

Immunothérapie spécifique des allergènes : un modèle unique d'induction de tolérance chez l'homme

Allergen-specific immunotherapy: A unique model of tolerance induction in humans

K. Botturi^{a,b,c}, A. Pipet^{a,b,c}, J. Birnbaum^{d,e}, Y. Lacoëuille^{a,b,c},
D. Vervloet^{d,e}, A. Magnan^{a,*,b,c}

^a Service de pneumologie, institut du Thorax, hôpital G et R Laennec, boulevard Jacques- Monod, 44093 Nantes cedex 1, France

^b Faculté de médecine, université de Nantes, 44000 Nantes, France

^c Plateforme transversale d'allergologie, service de pneumologie, institut du Thorax, CHU de Nantes, 44000 Nantes, France

^d Faculté de médecine, université de la méditerranée, 13005 Marseille, France

^e Service de pneumo-allergologie, Assistance publique-Hôpitaux de Marseille, 13005 Marseille, France

Disponible sur Internet le 27 février 2009

Résumé

Apparue au début du xx^e siècle, l'immunothérapie spécifique des allergènes (ITS) a été largement utilisée dans la rhinite et l'asthme allergique et dans l'allergie au venin d'hyménoptères sans connaître précisément ses mécanismes d'action. Cependant, le développement des outils de l'immunologie moderne a permis de faire d'importantes avancées sur ces mécanismes qui, une fois complètement compris, permettront d'envisager de nouvelles stratégies d'ITS. On considère actuellement que l'ITS modifie la réponse immune vis-à-vis des allergènes en induisant une réorientation de la réaction inflammatoire dans un sens Th1 et T régulateur, avec induction de la production d'IFN-gamma et d'interleukine-10. Cette action s'exerce à la fois au niveau de l'immunité adaptative (cellules T) et de l'immunité innée (cellules présentatrices d'allergène).

© 2009 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Immunothérapie ; Pollen ; Acarien ; Rhinite ; Asthme ; Allergie aux venins d'hyménoptères

Abstract

Appearing at the beginning of the xxth century, allergen-specific immunotherapy (SIT) has long been used in the treatment of allergic rhinitis and asthma and in allergy to hymenoptera venom without precise knowledge of its mechanisms of action. However, the development of modern immunological tools brought important insights into these mechanisms allowing consideration of new strategies for SIT. It is currently understood that SIT modifies the immune response to allergens by reorientating the inflammatory reaction towards Th1 and T-regulatory pathways with induction of IFN-gamma and IL-10. This action is exerted both at the adaptive (T-cell) and at the innate (allergen-presenting cell) levels of immunity.

© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Allergen immunotherapy; Allergic rhinitis; Asthma; Pollen; House dust mite; Hymenoptera venom

1. Introduction

Avec l'éviction, l'immunothérapie spécifique des allergènes (ITS) est le seul traitement disponible capable de modifier l'histoire naturelle de l'allergie. L'ITS est validée pour les

allergies au venin d'hyménoptères et les allergies respiratoires, asthme et rhinite. Depuis sa première utilisation au début du xx^e siècle, ce traitement a largement reçu ses lettres de noblesse, avec la publication de plusieurs méta-analyses, le développement de formes galéniques acceptables et bien tolérées et avec de nombreux travaux démontrant le substratum immunologique de son efficacité [1].

Prévenir une réponse inflammatoire vis-à-vis d'antigènes non dangereux a toujours été un objectif majeur en

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : antoine.magnan@univ-nantes.fr (A. Magnan).

immunologie clinique avec un succès variable en transplantation d'organes ou au cours des maladies auto-immunes et allergiques grâce à l'utilisation de médicaments contrôlant l'inflammation tels que les corticostéroïdes, les inhibiteurs de la calcineurine et plus récemment les anticorps monoclonaux. Cependant, ces substances ne sont pas spécifiques des antigènes ciblés et induisent un état d'immunosuppression indésirable. Elles entraînent aussi des effets secondaires non immunologiques. Dans le domaine de l'allergie cependant, l'ITS conduit le système immunitaire à tolérer les allergènes sans ce type de médicament et sur le long terme. Cette immunomodulation spécifique des allergènes est un outil unique et inestimable pour comprendre non seulement le traitement qu'elle est mais aussi la maladie qu'elle soigne.

