des traitements actuels consiste à désensibiliser de façon spécifique le patient vis-à-vis de l'allergène : c'est l'immunothérapie spécifique (ITS). L'ITS repose actuellement sur l'administration d'allergènes obtenus sous forme d'extrait par différentes méthodes. À l'heure actuelle, ces extraits sont encore de composition variable et d'une efficacité inégale. Les techniques de biologie moléculaire ont permis d'obtenir un panel d'allergènes recombinants en grande quantité et d'une excellente pureté. Mais l'ITS n'est pas encore sans innocuité et de nombreuses équipes développent des stratégies différentes pour l'améliorer, qu'il s'agisse de nouveaux concepts thérapeutiques (vaccination ADN, thérapie cellulaire...), des voies d'administration ou bien directement de l'élaboration d'allergènes présentant des qualités d'immunogénicité sans avoir pour autant d'allergénicité.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Allergie ; Immunothérapie spécifique ; Peptides ; Vaccination ; Allergènes

Abstract

Asthma is mainly a chronic inflammatory allergic disease. One of the key treatments for this condition, allergen-specific immunotherapy (AIT), consists of desensitizing the allergic patient to the specific allergen to which he/she is sensitized. AIT is based on the administration of allergenic extracts produced by different methods. At present, such extracts still have unequal composition and efficiency. The use of molecular biology techniques has led to the availability of a panel of recombinant allergens in large quantities and with excellent purity. However, AIT is still not entirely safe, and a number of research teams are developing different strategies to improve it, such as new therapeutic approaches (e.g., DNA vaccination, cell therapy, etc.), the use of different routes of administration, and the preparation of allergens with immunogenicity but without allergenicity.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Allergy; Allergen-specific immunotherapy; Allergens; Peptides; Vaccination

1. Introduction

L'asthme est une maladie respiratoire chronique très fréquente, qui affecte près de 300 millions de personnes dans le monde [1], avec une prévalence dépassant 10 % aux

États-Unis, Royaume-Uni, Australie, Brésil. En France, elle était estimée entre 2 et 3 % il y a 20 ans, contre 5 à 7 % récemment [2], avec de grandes différences selon les régions, de 5,2 % dans l'Est jusqu'à 7,9 % dans le Bassin parisien [3]. Les coûts qui lui sont associés sont conséquents, estimés à 1,5 milliards d'euros en 2001, lorsqu'on tient compte des coûts directs (traitements et soins hospitaliers) et indirects (absentéisme, invalidité), faisant de cette maladie un véritable enjeu de santé publique (programme d'action, de prévention et de

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : david.lair@univ-nantes.fr (D. Lair).

prise en charge de l'asthme, 2005). Dans tous les pays aussi bien industrialisés que ceux en voie d'industrialisation, cette prévalence est en hausse régulière ces dernières décennies, avec aujourd'hui des facteurs de risque clairement identifiés : une susceptibilité familiale, l'exposition à la pollution, une moindre exposition aux micro-organismes de notre environnement pendant la petite enfance (hypothèse hygiéniste), et surtout un terrain atopique [4]. L'atopie est définie comme une réactivité immunologique anormale vis-à-vis d'antigènes environnementaux qualifiés d'allergènes, et plus de la moitié des asthmes lui sont associés [5]. La prévalence de l'ensemble des maladies atopiques (dermatite atopique, rhinite allergique, asthme allergique) peut atteindre 25 % dans les pays industrialisés, avec là aussi une augmentation régulière ces dernières décennies, retrouvée dans toutes les régions du monde [6]. L'histoire naturelle de l'atopie, autrement appelée marche atopique, commence dans la petite enfance par la sensibilisation aux allergènes par voie orale, inhalée et/ou transcutanée. La dermatite atopique ou eczéma, parfois associée à une allergie alimentaire, signe dès le plus jeune âge l'entrée dans la maladie. Elle disparaît en règle générale en quelques années pour laisser place dans environ 30 à 50 % des cas à une rhinite allergique et/ou un asthme, parfois grave voire mortel, au minimum invalidant [7,8]. On appelle « marche atopique » cette progression de l'eczéma et/ou allergie alimentaire de la petite enfance à l'asthme du grand enfant et du jeune adulte [9,10]. L'hypothèse la plus soutenue pour expliquer cette marche atopique serait la pénétration facilitée des pneumallergènes de l'environnement par l'altération des barrières cutanée dans la dermatite atopique, notamment en cas de mutations du gène de la filaggrine [11] ou digestive dans l'allergie alimentaire. Concernant l'asthme allergique, il s'agit plus précisément d'une maladie inflammatoire chronique des bronches, secondaire à l'exposition à des pneumallergènes chez un sujet prédisposé et sensibilisé. La physiopathologie se décompose en deux étapes, la première étape, silencieuse, est appelée la sensibilisation : sur un terrain prédisposé, atopique, l'allergène traverse une barrière muqueuse (cutanée et/ou digestive et/ou respiratoire) où il est pris en charge par les cellules dendritiques (DC) présentatrices d'antigène. Cette maturation de la DC lui permet de migrer au niveau des ganglions régionaux où le complexe allergène-DC est présenté aux lymphocytes T CD4+ naïfs qui vont reconnaître spécifiquement le/les peptide(s) allergénique(s) via leur récepteur spécifique (TCR). Les cellules présentatrices d'antigène initient alors, chez le sujet atopique, la polarisation, principalement T helper 2 (Th2), des lymphocytes T effecteurs [12] et mémoires spécifiques [12,13]. Les lymphocytes effecteurs vont sécréter des cytokines pro-inflammatoires telles que IL-4, IL-5, IL-13. L'IL-4 et l'IL-13 provoqueront via la stimulation des lymphocytes B spécifiques de l'allergène la production de plasmocytes sécrétant d'IgE et d'IgG1 spécifiques d'allergène [14] se fixant à la surface des mastocytes bronchiques et des polynucléaires basophiles leur conférant une réactivité forte vis-à-vis de l'allergène ; quant à l'IL-5, elle activera les éosinophiles.

