



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique xxx (2007) xxx–xxx

REVUE FRANÇAISE
D'ALLERGOLOGIE
ET D'IMMUNOLOGIE CLINIQUE

<http://france.elsevier.com/direct/REVCLI/>

Modèles animaux d'asthme Animal models of asthma

N. Frossard

EA 3771 « Inflammation et environnement dans l'asthme », faculté de pharmacie, université
Louis Pasteur-Strasbourg I, 74, route du Rhin, 67400 Illkirch, France

Résumé

Les modèles animaux doivent, de manière idéale, refléter tout ou la majorité des caractéristiques de la maladie observée chez l'homme. Il est ainsi clair que les modèles animaux doivent être continuellement redéfinis en fonction de l'avancée des connaissances en physiopathologie : découverte de nouveaux facteurs, cytokines, récepteurs, phénotypes cellulaires. Le développement et l'utilisation des modèles animaux sont au premier plan de la découverte et de la validation de nouvelles cibles thérapeutiques. Ils servent aussi à la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques (« *drug discovery* ») et à l'amélioration du diagnostic clinique de la maladie par la proposition de biomarqueurs permettant le suivi de l'évolution, de la progression de la maladie et/ou le suivi thérapeutique. L'objectif général de cette revue est d'initier le lecteur à l'apport des modèles animaux à la découverte des nouvelles cibles thérapeutiques dans la maladie asthmatique, et à une prise de conscience des avantages et des limites des modèles animaux disponibles aujourd'hui. Cet objectif est illustré par l'exemple du rôle des cellules T et des cellules dendritiques (CDs) dans la maladie asthmatique.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Animal models ideally reflect the majority of the features observed in the human disease. Animal models therefore have to be continuously redefined in function of new findings in pathophysiology: new factors, cytokines, receptors, cell phenotypes. The development and use of animal models are in the forefront of the discovery, and validation of new therapeutic targets. They also serve the drug discovery process, as well as improving the diagnosis of diseases by proposing biomarkers useful for follow-up of the progression of a disease, and/or of the efficacy of treatment. The general objective of this review is to initiate the reader to the use of animal models in the investigation of new therapeutic targets for asthma, and to take into consideration advantages and limits of the models currently available. This objective will be illustrated using the role of T cells and dendritic cells in asthma as an example.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Asthme ; Modèles animaux ; Traitements antiasthmatiques

Keywords: Asthma; Animal models; Anti-asthmatic drugs

1. Généralités sur les modèles d'étude

En pratique, les études *in vitro* et *ex vivo* permettent de répondre à des questions spécifiques et focalisées, et de donner des réponses rapides sur le rôle d'une cible spécifique. Ils ne sont pas très dispendieux et limitent le nombre de variable pour une interprétation plus facile des résultats. Cependant, ces modèles doivent être associés à des études réalisées chez l'animal *in vivo*, une étape essentielle dans le cas de maladies

complexes comme l'asthme. Les modèles *in vivo* permettent d'approcher les mécanismes physiopathologiques, de mettre en évidence de nouveaux facteurs et de nouveaux mécanismes. Ils sont les seuls dans le processus de développement du médicament à apporter des informations sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination, ainsi que sur la toxicité potentielle des candidats médicaments.

2. Modèles animaux d'asthme

En ce qui concerne les maladies inflammatoires des voies aériennes, l'asthme fait l'objet de nombreux modèles animaux

Adresse e-mail : frossard@pharma.u-strasbg.fr.

développés dans de nombreuses espèces animales. Cependant, les modèles murins d'asthme ont permis l'étude détaillée des mécanismes, en particulier du rôle des lymphocytes T et des cellules dendritiques (CDs), grâce à la connaissance de l'immunologie de la souris et aux techniques d'ingénierie génétique pour la génération de souris génétiquement modifiées.

Le modèle d'asthme est classiquement obtenu par sensibilisation à un allergène (ovalbumine ou OVA) en présence d'un adjuvant, le plus souvent l'hydroxyde d'aluminium $\text{Al}(\text{OH})_3$, suivi d'une ou de plusieurs provocations allergéniques par voies nasale (instillation) ou aérienne (aérosol). L'ovalbumine est par elle-même une protéine antigénique inerte non reconnue par le système immunitaire. La co-administration d'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant permet d'orienter la réponse immunitaire vers le système Th2. Ce traitement induit, en fonction des modèles, de nombreux signes caractéristiques de la maladie asthmatique, incluant l'infiltrat d'éosinophiles, le remodelage de la paroi bronchique et une hyperréactivité bronchique (HRB) aux agents pharmacologiques bronchoconstricteurs comme la métacholine.

