

# Facteurs pré- et périnataux responsables du profil Th1 et Th2

A. MAGNAN, L. MÉLY, S. ROMANET, D. VERVLOET

## RÉSUMÉ

La réaction immuno-allergique est un cas particulier de la réaction inflammatoire où la présentation de l'allergène entraîne une différenciation T2 des lymphocytes T, caractérisée par la production d'IL-4, d'IL-5 et par l'absence de production d'IFN- $\gamma$ . Chez le nouveau-né futur atopique, il existe un déficit de la capacité de production de l'IFN- $\gamma$ , et une augmentation des IgE totales. En revanche, si le sang du cordon ombilical contient des lymphocytes T spécifiques des allergènes rencontrés par la mère, cela est vrai chez l'atopique comme chez le non atopique. La production de cytokines vis-à-vis d'une stimulation par l'allergène n'est pas différente entre atopiques et non atopiques à la naissance, mais se différencie au cours des deux premières années, devenant de type T1 chez le non atopique et T2 chez l'atopique. Les études récentes réalisées chez l'animal ont montré que le système immunitaire du nouveau-né est modulable et que sa capacité de réponse vis-à-vis des stimulations antigéniques est identique à celle de l'adulte. Il résulte de ces données que les stratégies envisageables de prévention primaire s'adressent plus au jeune enfant qu'à sa mère. Elles reposent d'abord sur l'éviction allergénique chez l'enfant à risque génétique. Dans le futur, des stratégies de stimulations du système T1 par des antigènes microbiens ou d'inhibition du système T2 par une immunoprophylaxie spécifique sont évoquées.

MOTS-CLÉS: Allergie. – Asthme. – Th1, Th2. – Nouveau-né. – Atopie.

## SUMMARY

**Antenatal and perinatal actors responsible for the Th1/Th2 profile.** – The immuno-allergic reaction is a particular type of inflammatory reaction in which antigen presentation induces T2 differentiation of T lymphocytes, characterized by IL-4 and IL-5 production without IFN- $\gamma$  production. Future atopic neonates present a deficient IFN- $\gamma$  production capacity and increased total IgE levels. In contrast, although the cord blood contains T lymphocytes specific for the allergens encountered by the mother, this is true for both atopic and non-atopic neonates. Cytokine production in response to allergen stimulation does not differ between atopic and non-atopic neonates at birth, but becomes different during the first two years of life, becoming type T1 in non-atopics and T2 in atopics. Recent animal studies have shown that the neonatal immune system can be modulated and that its capacity of response to antigenic stimulation is identical to that of adults. These data indicate that potential primary prevention strategies should be directed more to young children than to the mother. They are primarily based on allergen avoidance in children with a genetic risk. In the future, strategies of stimulation of the T1 system by microbial antigens or inhibition of the T2 system by specific immunoprophylaxis could be proposed.

KEY-WORDS: Asthma. – Th1/Th2. – Neonate. – Atopy.

Journée Parisienne d'Immuno-Allergologie Infantile, Paris, Samedi 20 novembre 1999.

UPRES 2050. Service de Pneumo-Allergologie, Hôpital Sainte-Marguerite, BP 29, 13274 MARSEILLE Cedex 9.

Tirés à part: Pr A. Magnan, adresse ci-dessus.

MAGNAN A., MÉLY L., ROMANET S., VERVLOET D. – Facteurs pré- et périnataux responsables du profil Th1 et Th2. *Rev. fr. Allergol.*, 1999, 39 (8), 643-648