Au cours d'une seconde étape, lors de contacts ultérieurs avec le même allergène, dans les minutes suivant la

réexposition, la fixation de l'allergène aux IgE présentes sur les mastocytes provoquera leur dégranulation avec libération de médiateurs pro-inflammatoires (histamine, protéases, médiateurs lipidiques, cytokines et chimiokines) provoquant vasodilatation, contraction des muscles lisses, responsable d'un bronchospasme et initiant la réaction inflammatoire immédiate : c'est la crise d'asthme aiguë dans son expression classique. De façon retardée (4 à 6 heures), des polynucléaires éosinophiles sont recrutés au sein de la paroi bronchique via la sécrétion d'IL-5 par les lymphocytes Th2 [15] et provoquent l'apparition des lésions tissulaires [16], et une activation des éosinophiles et des lymphocytes eux-mêmes responsables de symptômes retardés. Les sujets allergiques et asthmatiques sont donc caractérisés par une hyperéosinophilie et un déséquilibre de la balance lymphocytaire Th2/Th1. Les lymphocytes T ont donc un rôle central dans la genèse de la pathologie. Si celui des lymphocytes Th2 est incontestable, le rôle des lymphocytes Th1 est plus controversé. Ils pourraient coopérer, via des cytokines de type Th1 dont l'IFN- γ , avec les lymphocytes Th2 dans l'induction de l'hyperréactivité bronchique [17,18] ou, à l'inverse inhiber la réponse Th2 et avoir un effet protecteur [19]. De plus, les lymphocytes T CD4 régulateurs et producteurs de cytokines immunosuppressives type IL-10 et TGF β sont également impliqués : ils semblent déficitaires dans l'asthme, notamment lors d'exacerbations [20]. Enfin les lymphocytes Th17, médiateurs de l'inflammation neutrophilique, semblent être impliqués, particulièrement dans les phénotypes d'asthme sévère [21]. Face aux multiples réexpositions, une inflammation chronique finit par s'installer entraînant un remodelage de l'épithélium et du muscle lisse bronchiques à l'origine d'une altération durable de la fonction respiratoire.

Un certain nombre de facteurs de risque dans l'asthme allergique ont été identifiés, qui peuvent être divisés en facteurs génétiques et environnementaux, dont les allergènes tels que les acariens de la poussière de maison, les phanères d'animaux ou les moisissures. Parmi ces derniers, la sensibilisation aux acariens tient un rôle important dans le développement de l'asthme, ainsi que dans la survenue d'exacerbations.

2. Contexte thérapeutique actuel

Actuellement, l'asthme peut être facilement contrôlé dans la grande majorité des cas par des traitements inhalés [1]. Cependant, il existe une proportion de patients qui restent mal contrôlés malgré des traitements lourds, incluant la corticothérapie par voie générale qui peut induire de nombreux effets secondaires et qui n'a qu'un effet suspensif sans action sur la maladie allergique sous-jacente qui cause l'asthme. Ainsi, prévenir les exacerbations chez l'asthmatique quelle qu'en soit la cause, c'est traiter ou prévenir l'inflammation chronique d'origine allergique. L'immunothérapie spécifique (ITS) représente une alternative dans le traitement de l'asthme allergique, qui consiste en l'administration à doses progressivement croissantes de l'allergène incriminé, afin d'induire une tolérance immunitaire lors de la réexposition à cet antigène. Schématiquement, la réaction allergique en cause dans

l'asthme est de type Th2 pro-éosinophile et il est maintenant admis que l'ITS en induisant une réponse mixte Th1 et T régulatrice inhibe cette activation Th2 et rétablit un état de « tolérance » vis-à-vis de l'allergène [22]. L'ITS des allergènes est un traitement qui s'est développé au cours des 100 dernières années et dont les mécanismes consistent en une reprogrammation de la réponse immunitaire, en agissant, d'une part, sur les lymphocytes T régulateurs en augmentant leur sécrétion d'IL-10 et ainsi leur capacité suppressive, d'autre part, sur les cellules Th2 en diminuant leur prolifération, particulièrement les cellules spécifiques de l'allergène et diminuant le taux de cytokines secrétées, et enfin en diminuant le nombre de mastocytes, éosinophiles et leurs médiateurs [23]. L'ensemble de ces modifications de la réponse immunitaire entraîne une réduction des manifestations cliniques, de l'hyperréactivité bronchique et de la consommation médicamenteuse [24]. Cependant, l'ITS dans sa forme actuelle présente plusieurs inconvénients :

- l'ITS oblige d'administrer en continu pendant plusieurs années l'allergène ;
- l'ITS reste d'efficacité limitée et variable d'un patient à l'autre, possiblement en raison du contenu variable en composés immuno-actifs des extraits utilisés ;
- l'ITS peut toujours présenter un risque d'effet secondaire notamment des chocs anaphylactiques graves.