Divers types d'asthme peuvent être obtenus en fonction des protocoles utilisés. Les symptômes d'asthme aigu sont obtenus par injection intrapéritonéale d'ovalbumine en présence d' $\text{Al}(\text{OH})_3$, deux ou trois fois à une semaine d'intervalle, suivi de deux à quatre provocations par administration intranasale ou par aérosol d'OVA [1,2]. Des modèles d'asthme chronique ont également été mis au point : les provocations allergéniques sont réalisées pendant plusieurs semaines [1]. Ceci donne le temps au développement d'un remodelage des voies aériennes, qui est une caractéristique de l'asthme chez l'homme, et n'est pas présent dans les modèles aigus.

Inversement, un modèle d'asthme léger peut être obtenu par sensibilisation à l'aide d'administrations systémiques fréquentes d'allergène en absence d'adjuvant (une injection par jour pendant sept jours) suivie de nombreuses provocations allergéniques des voies aériennes [2]. Les modèles utilisant la voie inhalatoire pour l'administration de l'allergène ont été difficiles à développer, en particulier avec l'ovalbumine qui est peu immunogène par elle-même. L'administration d'OVA par voie inhalée est utilisée aussi comme modèle de tolérance [3,4]. En absence d'autre stimulus inflammatoire, les CDs qui captent ces antigènes n'expriment pas les molécules co-stimulatrices et induisent ainsi une réponse T caractérisée par une division cellulaire mais peu de différenciation en cellules effectrices [5,6]. Des modèles par inhalation plus « réalistes » ont été développés à l'aide de pneumallergènes (allergènes de blatte ou de pollen) combinés à des constituants bactériens ou présentant une activité protéolytique comme Der p 1 de *Dermatophagoides pteronyssinus* (cystéine protéinase) ou *Aspergillus fumigatus* [7,8]. Parallèlement, des modèles de tolérance ont été développés comme équivalents murins d'immunothérapie réalisée chez l'homme par administration de fortes doses d'allergène à une souris ainsi rendue résistante aux provocations allergéniques ultérieures [9].

Les mécanismes sous-jacents et leur comparabilité à la maladie asthmatique chez l'homme ne sont pas élucidés.

Cependant, ces modèles animaux ont récemment permis la découverte des mécanismes, tels que le rôle des lymphocytes T et de leurs phénotypes TReg et Th17, ou des CDs, comme nouvelles cibles thérapeutiques.

2.1. Exemples de modèles pour l'étude des lymphocytes T

Les lymphocytes T helper de type 2 (Th2) ont été considérés pendant de nombreuses années comme les cellules effectrices les plus importantes de la maladie asthmatique, cela du fait de leur présence dans la bronche du patient asthmatique. Ces études montrent les phénomènes intervenant lorsque la maladie est installée, les données présentant une résultante entre les agents causaux et les processus de réparation tissulaire déjà mises en œuvre dans les voies aériennes. Les modèles animaux permettront de disséquer en détail les mécanismes de la survenue et de la progression de la maladie. Ainsi récemment, de nouveaux phénotypes de cellules T ont été décrits, les lymphocytes T régulateurs, Treg.

2.1.1. Paradigme Th1/Th2

Dans un modèle murin d'asthme utilisant une sensibilisation à l'aide d'hématies de mouton chez la souris A/J, la déplétion en cellules CD4^+ avant le challenge allergénique empêchait le développement d'une HRB ainsi que de l'infiltrat d'éosinophiles [10]. D'autres études ont confirmé ce rôle essentiel des lymphocytes T. Le blocage des cytokines Th2 IL-4, IL-5 et IL-13 par technique immunologique ou génétique diminue l'inflammation des voies aériennes, l'hypersécrétion de mucus ainsi que l'HRB dans les modèles d'asthme ([11,12], pour revue : 2). De plus, une implication des cellules Th2 et l'induction d'une inflammation et d'une hyperréactivité des voies aériennes a été démontrée dans des expériences de transfert adoptif. Le transfert de cellules Th2 dérivées de souris transgéniques DO11.10, souris qui ne possèdent que des cellules T exprimant un TCR spécifique de l'OVA, est responsable de manifestations d'asthme chez la souris Balb/c après provocation allergénique à l'OVA [13]. Inversement, les souris n'exprimant pas le facteur de transcription T-bet, un facteur essentiel à la différenciation des Th1, développent un asthme spontanément [14]. Tout cela est en accord avec la théorie en vogue dans les années 1990, d'une balance Th1/Th2 dans le développement de l'asthme.