## INTRODUCTION

L'augmentation de l'incidence au cours des dernières décennies des maladies atopiques dans les pays à niveau de vie élevé est due très largement à l'augmentation de l'atopie elle-même, lorsqu'on la définit par l'existence de sensibilisation aux allergènes de l'environnement établie par la positivité des tests cutanés. De cette constatation, il résulte la nécessité d'identifier quels sont les mécanismes de l'atopie, et quelles sont les possibilités éventuelles de modulation de ce terrain immunologique. Celui-ci est largement déterminé de façon génétique, et de ce point de vue toute modulation est évidemment inenvisageable. Cependant, il semble que d'autres facteurs, intervenant dans le plus jeune âge et même *in utero* soient susceptibles d'exacerber ou au contraire d'inhiber l'expression de l'atopie, en modulant le système immunitaire. Dans cet article, nous n'aborderons pas les caractéristiques du système immunitaire de la femme enceinte, sujet abordé ailleurs dans ce volume. Nous verrons quelles sont les caractéristiques du système immunitaire du nouveau-né futur atopique, quels sont les facteurs susceptibles de moduler ce système dans la période la plus précoce de la vie, et quelles sont les options préventives éventuellement envisageables dans ce cadre.

## LE PARADIGME Th1/Th2 ET L'ALLERGIE

Il est maintenant clairement établi que les réactions allergiques sont la conséquence d'un cas particulier de la réaction inflammatoire, qui chez l'allergique, et en réponse à un allergène, débute par l'activation, lors de la présentation de l'antigène, d'une population de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> particulière appelée Th2 [1]. Ces lymphocytes sont caractérisés par le profil des cytokines qu'ils produisent et aussi par le type de réaction qu'ils entraînent. Schématiquement, les lymphocytes Th2 sont producteurs d'interleukine (IL)-4 et d'IL-5 mais pas d'interféron (IFN)- $\gamma$ . L'IL-4 est la cytokine qui préside à la commutation isotypique des plasmocytes vers la synthèse d'IgE, tandis que l'IL-5 est un facteur majeur d'attraction et d'activation des éosinophiles. Récemment, il a été montré que les lymphocytes Th2 étaient pourvus d'autres caractéristiques et qu'en particulier ils exprimaient le récepteur CCR3 [2], qui est le récepteur à l'éotaxine et à d'autres chimiokines

impliquées dans l'attraction des éosinophiles. Ces caractéristiques opposent les lymphocytes Th2 à une autre population de lymphocytes CD4<sup>+</sup>, les lymphocytes Th1. Ceux-ci sont essentiellement producteurs d'IFN- $\gamma$  et d'IL-2, et n'expriment pas CCR3. Les lymphocytes Th1 et Th2 s'inhibent mutuellement, par l'action de l'IL-4 sur la production d'IFN- $\gamma$  et réciproquement. Ce point est important, car il est responsable du fait qu'au cours d'une réaction inflammatoire, selon le type de lymphocyte T CD4<sup>+</sup> qui sera activé lors de la présentation de l'antigène, il y aura bascule de la réaction dans son ensemble dans un sens ou dans l'autre. On parlera alors d'une réaction de type 1 (T1), caractérisée par une activation Th1 prééminente, et spécialisée dans les mécanismes de phagocytose et de cytotoxicité, ou au contraire d'une réaction de type 2 (T2), dans laquelle les lymphocytes Th2 initieront des mécanismes humoraux avec production d'IgE, ou cellulaires avec activation des éosinophiles. Les études réalisées chez l'animal et chez l'homme au cours des 10 dernières années ont permis de montrer, notamment dans les pathologies de l'atopie (rhinite, dermatite, asthme), que la réaction allergique était bien caractérisée par une activation initiale de lymphocytes Th2. Ainsi l'atopie doit désormais être définie non plus seulement comme une prédisposition à développer une réponse IgE vis-à-vis des allergènes de l'environnement, mais comme une prédisposition à développer une réponse de type 2 vis-à-vis de ces allergènes. Cette définition prend en compte le rôle primordial de l'activation lymphocytaire initiale, et prend en compte aussi l'activation des éosinophiles, qui constitue la clé de la chronicité des maladies de l'atopie. Ce concept est d'autant plus important que les modèles animaux s'accordent pour montrer que l'inhibition de cette activation initiale bloque l'induction des phénomènes inflammatoires médiés par les IgE et les éosinophiles. Il en résulte un intérêt évident en recherche thérapeutique.