Ainsi, des stratégies thérapeutiques innovantes mais également de nouveaux allergènes doivent être développés dans le but de traiter globalement la maladie allergique de l'asthmatique, de contrôler les symptômes et de prévenir les exacerbations (Fig. 1).

3. Les différentes voies d'administration

Plusieurs voies d'administration sont actuellement étudiées pour mettre en place l'ITS. La plus répandue est la voie sous-cutanée mais d'autres voies sont explorées comme l'administration orale [25], sublinguale [26–28], nasale [29], intralymphatique [30,31] et épicutanée [32,33]. L'induction de tolérance par voie sublinguale est une des principales alternatives à l'ITS par injection sous-cutanée. Il a été montré que l'exposition précoce aux allergènes alimentaires tels que le lait de vache peut provoquer une allergie alimentaire mais que chez certains enfants, cette allergie ne persiste pas, ce qui indique que les mécanismes d'induction de tolérance via les muqueuses peuvent être efficaces [34]. Ainsi, il a été démontré dans des modèles animaux expérimentaux que la pré-alimentation avec les allergènes permet de prévenir la sensibilisation allergique [35,36]. L'utilisation prophylactique et thérapeutique de Bet v 1 via des voies locales d'administration réduit la réponse spécifique à l'allergène des lymphocytes T et B dans un modèle murin d'allergie au pollen de bouleau [37,38] mais également dans des études cliniques [39]. Cependant, l'administration nasale d'allergènes chez des patients allergiques peut entraîner une forte augmentation de la production d'IgE spécifiques et de la sensibilité cutanée, ce

qui indique que l'administration via les voies locales d'administration chez des patients déjà sensibilisés peut aggraver la réponse immunitaire allergique au lieu de provoquer une tolérance [40,41].

4. Les différentes stratégies innovantes d'immunothérapie spécifique

4.1. Les thérapies « directes »

Dans les différentes approches où l'allergène est utilisé directement pour l'induction de tolérance, la question de la forme et de la qualité de l'allergène est essentielle. Afin de pallier les inconvénients de l'ITS avec des extraits naturels et d'améliorer son efficacité et sa tolérance, de nombreuses stratégies ont été mises en place pour standardiser la production et la composition des allergènes. En effet, les extraits naturels ont souvent une qualité et/ou une quantité insuffisante d'allergènes. Cela peut être dû au manque de disponibilité en grande quantité de l'allergène, à une instabilité de celui-ci ou bien à une grande variabilité de la quantité d'allergènes dans l'extrait. La présence de contaminations et de substances non allergéniques ou encore la faible immunogénicité de certains allergènes peut également être en cause. Il existe différentes stratégies visant à améliorer les allergènes qui ont toutes pour but, in fine, de limiter la variabilité interpatient, la variabilité de la composition des extraits utilisés et également de limiter les effets secondaires anaphylactiques. Pour cela plusieurs types d'allergènes ont été développés ces dernières décennies.

4.1.1. Allergènes natifs recombinants

Les techniques de biologie moléculaire développées depuis 25 ans ont permis d'isoler l'ADN codant pour de nombreux allergènes cliniquement pertinents [42]. Les allergènes recombinants ainsi élaborés par génie génétique et exprimés dans divers organismes (principalement *Escherichia coli*) permettent d'obtenir des protéines ou parties de protéines dont les conformations sont capables de mimer un panel d'épitopes identiques à celui observé pour l'allergène naturel [43]. L'intérêt majeur de ces allergènes recombinants est de permettre une production en grande quantité avec une qualité constante des allergènes. Cependant, si les allergènes recombinants de ce type utilisés pour la formulation de vaccins anti-allergiques permettent d'éliminer les problèmes liés à la mauvaise qualité des extraits, ils conservent une activité allergénique similaire aux allergènes naturels et sont comme ceux-ci à même de produire des effets secondaires induits par les IgE.