Cependant, d'autres expériences montrent que tout n'est pas aussi tranché. Le transfert adoptif de cellules Th1 spécifiques de l'ovalbumine (souris DO11.10) ne diminue pas l'inflammation des voies aériennes Th2-dépendante, mais induit au contraire une inflammation non-éosinophilique lors de la provocation antigénique, et potentialise l'inflammation éosinophilique [15]. Parallèlement, le blocage de l' $\text{IFN}\gamma$, une cytokine Th1, diminue l'HRB et l'infiltrat de cellules inflammatoires -mais pas des éosinophiles- dans la bronche dans les modèles aigus et sub-chroniques à l'ovalbumine [16,17]. Ainsi, bien que les cellules Th2 soient les forces vives de l'inflammation et de HRB dans l'asthme expérimental, il semble que les cellules Th1 agissent en synergie pour une réponse allergique complète.

2.1.2. Cellules T régulatrices (TReg)

Des expériences plus récentes ont permis la mise en évidence de mécanismes nouveaux dans le schéma trop simpliste du paradigme Th1/Th2. Les cellules T régulatrices naturelles (nTreg) sont des cellules CD4⁺ exprimant les récepteurs de l'IL-2 CD25⁺ à leur membrane et le facteur de transcription Foxp3. Ces cellules Treg sont capables de moduler l'asthme par régulation négative des réponses Th2 par contact cellulaire ; d'autres cellules Treg atypiques (aTreg) diminuent ces mêmes réactions par induction de l'expression d'IL-10 et/ou de TGFβ par les cellules T effectrices. Les cellules nTreg diminuent l'asthme Th2-dépendant. Le transfert de cellules CD4⁺CD25⁺ nTreg issues de souris DO11.10 induit une diminution de l'infiltrat éosinophile, de l'HRB et de la production de cytokines Th2 lors de la provocation allergénique. Le mécanisme est dépendant de la production d'IL-10, car aucun effet n'est obtenu lorsque les cellules transférées sont issues de souris DO11.10 dont le gène de l'IL-10 a été invalidé (IL-10^{-/-}) [18]. De plus, les cellules nTreg exprimant Foxp3 générées lors d'une infection helminthique à *H. Polygorus* sont capables de supprimer l'inflammation allergique Th2 dans deux modèles d'asthme, induits par OVA chez la souris Balb/c ou par Der p1 chez la souris C57/Bl6 [19]. Cet effet protecteur a été transféré à des animaux non infectés par transfert adoptif de cellules Foxp3⁺ CD4⁺CD25⁺, ainsi que par transfert de cellules CD4⁺ de souris IL-10^{-/-} [19].

2.1.3. Cellules TH17

A côté de ces Treg, ont été découvertes plus récemment, des cellules T exprimant l'IL-17, qui est une cytokine pro-inflammatoire dont les taux sont augmentés dans l'asthme, appelées TH17. Un modèle d'asthme chez la souris DO11.10 IL-17^{-/-} montre une diminution de l'HRB [9]. Peu de choses sont connues actuellement sur les cellules TH17 : on sait qu'elles sont liées à l'IL-23 qui semble avoir une importance par promotion de l'expansion des cellules Th17. La différenciation cellulaire vers une production d'IL-17 est augmentée par l'association IL-6 + TGFβ. TGFβ seul induit quant à lui une différenciation vers un phénotype Foxp3⁺ Treg. Ces cellules Th17 au contraire des Treg ayant une action suppressive promeuvent la prolifération des cellules T CD4⁺ CD25⁻ [20]. Ceci a donné lieu à l'hypothèse d'une balance Th17/Treg, sur le même schéma que la balance Th1/Th2.