## ACTIVATION Th2 ET SYSTÈME IMMUNITAIRE DU FUTUR ATOPIQUE

Les facteurs qui déterminent l'activation Th2 au cours de la réaction inflammatoire de type allergique sont multiples, et interviennent lors de la présentation de l'antigène. Il s'agit de l'antigène lui-même, qui doit être un allergène, du type de cellule présentatrice, de l'haplotype HLA, du type

de corécepteurs engagés entre les cellules présentatrices et les cellules T, et surtout des cytokines déjà présentes lors de la présentation [1]. Ainsi, l'IL-4 est actuellement considérée comme le facteur principal qui détermine la différenciation Th2. La source de cette IL-4 initiatrice est inconnue. Dans certains cas, il pourrait s'agir de petites populations de lymphocytes T hyperréactives et productrices rapidement de grandes quantités d'IL-4, comme les lymphocytes T naturels [3]. Quelle que soit cette source, la présence d'IL-4, et/ou son activité semblent être sous la dépendance de l'IFN- $\gamma$ . En effet de nombreuses publications chez le nouveau né suggèrent que ce soit un déficit initial en IFN- $\gamma$  qui favorise l'orientation par l'IL-4 de la réponse immune dans un sens T2.

Il a été montré chez le nouveau-né futur atopique un déficit de la capacité des lymphocytes T à produire de l'IFN- $\gamma$  en réponse à des stimuli non spécifiques. Ainsi Tang et coll. [4] ont cultivé des cellules mononucléées du cordon ombilical (CBMC) chez 35 nouveau-nés atopiques suivis pendant un an, et ont montré que ceux qui avaient à un an des tests cutanés positifs pour les pneumallergènes produisaient à la naissance moins d'IFN- $\gamma$  que les autres. Martinez et coll. [5] ont pour leur part montré qu'il existait une relation inverse entre la production d'IFN- $\gamma$  par les cellules sanguines mononucléées (PBMC) à 9 mois, mais pas à la naissance, et la présence d'une atopie chez les parents. Cette production d'IFN- $\gamma$  était inversement corrélée avec le nombre de tests cutanés positifs chez les parents. Nous avons montré récemment que ce déficit de production d'IFN- $\gamma$  chez l'atopique persistait à l'âge adulte [6], et qu'il était inversement proportionnel au nombre de tests cutanés positifs des sujets. Ainsi, à la naissance, tout se passe comme si un déficit primitif de la capacité de production d'IFN- $\gamma$  par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> précédait et favorisait l'activation Th2 ultérieure vis-à-vis des pneumallergènes.

Plusieurs auteurs ont suggéré que le processus de sensibilisation spécifique soit initié *in utero*. En effet, on retrouve des lymphocytes T spécifiques des trophallergènes et des pneumallergènes dans le sang du cordon, et ce quels que soient les antécédents familiaux. Jones et coll. [7] ont déterminé que la prolifération des lymphocytes T en réponse aux allergènes apparaissait à la 22<sup>e</sup> semaine de gestation. Ils ont de plus montré que la prolifération en réponse aux allergènes du bouleau était plus élevée lorsque la mère avait été exposée aux pollens de bouleau avant cette date. Cela