4.1.2. Allergènes recombinants hypoallergéniques

Pour contourner les défauts des allergènes recombinants, de nombreuses études cherchent à créer des allergènes recombinants hypoallergéniques. L'idée est de concevoir un allergène recombinant modifié qui présente une réduction de l'allergénicité (c'est-à-dire au moins une diminution de réactivité et de capacité à se fixer aux IgE spécifiques de l'allergène) et de l'activité allergénique (capacité d'induire par les IgE la

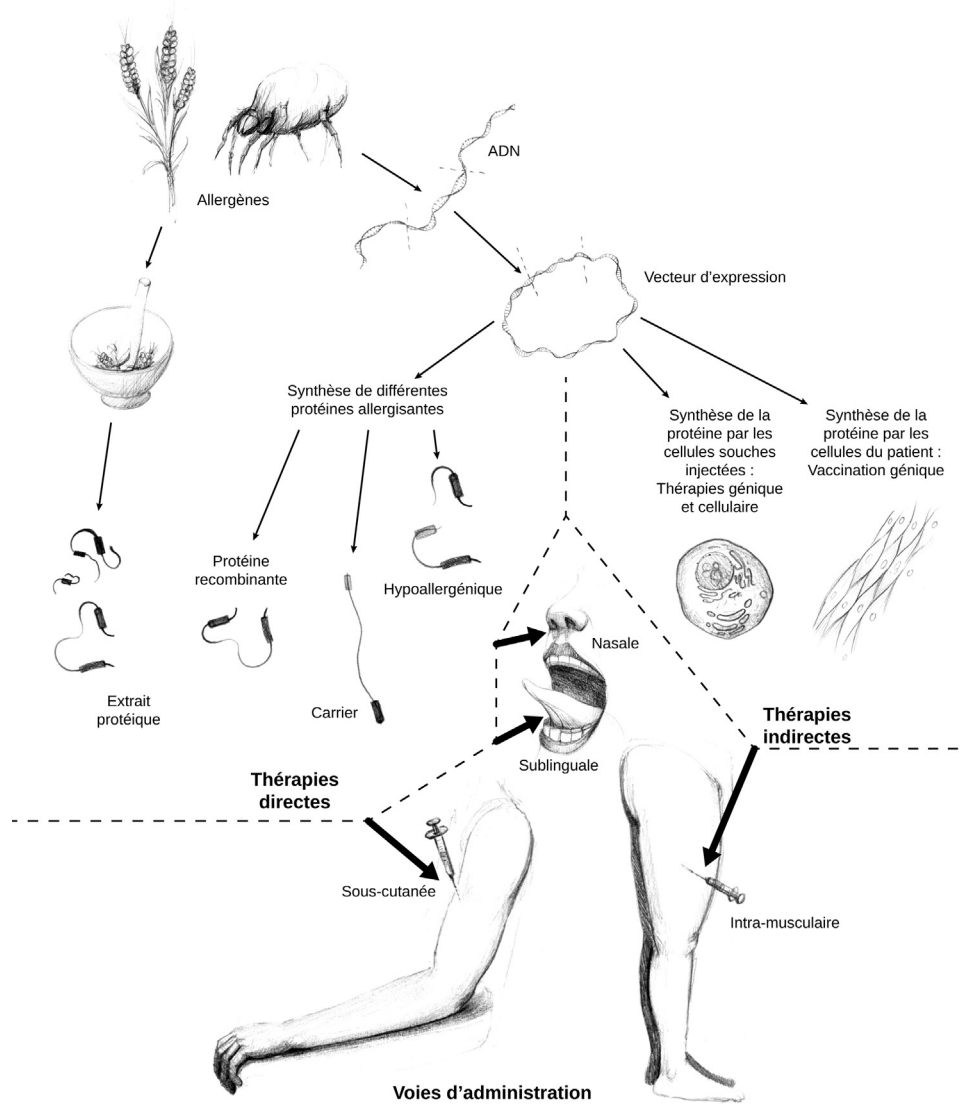


Fig. 1. De l'allergène à la thérapie. Il existe différentes manières d'appréhender l'immunothérapie spécifique (ITS) actuellement à partir d'un allergène et ces différentes thérapies peuvent passer par des voies distinctes d'administration. La première et la plus basique des approches consiste à obtenir directement un extrait protéique à partir de l'allergène et de l'injecter. La seconde, basée sur la séquence de l'allergène et les outils actuels de la biologie moléculaire, ouvre la voie à un ensemble de thérapies qu'elles soient directes par synthèse *ex vivo* de différentes formes de protéines recombinantes et administrées par voie sous-cutanée ou sublinguale ou nasale, ou qu'elles soient indirectes avec l'injection intramusculaire de cellules ou de vaccins qui permettent une synthèse *in vivo* des protéines de l'allergène.

dégranulation des mastocytes ou des basophiles). Les hypoallergènes recombinants sont obtenus par diverses manipulations de biologie moléculaire telles que l'introduction de mutations dans la séquence de l'allergène, la production de grands fragments non allergènes, le réassemblage de séquences, l'oligomérisation et la suppression de séquences [42,44–46]. La plupart des épitopes lymphocytaires T spécifiques de l'allergène sont conservés dans ces hypoallergènes car les mutations affectent principalement les sites de liaison aux IgE et laissent les épitopes des lymphocytes T intacts. L'emploi de ces molécules recombinantes hypoallergéniques permet de fortement réduire leur activité allergénique et d'administrer des doses plus élevées comparées à celles utilisées avec les allergènes naturels. Toutefois, l'innocuité de ces allergènes hypoallergéniques n'est pas totale et ils peuvent

encore induire des effets secondaires principalement dus aux populations lymphocytaires T [47].