2.1.4. Cellules T Natural Killer (NKT)

Les cellules NKT ont fait l'objet récemment d'une attention soutenue suite à la publication par Akbari et al [21] de la présence de 60 % des cellules T de phénotype NKT dans le lavage bronchoalvéolaire chez le patient atteint d'asthme persistant modéré à sévère. Les cellules NKT co-expriment les antigènes membranaires NK1.1 et TCR reconnaissant les molécules MHC-I-like telles CD1d. Bien que ces études méritent encore confirmation chez l'homme, elles corroborent les études rapportées antérieurement chez la souris déficiente en cellules NKT (*Jα18*^{-/-}) avec une diminution de l'HRB, de l'éosinophilie bronchique et de la production de cytokines IL-4, IL-5, IL-13 lors de provocation allergénique. Ces

manifestations d'asthme étaient restaurées par simple transfert adoptif de cellules NKT de souris sauvage [22]. Par ailleurs, l'activation des cellules NKT par le ligand de CD1d, l'α-galactosylcéramide, est suffisant pour induire une HRB, une éosinophilie bronchique et une production d'IgE dans un modèle IL-4 et IL-13-dépendant [23].

2.1.5. Lymphocytes CD8

Finalement, il semble aussi maintenant que les cellules CD8⁺ semblent avoir un rôle dans l'asthme. Des études utilisant un modèle d'asthme à l'allergène de blatte montre que la déplétion en CD8⁺ chez la souris sensibilisée atténue l'HRB, l'éosinophilie bronchique et la production de cytokines Th2. Ces cellules CD8⁺ issues de souris sensibilisées induisent une HRB dépendante de la production d'IL-4 et IL-13 après transfert chez la souris naïve, avec une synergie lors du transfert CD4⁺ et CD8⁺ [24]. Ainsi, ces données montrent le rôle aussi bien des cellules CD4⁺ que CD8⁺ pour une réponse allergique totale des voies aériennes chez la souris.

2.2. Exemples de modèles pour l'étude des CD

Les CD jouent un rôle essentiel dans le "priming" et la différenciation des cellules T CD4⁺ naïves vers un phénotype Th2 en réaction aux aéro-allergènes. Le rôle pivot de ces cellules a été montré récemment dans la phase d'initiation de l'asthme et de la rhinite allergique dans des modèles murins [4]. L'administration de protéine antigénique telle que l'ovalbumine par inhalation est responsable de tolérance et de la formation de cellules Treg spécifiques de l'allergène avec diminution de l'inflammation [3,4]. Des études récentes mettent en exergue l'importance des sous-types de CD dans le contrôle de la tolérance respiratoire aux antigènes inhalés (pour revue, [25]).

2.2.1. Cellules dendritiques plasmacytoïdes (pCD) et myéloïdes (mCD)

Les cellules pCD et mCD captent l'antigène inhalé dans le ganglion lymphatique médiastinal dans les 24 heures suivant l'inhalation [6,26]. La capture de l'antigène par les CD survient en périphérie de l'épithélium bronchique, et après internalisation de l'antigène, les cellules migrent vers les ganglions médiastinaux [27].

La fonction prédominante des pCDs semble être la régulation de la fonction des mCDs. En absence de cellules pCDs, déplétées du poumon grâce à un anticorps (120G8 ou Ly6C/G), l'inhalation d'OVA induit en absence complète d'alum une forte réponse primaire Th2 sous l'influence des mCDs. Les souris développent alors de l'asthme [6]. Les mécanismes de tolérance sous la dépendance des pCDs ne sont pas compris actuellement. Cependant, les pCDs pourraient jouer un rôle régulateur de la fonction des mCDs par l'intermédiaire d'enzymes ou de protéines sécrétées, ou induire la formation ou l'expansion des cellules Treg [6]. Un concept émergent consiste en une balance entre les deux types de cellules présentatrices d'antigène, mCDs et pCDs, pour le développement d'une tolérance ou d'une réponse immune [26].

2.2.2. CD₄ inducibles de cellules Th2

Les cellules mCDs purifiées du poumon après exposition à l'ovalbumine in vivo sont capables d'induire in vitro l'expansion des cellules T spécifiques de l'antigène [4,6]. Ces CD₄ respiratoires induisent préférentiellement des réponses Th2 [28,29]. Des réponses Th2 peuvent aussi être obtenues grâce à de faibles quantités d'endotoxines présentes dans l'ovalbumine commerciale, permettant une activation des CD₄ par l'intermédiaire de TLR4 et MyD88 sans production d'IL-12, et une sensibilisation Th2-dépendante en absence d'AL(OH)₃ [30]. De plus fortes doses d'endotoxines induisent quant à elles la production d'IL-12 et d'une immunité Th1 et une inflammation neutrophile par les cellules mCDs [31].