montre qu'effectivement la stimulation antigénique spécifique intervient comme une conséquence de l'exposition maternelle. Warner et coll. [8] ont étudié la prolifération cellulaire des cellules circulantes à la naissance chez 34 enfants suivis sur un an. Ils ont montré qu'il existait une relation entre la prolifération en réponse à un allergène majeur du lait, la bêtalactoglobuline, et la présence d'une dermatite atopique avec prick-tests positifs pour les protéines du lait et amélioration des symptômes après éviction du lait. Récemment, Prescott et coll. [9] ont mesuré la production de cytokines dans les surnageants de culture de PBMC à la naissance et tous les six mois jusqu'à l'âge de deux ans. Ils ont montré que tous les enfants, qu'ils aient développé ou non une atopie à deux ans, possédaient à la naissance des cellules spécifiques de la poussière de maison, de Fel d 1 et de l'ovalbumine. A la naissance, le profil de production de cytokines était de type Th2 chez tous les nouveau-nés. La production de cytokines était globalement moins importante chez les futurs atopiques, mais la différence n'était significative que pour l'IL-4. Au fil du temps, la production de cytokines évoluait différemment selon les enfants: les futurs non atopiques présentaient dès l'âge de six mois une production spécifique importante d'IFN- $\gamma$  qui restait stable jusqu'à deux ans, tandis que les futurs atopiques avaient une progression régulière de leur production d'IFN- $\gamma$  qui restait toujours inférieure à celle des non atopiques. En ce qui concerne l'IL-4, sa production spécifique diminuait progressivement chez le non atopique alors qu'elle restait stable ou même augmentait à 18 mois chez l'atopique.

Plusieurs études ont montré qu'il existait une élévation des IgE totales dans le sang du cordon du futur atopique [10], sans que cette élévation n'ait véritablement de valeur prédictive, ni sur les sensibilisations ultérieures, ni surtout sur la survenue de pathologies de l'atopique.

De l'ensemble de ces données, on peut considérer que le nouveau-né futur atopique a un déficit de production d'IFN- $\gamma$  vis-à-vis de stimuli non spécifiques, associé à une élévation des IgE sériques, mais une capacité de réponse aux allergènes qui est peu différente de celle des non atopiques. L'orientation Th2 spécifique n'apparaît en fait que progressivement au cours des deux premières années. Cela est, pour certains, un argument en faveur d'une stratégie de prévention éventuellement intéressante après la naissance mais pas avant [11].

## MODULATION DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DE L'ANIMAL NOUVEAU-NÉ

Trois articles parus ensemble dans *Science* en 1996 se sont intéressés à la réactivité des lymphocytes T du nouveau-né souris, dans le but de mettre en évidence les facteurs responsables des caractéristiques de cette réactivité. Ces travaux s'accordent pour dire que le système immunitaire du nouveau-né n'est pas différent de celui de l'adulte dans sa capacité à réagir vis-à-vis de divers stimuli, mais qu'en fait tout dépend des conditions de la présentation antigénique. Le groupe de Matzinger [12] a ainsi montré dans le premier article que le type de réponse dépendait des cellules présentatrices en présence. Dans le deuxième article, un modèle particulier d'infection virale est développé, où les nouveau-nés meurent tandis que les adultes guérissent grâce à la production d'IFN- $\gamma$  par des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>. Les auteurs ont clairement montré que pour une quantité de virus importante, les nouveau-nés développent une réponse T2 et meurent, tandis que pour une faible dose, ils développent une réponse T1 médiée par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et guérissent. Chez la souris adulte, la forte dose induit la réponse T1 et la guérison. Ces phénomènes sont interprétés comme le résultat d'un rapport entre la quantité de l'inoculum et le nombre de lymphocytes T disponibles. Ceux-ci sont peu nombreux chez le nouveau-né mais savent réagir comme ceux de l'adulte à condition d'être stimulés par un inoculum proportionnel. Dans le troisième article [14], une réaction T2 ou T1 est induite vis-à-vis d'un antigène en fonction de l'utilisation ou non de l'adjuvant complet de Freund.

## MODULATION DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DE L'ENFANT EN PÉRIODE PRÉ- ET PÉRI-NATALE

De ce qui précède, et des données de la littérature concernant le système immunitaire durant la grossesse, qui est un système essentiellement T2 et tolérant [15], il résulte la possibilité éventuelle de moduler le système immunitaire du fœtus puis du nouveau-né dans le but de prévenir les sensibilisations allergiques et les maladies de l'atopie [16].