4.1.3. Les autres formes d'allergènes recombinants

De nombreuses autres stratégies et formes d'allergènes sont explorées pour l'ITS. Les allergènes utilisés peuvent ainsi se présenter sous formes de protéines recombinantes hybrides où une seule protéine porte plusieurs allergènes ce qui permet d'augmenter l'immunogénicité de certains allergènes qui seuls ont une faible capacité à induire une réponse IgG [48]. Ces protéines restent malgré tout susceptibles de causer comme les allergènes naturels de nombreux effets secondaires [42]. On trouve également des protéines de fusion où une protéine sans rapport avec l'allergène (protéine immunogène ou issue de virus) sert de transporteur pour un ou plusieurs peptides

d'allergènes hypoallergéniques ne présentant pas d'allergénicité. Le plus souvent ces peptides sont dérivés des sites de fixation des IgE et ne contiennent pas ou peu d'épitopes des lymphocytes T [49,50]. Certains peptides peuvent également être employés dans l'ITS. Ces peptides contiennent principalement les épitopes T spécifiques de l'allergène qui seront invisibles pour les IgE spécifiques [49,51,52]. Une autre voie consiste à coupler des allergènes à des séquences CpG (séquence d'ADN connue pour leur capacité immunomodulatrice) ou à des particules pseudo-virales [49]. Il a été démontré très tôt que les propriétés immunologiques des allergènes pouvaient être profondément modifiées s'ils étaient couplés à d'autres composés. Par exemple, le couplage des allergènes avec le polyéthylène glycol (mPEG) réduit l'activité allergénique [53]. De même, des oligonucléotides contenant des motifs CpG induisent préférentiellement des réponses immunitaires Th1 [54]. En effet, le couplage de motifs CpG aux allergènes réduit leur activité allergénique et peut favoriser des réponses immunitaires Th1 spécifiques de l'allergène [55].

4.2. Les thérapies « indirectes »

Ces thérapies basées sur une expression in situ de l'allergène ou sur l'utilisation de cellules immunes rendues spécifiquement compétentes permettent d'envisager des thérapies plus ciblées et moins contraignantes.

4.2.1. Vaccination génique

Parmi les nouvelles modalités thérapeutiques utilisées pour l'ITS, certaines basées sur la vaccination par ADN ou ARN sont en cours de développement. La vaccination ARN reste encore marginale [56] comparée à la vaccination ADN. Concernant cette dernière, il s'agit d'injecter l'ADN codant pour des séquences peptidiques immunodominantes d'allergène majeur, à la place d'extraits allergéniques standard, cela permettant une immunogénicité ciblée et une allergénicité moindre. Certaines études sur des modèles animaux ont montré un potentiel thérapeutique dans cette stratégie : celle de Jarman et al. constate une diminution des cytokines de type Th2 dans le lavage broncho-alvéolaire lors de l'administration d'un plasmide contenant l'ADN codant pour un peptide immunodominant de Derp1 par voie intramusculaire à des souris asthmatiques par rapport aux souris non traitées [57]. De plus la réponse immunitaire peut être orientée dans le sens voulu, en associant au vaccin un adjuvant. Kim et al. montrent que la co-administration d'ADN de *Dermatophagoides pteronyssimus* et du bacille de Calmette et Guérin, connu pour ses effets immunomodulateurs pro-Th1, entraîne une régression du phénotype asthmatique associée à une augmentation de la production d'IFN- γ dans le lavage broncho-alvéolaire de souris [58]. Cependant, même si la vaccination intramusculaire d'ADN induit une forte réponse immunitaire chez la souris, les quantités importantes nécessaires d'ADN ne permettent pas une transposition future à l'homme [59]. Pour palier ce problème, l'utilisation de nouveaux vecteurs novateurs pourrait être une solution. Ainsi, récemment notre équipe a montré des résultats préliminaires encourageant sur l'action de la

vaccination avec un nouveau vecteur synthétique sur un modèle murin d'asthme allergique [60].

4.2.2. Thérapies génique et cellulaire

Une des autres approches possibles, déjà étudiée dans des modèles préclinique de transplantation ou de maladie auto-immune [61,62], consiste à administrer des cellules souches hématopoïétiques transduites avec un rétrovirus qui exprime des antigènes particuliers. Certains travaux ont déjà montré que l'on pouvait ainsi induire une tolérance dans des modèles murins et notamment dans l'allergie [63,64]. Dans ces études, Baranyi et al. montrent que le transfert de cellules souches hématopoïétiques capables d'exprimer l'allergène Phl p 5, allergène majeur des pollens de graminées, empêche spécifiquement chez la souris le développement d'une allergie à Phl p 5 alors que le développement de l'allergie à un autre allergène comme Bet v 1 n'est pas affecté. Une tolérance robuste est induite au niveau des lymphocytes B, des lymphocytes T et des cellules effectrices en utilisant cette approche de thérapie génique. Dans ce protocole, chez les animaux rendus tolérants on ne note pas d'apparition d'IgE spécifique de Phl p 5, ni d'IgG, ni de réactivité des lymphocytes T et avec une absence totale de réactions allergiques. Cependant, les mécanismes qui sous-tendent cette approche de thérapie génique de l'allergie doivent être étudiés plus profondément [64]. D'autres approches commencent également à apparaître, telles que l'utilisation des lymphocytes T régulateurs [65] ou les lymphocytes Th1 [66].