Des études récentes utilisant des modèles de sensibilisation par voie inhalée indiquent aussi que les CD₄ sont un point de contrôle focal pour la suppression de l'inflammation des voies aériennes. Les cellules nTReg CD₄⁺CD25⁺ ont en effet la capacité de supprimer la maturation locale des CD₄ d'une façon TGFβ-dépendante, ce qui pourrait être une des voies d'action anti-inflammatoire des cellules TReg [32,33]. Cependant, comment et dans quelles conditions les lymphocytes T régulateurs régulent la fonction des CD₄ et/ou la balance pCD/mCD ne sont pas connus actuellement. Les modèles présentés ci-dessus seront utiles dans l'avenir pour répondre à ces questions.

3. Conclusion

Cette revue présente les modèles animaux ayant permis l'étude du rôle des cellules T et des CD₄ dans la maladie asthmatique. Les questions en suspens sont la cohérence des résultats obtenus dans ces modèles avec la situation clinique. Les limites de chacun des modèles doivent être connues, acceptées et discutées ouvertement ; la pertinence des résultats obtenus dans ces modèles pourra ainsi être questionnée et interprétée sereinement dans la maladie humaine.

Références

- [1] Wegmann M, Goggel R, Sel S, Erb KJ, Kalkbrenner F, Renz H, et al. Effect of a low molecular weight CCR-3 antagonist on chronic experimental asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006;36:61–7.
- [2] Motta A, Van Oosterhout AJM. T cells in asthma: lessons from mouse models. *Drug Discovery Today: disease models* 2006;3:199–204.
- [3] Akbari O, Dekruyff RH, Umetsu DT. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen. *Nat Immunol* 2001;2:725–31.
- [4] Kleinjan A, Willart M, Van Rijt LS, Braunstahl G-J, Leman K, Jung S, et al. An essential role for dendritic cells in human and experimental allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:1117–25.
- [5] Ostroukhova M, Seguin-Devaux C, Oriss TB, Dixon-McCarthy B, Yang L, Ameredes BT, et al. Tolerance induced by inhaled antigen involves CD₄⁺ T cells expressing membrane-bound TGF-β and FOXP3. *J Clin Invest* 2004;114:28–38.
- [6] Lambrecht BN, Pauwels RA, Fazekas De St Groth B. Induction of rapid T cell activation, division, and recirculation by intratracheal injection of dendritic cells in a TCR transgenic model. *J Immunol* 2000;164:2937–46.
- [7] Herz U, Renz H, Wiedermann U. Animal models of type I allergy using recombinant allergens. *Methods* 2004;32:271–80.