### Période pré-natale

La présence d'une prolifération de lymphocytes T spécifiques des allergènes dans le sang du cordon suggère que la mère puisse se tenir à

l'écart de ces allergènes durant la grossesse dans le but de prévenir l'apparition de ces cellules spécifiques chez l'enfant à naître. Trois études randomisées ont été publiées sur ce sujet. Une étude a rapporté une diminution de l'incidence de l'eczéma à un an chez des enfants à risque génétique dont la mère avait évité produits laitiers, œufs, viandes et cacahuètes tout au long de la grossesse [17]. Une étude suédoise de 200 enfants a étudié l'éviction des œufs et produits laitiers par la mère après la 28<sup>e</sup> semaine de grossesse [18, 19]. A 18 mois et 5 ans il n'y avait pas d'effet décelable du régime ni sur l'asthme ni sur la dermatite atopique. Enfin une étude californienne au cours de laquelle l'éviction des trophallergènes a été poursuivie chez les enfants jusqu'à l'âge de deux ans a trouvé à un an une diminution de l'incidence de l'atopie, mais pas de l'asthme [20]. A deux ans, il n'y avait pas de différence entre le groupe avec éviction et le groupe sans éviction. Ainsi, l'éviction allergénique chez la mère n'est pas ou peu rentable. Cela est en accord avec le fait que tous les enfants, qu'ils soient atopiques ou non par la suite, possèdent des cellules spécifiques des allergènes à la naissance [9].

### Période périnatale

C'est probablement dans les premiers mois de vie ou au maximum dans les premières années de la vie qu'il est possible de moduler le système immunitaire dans le but de prévenir l'allergie. Il s'agit d'une part d'essayer de limiter la survenue de la réponse T2 spécifique des allergènes et d'autre part d'essayer de stimuler une réponse T1 non spécifique, afin d'empêcher la survenue de cette réponse T2 spécifique.

Pour répondre au premier but, l'éviction allergénique chez le jeune enfant à risque est évidemment souhaitable, les sensibilisations puis les symptômes survenant d'autant plus volontiers que la charge allergénique est importante, comme cela a été montré dans plusieurs études [21]. Le groupe de Wahn a suivi une cohorte de 1 314 nouveau-nés pendant 3 ans et a montré une relation directe entre les quantités d'allergènes Derp1 et Derf1 retrouvées dans les tapis du domicile et la sensibilisation. Une telle relation a également été retrouvée concernant l'allergène majeur du chat (Feld1). La concentration d'allergènes nécessaire pour entraîner une sensibilisation était inférieure dans le groupe des enfants issus de parents atopiques [22]. L'éviction allergénique représente donc la seule stratégie que l'on peut actuellement proposer.