5. Conclusion

L'ITS est actuellement le seul traitement spécifique de l'allergie capable de modifier le cours de la maladie. L'utilisation des allergènes naturels présente des limites qui ont poussé les chercheurs à explorer de nouvelles approches. Des stratégies de traitements prophylactiques ou de thérapeutiques innovantes ont pu être développées grâce à l'essor de la biologie moléculaire permettant à plus ou moins court terme d'envisager la vaccination comme un moyen efficace de traitement. En parallèle se mettent en place d'autres voies comme la thérapie cellulaire. De nombreuses voies d'administration sont également explorées. De nombreux efforts ont également porté sur les allergènes et de nombreuses équipes tentent de concevoir des alternatives aux allergènes naturels qui permettraient d'obtenir des molécules avec une activité allergénique moindre, sans allergénicité mais en conservant malgré tout une bonne immunogénicité pour pouvoir induire une tolérance durable.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] From the Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2012. Disponible sur : <http://www.ginasthma.org/>. [Internet]. [Cité 5 mars 2013]. Disponible sur : <http://www.ginasthma.org/documents/4>.

- [2] Delmas MC, Fuhrman C. [Asthma in France: a review of descriptive epidemiological data]. *Rev Mal Respir* 2010;27(2):151–9.
- [3] IRDES. L'asthme en France en 2006 : prévalence, contrôle et déterminants. [Internet]. 2006. Disponible sur : <http://www.irdes.fr/Publications/Rapports2011/rap1820.pdf>.
- [4] Rhodes HL, Sporik R, Thomas P, Holgate ST, Cogswell JJ. Early life risk factors for adult asthma: a birth cohort study of subjects at risk. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5):720–5.
- [5] Arbes Jr SJ, Gergen PJ, Vaughn B, Zeldin DC. Asthma cases attributable to atopy: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(5):1139–45.
- [6] Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CKW, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC phases one and three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368(9537):733–43.
- [7] Ricci G, Patrizi A, Giannetti A, Dondi A, Bendandi B, Masi M. Does improvement management of atopic dermatitis influence the appearance of respiratory allergic diseases? A follow-up study. *Clin Mol Allergy Cma* 2010;8:8.
- [8] Schroeder A, Kumar R, Pongracic JA, Sullivan CL, Caruso DM, Costello J, et al. Food allergy is associated with an increased risk of asthma. *Clin Exp Allergy* 2009;39(2):261–70.
- [9] Spergel JM. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;105(2):99–106 [Quiz p. 107–109, p. 117].
- [10] Spergel JM. Epidemiology of atopic dermatitis and atopic march in children. *Immunol Allergy Clin North Am* 2010;30(3):269–80.
- [11] Irvine AD, McLean WHI, Leung DYM. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med* 2011;365(14):1315–27.
- [12] Lambrecht BN, De Veerman M, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, Thielemans K, Pauwels RA. Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 2000;106(4):551–9.
- [13] Hammad H, Plantinga M, Deswarte K, Pouliot P, Willart MAM, Kool M, et al. Inflammatory dendritic cells – not basophils – are necessary and sufficient for induction of Th2 immunity to inhaled house dust mite allergen. *J Exp Med* 2010;207(10):2097–111.
- [14] Bergstedt-Lindqvist S, Moon HB, Persson U, Möller G, Heusser C, Severinson E. Interleukin 4 instructs uncommitted B lymphocytes to switch to IgG1 and IgE. *Eur J Immunol* 1988;18(7):1073–7.
- [15] Mould AW, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG, Rothenberg ME, Foster PS. The effect of IL-5 and eotaxin expression in the lung on eosinophil trafficking and degranulation and the induction of bronchial hyperreactivity. *J Immunol* 2000;164(4):2142–50.
- [16] Bentley AM, Kay AB, Durham SR. Human late asthmatic reactions. *Clin Exp Allergy* 1997;27(Suppl. 1):71–86.
- [17] Randolph DA, Stephens R, Carruthers CJ, Chaplin DD. Cooperation between Th1 and Th2 cells in a murine model of eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 1999;104(8):1021–9.
- [18] El Biaze M, Boniface S, Koscher V, Mamessier E, Dupuy P, Milhe F, et al. T-cell activation, from atopy to asthma: more a paradox than a paradigm. *Allergy* 2003;58(9):844–53.
- [19] Huang TJ, MacAry PA, Eynott P, Moussavi A, Daniel KC, Askenase PW, et al. Allergen-specific Th1 cells counteract efferent Th2 cell-dependent bronchial hyperresponsiveness and eosinophilic inflammation partly via IFN-gamma. *J Immunol* 2001;166(1):207–17.
- [20] Mamessier E, Nieves A, Lorec AM, Dupuy P, Pinot D, Pinet C, et al. T-cell activation during exacerbations: a longitudinal study in refractory asthma. *Allergy* 2008;63(9):1202–10.