- [8] Kheradmand F, Kiss A, Xu J, Lee SH, Kolattukudy PE, Corry DB. A protease-activated pathway underlying Th cell type 2 activation and allergic lung disease. *J Immunol* 2002;169:5904–11.
- [9] Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH, Greenfield EA, Chang TT, Sharpe AH, et al. Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS–ICOS–ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2002;8:1024–32.
- [10] Gavett SH, Chen X, Finkelman F, Wills-Karp M. Depletion of murine CD₄⁺ T lymphocytes prevents antigen-induced airway hyperreactivity and pulmonary eosinophilia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:587–93.
- [11] Coyle AJ, Le Gros G, Bertrand C, Tsuyuki S, Heusser CH, Kopf M, et al. Interleukin-4 is required for the induction of lung Th2 mucosal immunity. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:54–9.
- [12] Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science* 1998;282:2258–61.
- [13] Cohn L, Homer RJ, Marinov A, Rankin J, Bottomly K. Induction of airway mucus production by T helper 2 (Th2) cells: a critical role for interleukin 4 in cell recruitment but not mucus production. *J Exp Med* 1997;186:1737–47.
- [14] Finotto S, Neurath MF, Glickman JN, Qin S, Lehr HA, Green FH, et al. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet. *Science* 2002;295:336–8.
- [15] Hansen G, Berry G, Dekruyff RH, Umetsu DT. Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J Clin Invest* 1999;103:175–83.
- [16] Hessel EM, Van Oosterhout AJ, Van Ark I, Van Esch B, Hofman G, Van Loveren H, et al. Development of airway hyperresponsiveness is dependent on interferon-γ and independent of eosinophil infiltration. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:325–34.
- [17] Kumar RK, Herbert C, Webb DC, Li L, Foster PS. Effects of anticytokine therapy in a mouse model of chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:1043–8.
- [18] Kearley J, Barker JE, Robinson DS, Lloyd CM. Resolution of airway inflammation and hyperreactivity after in vivo transfer of CD₄⁺CD25⁺ regulatory T cells is interleukin 10 dependent. *J Exp Med* 2005;202:1539–47.
- [19] Wilson MS, Taylor MD, Balic A, Finney CA, Lamb JR, Maizels RM. Suppression of allergic airway inflammation by helminth-induced regulatory T cells. *J Exp Med* 2005;202:1199–212.
- [20] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235–8.
- [21] Akbari O, Faul JL, Hoyte EG, Berry GJ, Wahlstrom J, Kronenberg M, et al. CD₄⁺ invariant T-cell-receptor⁺ natural killer T cells in bronchial asthma. *N Engl J Med* 2006;354:1117–29.
- [22] Lisbonne M, Diem S, de Castro Keller FA., Lefort J, Araujo LM, Fourneau JM, et al. Cutting edge: invariant Vα14 NKT cells are required for allergen-induced airway inflammation and hyperreactivity in an experimental asthma model. *J Immunol* 2003;171:1637–41.
- [23] Meyer EH, Goya S, Akbari O, Berry GJ, Savage PB, Kronenberg M, et al. Glycolipid activation of invariant T cell receptor⁺ NK T cells is sufficient to induce airway hyperreactivity independent of conventional CD₄⁺ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:2782–7.
- [24] Schaller MA, Lundy SK, Huffnagle GB, Lukacs NW. CD8⁺ T cell contributions to allergen induced pulmonary inflammation and airway hyperreactivity. *Eur J Immunol* 2005;35:2061–70.
- [25] Lambrecht BN, Kleinjan A. Mouse models of asthma and rhinitis to study the role of dendritic cells in sensitization and development of inflammation. *Drug Discovery Today: disease models* 2006;3:205–11.
- [26] Brimnes MK, Bonifaz L, Steinman RM, T.M.Moran TM. Influenza virus-induced dendritic cell maturation is associated with the induction of strong T cell immunity to a coadministered, normally nonimmunogenic protein. *J Exp Med* 2003;198:133–44.
- [27] Oriss TB, Ostroukhova M, Seguin-Devaux C, Dixon-McCarthy B, Stolz DB, Watkins SC, et al. Dynamics of dendritic cell phenotype and interactions with CD₄⁺ T cells in airway inflammation and tolerance. *J Immunol* 2005;174:854–63.

- [28] Akbari O, Stock P, Meyer E, Kronenberg M, Sidobre S, Nakayama T, et al. Essential role of NKT cells producing IL–4 and IL–13 in the development of allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2003;9:582–8.
- [29] Zhou B, Comeau MR, De Smedt T, Liggitt HD, Dahl ME, Lewis DB, et al. Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice. *Nat Immunol* 2005;6:1047–53.
- [30] Wang YH, Ito T, Wang YH, Homey B, Watanabe N, Martin R, et al. Maintenance and polarization of human TH2 central memory T cells by thymic stromal lymphopoietin-activated dendritic cells. *Immunity* 2006; 24:827–38.
- [31] Mojtavavi N, Dekan G, Stingl G, Epstein MM. Long-lived Th2 memory in experimental allergic asthma. *J Immunol* 2002;169:4788–96.
- [32] Lambrecht BN, Salomon B, Klatzmann D, Pauwels RA. Dendritic cells are required for the development of chronic eosinophilic airway inflammation in response to inhaled antigen in sensitized mice. *J Immunol* 1998;160:4090–7.
- [33] van Rijt LS, Jung S, Kleinjan A, Vos N, Willart M, Duez C, et al. In vivo depletion of lung CD11c⁺ dendritic cells during allergen challenge abrogates the characteristic features of asthma. *J Exp Med* 2005; 201:981–91.