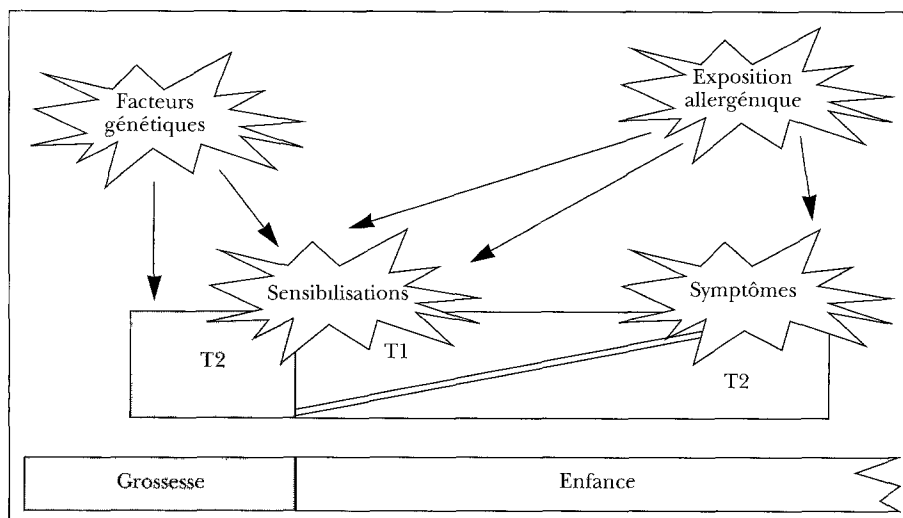


Fig. 1. – Les maladies de l'atopie sont déterminées par la présence de facteurs génétiques et par l'exposition aux allergènes en période prénatale et pendant l'enfance. Ceux-ci entraînent les sensibilisations puis les symptômes de dermatite atopique, d'asthme et de rhinite. Ils agissent en influant sur le système immunitaire de l'atopique. Celui-ci est progressivement orienté chez l'atopique dans un sens T2, aboutissant à la production d'IgE et à l'activation éosinophilique.

La place d'une immunoprophylaxie spécifique par l'allergène lui-même, sur le modèle de la désensibilisation, pourrait se justifier pour certains chez l'enfant à risque [21]. En effet, il est maintenant établi que les mécanismes de la désensibilisation spécifique reposent sur une déviation de la réponse spécifique qui de T2 devient T1 [1]. De plus, on sait que c'est chez l'enfant que la désensibilisation est la plus efficace. Enfin, il est clairement montré chez l'animal qu'en fonction de la dose administrée, du rythme et de la voie d'administration de l'allergène, une réponse T2 peut être réorientée dans un sens T1. Une telle stratégie pourrait utiliser des allergènes recombinants.

Le second but pourrait peut-être être atteint grâce à une stratégie d'exposition à des antigènes microbiens non délétères, dans une sorte de stratégie vaccinale. L'efficacité éventuelle de telles actions est sous-tendue par les résultats des études menées au cours des dernières années qui montrent une relation inverse entre la présence d'une atopie et l'exposition microbienne [23]. Il est également sous-tendu par les études ani-

males ayant montré l'effet protectif vis-à-vis des sensibilisations spécifiques, de l'administration du BCG [24] ou de certaines séquences d'acides nucléiques d'origine procaryotes appelées CpG [25]. Ces molécules d'origine microbienne ont la propriété de stimuler des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, producteurs d'IFN- $\gamma$ . Le danger de telles stratégies serait évidemment de dépasser son but et d'entraîner une réponse à l'origine d'une auto-immunité.

## CONCLUSION

L'atopie du jeune enfant résulte de la conjonction de facteurs génétiques, de facteurs liés au système immunitaire maternel et de facteurs environnementaux divers, agissant de concert pour favoriser une réponse T2 vis-à-vis des allergènes (fig. 1). Parmi les possibilités de modulation du système immunitaire de l'enfant actuellement, seule l'éviction allergénique chez l'enfant à risque génétique est justifiée, en attendant l'élucidation des mécanismes fins de la sensibilisation allergénique.

## RÉFÉRENCES

1. Magnan A., Vervloet D. – Allergies: déterminants de la polarisation Th2 et mécanismes de la désensibilisation. *Rev Mal Respir.* 1997, 14, 173-181.
2. Sallusto F., Mackay C.R., Lanzavecchia A. – Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T helper 2 cells. *Science*, 1997, 277, 2005-2007.
3. Magnan A., Mély L., Camilla C., Montero F., Badier M., Guillot C. et al. – Natural T cells in atopy. Relationships between natural T cells, IL-4 production and total IgE in atopic patients. Soumis pour publication.
4. Tang M.L.K., Kemp A.S., Thorburn J., Hill D.J. – Reduced Interferon- $\gamma$  secretion in neonates and subsequent atopy. *Lancet*, 1994, 344, 983-985.