- [21] Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Pagé N, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(3):430–8.
- [22] Jutel M, Akdis CA. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy* 2011;66(6):725–32.
- [23] Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(1):18–27 [quiz p. 28–29].
- [24] Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Injection allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;8:CD001186.
- [25] Brożek JL, Terracciano L, Hsu J, Kreis J, Compalati E, Santesso N, et al. Oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy* 2012;42(3):363–74.
- [26] Yuksele A, Kendirli SG, Yilmaz M, Altintas DU, Karakoc GB. Effect of one-year subcutaneous and sublingual immunotherapy on clinical and laboratory parameters in children with rhinitis and asthma: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157(3):288–98.
- [27] Calderón MA, Simons FER, Malling HJ, Lockey RF, Moingeon P, Demoly P. Sublingual allergen immunotherapy: mode of action and its relationship with the safety profile. *Allergy* 2012;67(3):302–11.
- [28] Radulovic S, Wilson D, Calderon M, Durham S. Systematic reviews of sublingual immunotherapy (SLIT). *Allergy* 2011;66(6):740–52.
- [29] Wiedermann U, Herz U, Baier K, Vrtala S, Neuhaus-Steinmetz U, Bohle B, et al. Intranasal treatment with a recombinant hypoallergenic derivative of the major birch pollen allergen Bet v 1 prevents allergic sensitization and airway inflammation in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126(1):68–77.
- [30] Senti G, Cramer R, Kuster D, Johansen P, Martinez-Gomez JM, Graf N, et al. Intralymphatic immunotherapy for cat allergy induces tolerance after only 3 injections. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(5):1290–6.
- [31] Senti G, Johansen P, Kündig TM. Intralymphatic immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9(6):537–43.
- [32] Senti G, Graf N, Haug S, Rüedi N, von Moos S, Sonderegger T, et al. Epicutaneous allergen administration as a novel method of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(5):997–1002.
- [33] Mondoulet L, Dioszeghy V, Vanoirbeek JAJ, Nemery B, Dupont C, Benhamou PH. Epicutaneous immunotherapy using a new epicutaneous delivery system in mice sensitized to peanuts. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154(4):299–309.
- [34] Høst A, Jacobsen HP, Halken S, Holmenlund D. The natural history of cow's milk protein allergy/intolerance. *Eur J Clin Nutr* 1995;49(Suppl. 1):S13–8.
- [35] David MF. Prevention of homocytotropic antibody formation and anaphylactic sensitization by prefeeding antigen. *J Allergy Clin Immunol* 1977;60(3):180–7.
- [36] Zemann B, Schwaerzler C, Griot-Wenk M, Nefzger M, Mayer P, Schneider H, et al. Oral administration of specific antigens to allergy-prone infant dogs induces IL-10 and TGF-beta expression and prevents allergy in adult life. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(5):1069–75.
- [37] Wiedermann U, Jahn-Schmid B, Bohle B, Repa A, Renz H, Kraft D, et al. Suppression of antigen-specific T- and B-cell responses by intranasal or oral administration of recombinant bet v 1, the major birch pollen allergen, in a murine model of type I allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103(6):1202–10.
- [38] Winkler B, Hufnagl K, Spittler A, Ploder M, Kállay E, Vrtala S, et al. The role of Foxp3+ T-cells in long-term efficacy of prophylactic and therapeutic mucosal tolerance induction in mice. *Allergy* 2006;61(2):173–80.
- [39] Bohle B, Kinacian T, Gerstmayr M, Radakovics A, Jahn-Schmid B, Ebner C. Sublingual immunotherapy induces IL-10-producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance, and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(3):707–13.
- [40] Niederberger V, Ring J, Rakoski J, Jager S, Spitzauer S, Valent P, et al. Antigens drive memory IgE responses in human allergy via the nasal mucosa. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;142(2):133–44.
- [41] Durham SR, Yang WH, Pedersen MR, Johansen N, Rak S. Sublingual immunotherapy with once-daily grass allergen tablets: a randomized controlled trial in seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(4):802–9.
- [42] Valenta R, Ferreira F, Focke-Tejkl M, Linhart B, Niederberger V, Swoboda I, et al. From allergen genes to allergy vaccines. *Annu Rev Immunol* 2010;28:211–41.
- [43] Niederberger V, Pauli G, Grönlund H, Fröschl R, Rumpold H, Kraft D, et al. Recombinant birch pollen allergens (rBet v 1 and rBet v 2) contain most of the IgE epitopes present in birch, alder, hornbeam, hazel, and oak pollen: a quantitative IgE inhibition study with sera from different populations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102(4 Pt 1):579–91.

- [44] Valenta R. The future of antigen-specific immunotherapy of allergy. *Nat Rev Immunol* 2002;2(6):446–53.
- [45] Valenta R, Niespodziana K, Focke-Tejkl M, Marth K, Huber H, Neubauer A, et al. Recombinant allergens: what does the future hold? *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(4):860–4.
- [46] Valenta R, Linhart B, Swoboda I, Niederberger V. Recombinant allergens for allergen-specific immunotherapy: 10 years anniversary of immunotherapy with recombinant allergens. *Allergy* 2011;66(6):775–83.
- [47] Purohit A, Niederberger V, Kronqvist M, Horak F, Grönneberg R, Suck R, et al. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. *Clin Exp Allergy* 2008;38(9):1514–25.
- [48] Linhart B, Mothes-Luksch N, Vrtala S, Kneidinger M, Valent P, Valenta R. A hypoallergenic hybrid molecule with increased immunogenicity consisting of derivatives of the major grass pollen allergens, Phl p 2 and Phl p 6. *Biol Chem* 2008;389(7):925–33.
- [49] Valenta R, Campana R, Marth K, van Hage M. Allergen-specific immunotherapy: from therapeutic vaccines to prophylactic approaches. *J Intern Med* 2012;272(2):144–57.
- [50] Niespodziana K, Focke-Tejkl M, Linhart B, Civaj V, Blatt K, Valent P, et al. A hypoallergenic cat vaccine based on Fel d 1-derived peptides fused to hepatitis B PreS. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(6):1562–70 [e6].
- [51] Müller U, Akdis CA, Fricker M, Akdis M, Blesken T, Bettens F, et al. Successful immunotherapy with T-cell epitope peptides of bee venom phospholipase A2 induces specific T-cell anergy in patients allergic to bee venom. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101(6 Pt 1):747–54.
- [52] Worm M, Lee HH, Kleine-Tebbe J, Hafner RP, Laidler P, Healey D, et al. Development and preliminary clinical evaluation of a peptide immunotherapy vaccine for cat allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(1):89–97 [97.e1–14].
- [53] Lee WY, Sehon AH. Abrogation of reaginic antibodies with modified allergens. *Nature* 1977;267(5612):618–9.
- [54] Chu RS, Targoni OS, Krieg AM, Lehmann PV, Harding CV. CpG oligodeoxynucleotides act as adjuvants that switch on T helper 1 (Th1) immunity. *J Exp Med* 1997;186(10):1623–31.
- [55] Tighe H, Takabayashi K, Schwartz D, Van Nest G, Tuck S, Eiden JJ, et al. Conjugation of immunostimulatory DNA to the short ragweed allergen amb a 1 enhances its immunogenicity and reduces its allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(1 Pt 1):124–34.
- [56] Roesler E, Weiss R, Weinberger EE, Fruehwirth A, Stoecklinger A, Mostböck S, et al. Immunize and disappear-safety-optimized mRNA vaccination with a panel of 29 allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(5):1070–7 [e1–11].
- [57] Jarman ER, Lamb JR. Reversal of established CD4+ type 2 T helper-mediated allergic airway inflammation and eosinophilia by therapeutic treatment with DNA vaccines limits progression towards chronic inflammation and remodelling. *Immunology* 2004;112(4):631–42.
- [58] Kim CH, Ahn JH, Kim SJ, Lee S-Y, Kim YK, Kim KH, et al. Co-administration of vaccination with DNA encoding T-cell epitope on the Der p and BCG inhibited airway remodeling in a murine model of chronic asthma. *J Asthma* 2006;43(5):345–53.
- [59] McIlroy D, Barteau B, Cany J, Richard P, Gourden C, Conchon S, et al. DNA/amphiphilic block copolymer nanospheres promote low-dose DNA vaccination. *Mol Ther* 2009;17(8):1473–81.
- [60] Beilvert F, Tissot A, Langelot M, Mével M, Chatin B, Lair D, et al. DNA/amphiphilic block copolymer nanospheres reduce asthmatic response in a mouse model of allergic asthma. *Hum Gene Ther* 2012;23(6):597–608.
- [61] Alderuccio F, Murphy K, Toh BH. Stem cells engineered to express self-antigen to treat autoimmunity. *Trends Immunol* 2003;24(4):176–80.
- [62] Steptoe RJ, Ritchie JM, Harrison LC. Transfer of hematopoietic stem cells encoding autoantigen prevents autoimmune diabetes. *J Clin Invest* 2003;111(9):1357–63.
- [63] Baranyi U, Linhart B, Pilat N, Gattringer M, Bagley J, Muehlbacher F, et al. Tolerization of a type I allergic immune response through transplantation of genetically modified hematopoietic stem cells. *J Immunol* 2008;180(12):8168–75.
- [64] Baranyi U, Valenta R, Wekerle T. Molecular chimerism in IgE-mediated allergy: B- and T-cell tolerance toward highly immunogenic exogenous antigens. *Chimerism* 2013;4(1):29–31.
- [65] Schmetterer KG, Haiderer D, Leb-Reichl VM, Neunkirchner A, Jahn-Schmid B, Küng HJ, et al. Bet v 1-specific T-cell receptor/forkhead box protein 3 transgenic T-cells suppress Bet v 1-specific T-cell effector function in an activation-dependent manner. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(1):238–45 [p. 245.e1–3].
- [66] Neunkirchner A, Leb-Reichl VM, Schmetterer KG, Mutschlechner S, Kueng HJ, Haiderer D, et al. Human TCR transgenic Bet v 1-specific Th1 cells suppress the effector function of Bet v 1-specific Th2 cells. *J Immunol* 2011;187(8):4077–87.