5. Martinez F.D., Stern D.A., Wright A.L., Holberg C.J., Taussig L.M., Halonen M. – Association of interleukin-2 and interferon- $\gamma$  production by blood mononuclear cells in infancy with parental allergy skin tests and with subsequent development of atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995, 96, 652-660.
6. Magnan A., Mély L., Camilla C., Badier M., Montero F., Guillot C. *et al.* – Assessment of the Th1/Th2 paradigm in whole blood in atopy and asthma. IFN- $\gamma$ -producing CD8<sup>+</sup> T cells in asthma. *Am J Resp Méd (In Press)*.
7. Jones A.C., Miles E.A., Warner J.O., Colwell B.M., Bryant T.N., Warner J.A. – Fetal peripheral blood mononuclear cell proliferative responses to mitogenic and allergenic stimuli during gestation. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 1996, 7, 109-116.
8. Warner J.A., Miles E.A., Jones A.C., Quint D.J., Colwell B.M., Warner J.O. – Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? *Clin Exp Allergy*, 1994, 24, 423-430.
9. Prescott S.L., Macaubas C., Smallacombe T., Holt B.J., Sly P.D., Holt P.G. – Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet*, 1999, 353, 196-200.
10. Arshad S.H., Nanabhay Y. – Early biomarkers of allergic disease in children. *Clin Exp Allergy*, 1999, 29, 576-578.
11. Björkstén B. – Allergy priming in early life. *Lancet*, 1999, 353, 167-168.
12. Ridge J.P., Fuchs E.J., Matzinger P. – Neonatal tolerance revisited: turning on newborn T cells with dendritic cells. *Science*, 1996, 271, 1723-1726.
13. Sarzotti M., Robbins D.S., Hoffman P.M. – Induction of protective CTL responses in newborn mice by a murine retrovirus. *Science*, 1996, 271, 1726-1728.
14. Forsthuber T., Yip H.C., Lehmann P.V. – Induction of Th1 and Th2 immunity in neonatal mice. *Science*, 1996, 271, 1728-1730.
15. Raghupathy R. – Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol Today*, 1997, 18, 478-482.
16. Holt P.G. – Immunoprophylaxis of atopy: light at the end of the tunnel? *Immunol Today*, 1994, 15, 484-489.
17. Chandra R.K., Puri S., Surayia C., Cheema P.S. – Influence of maternal food antigen avoidance during pregnancy and lactation on incidence of atopic eczema in infants. *Clin Allergy*, 1986, 16, 563-571.
18. Falth-Magnusson K., Kjellman N.I.M. – Development of atopic diseases in babies whose mothers were receiving exclusion diet during pregnancy. A randomized study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1987, 80, 869-875.
19. Falth-Magnusson K., Kjellman N.I.M. – Allergy prevention by maternal elimination diet during late pregnancy: a 5 year follow-up of a randomized study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 89, 709-713.
20. Zeiger R.S., Heller S., Mellon M.H., Forsythe A.B., O'Connor R.D., Hamburger R.N., Schatz M. – Effect of combined maternal and infant food-allergen avoidance on development of atopy in early infancy: a randomized study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1989, 84, 72-89.
21. Holt P.G., Sly P.D. – Allergic respiratory disease: strategic targets for primary prevention during childhood. *Thorax*, 1997, 52, 1-4.
22. Wahn U., Lau S., Bergmann R., Kulig M., Forster J., Bergmann K. *et al.* – Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, 99, 763-769.
23. Shirakawa T., Enomoto T., Shimazu S., Hopkin J.M. – The inverse association between tuberculin responses and atopic disorders. *Science*, 1997, 275, 77-79.
24. Herz U., Gerhold K., Gruber C., Braun A., Wahn U., Renz H., Paul K. – BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, 102, 867-874.
25. Spiegelberg H.L., Tighe H., Roman M., Broide D., Raz E. – Inhibition of IgE formation and allergic inflammation by allergen gene immunization and by CpG motif immunostimulatory oligodeoxynucleotides. *Allergy*, 1998, suppl 30, 53, 93-97.