L'allergie est actuellement considérée comme un cas particulier de la réaction inflammatoire où l'antigène est un allergène et l'hôte un sujet allergique. Parce que c'est un allergène pénétrant dans un organisme allergique, la présentation antigénique entraîne une différenciation Th2 des cellules T spécifiques (Fig. 1). Schématiquement, les cellules Th2, déclenchent la synthèse des IgE en produisant IL-4 et IL-13 et attirent et activent les polynucléaires éosinophiles en produisant de l'IL-5. Les IgE se fixent ensuite à leurs récepteurs de haute affinité (FcεRI) exprimés par les cellules effectrices telles que les polynucléaires basophiles et les mastocytes et en cas d'exposition continue ou de nouvelle exposition à l'allergène, elles induisent la dégranulation de ces cellules, la libération d'histamine et de leucotriènes et la phase précoce de la réaction allergique de type I. En parallèle, en présence de l'allergène, les IgE se fixent sur les cellules B et autres cellules présentatrices de l'antigène via leurs récepteurs de faible affinité, CD23. Les éosinophiles de par leur production de protéines basiques, toxiques pour les épithéliums, organisent la phase tardive et la réaction allergique chronique. L'ITS agit à chaque étape de la réaction allergique :

- au niveau de la production d'IgE et d'IgG ;
- de l'attraction des mastocytes et des éosinophiles ;
- de l'activation des cellules T ;
- de la présentation allergénique (Fig. 1).

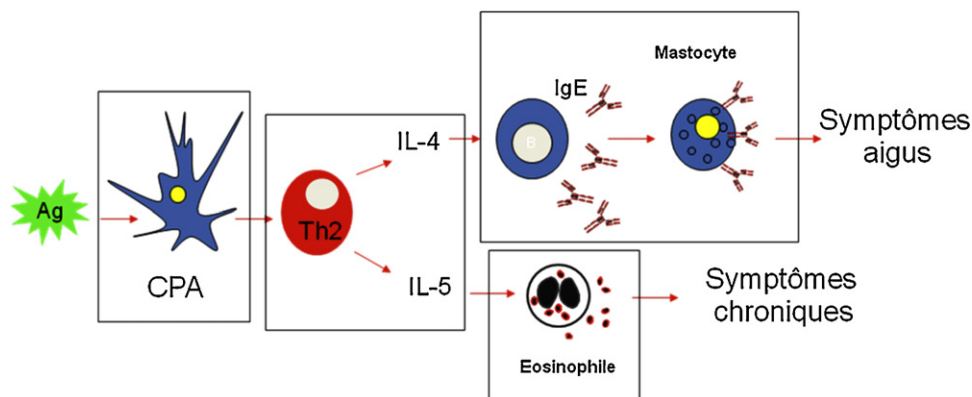


Fig. 1. La présentation de l'allergène chez l'allergique aboutit à une différenciation Th2 des lymphocytes T, entraînant à son tour la réaction inflammatoire médiée par les mastocytes et les éosinophiles. L'immunothérapie spécifique agit à la fois sur les cellules présentatrices d'allergènes, les lymphocytes T, les plasmocytes et les mastocytes et les éosinophiles pour prévenir les symptômes (encadrés : différents niveaux d'action de l'immunothérapie spécifique). Ag : allergène ; CPA : cellule présentatrice d'allergène.

2. Action de l'ITS sur la production d'immunoglobulines

L'élévation des IgG durant l'ITS, notamment des IgG4, fut décrite il y a longtemps [2,3] et confirmée plus récemment [4]. Bien qu'elles puissent aussi être impliquées dans les réactions allergiques, les IgG4 sont largement considérées comme des anticorps bloquants qui empêchent l'allergène de se fixer aux IgE spécifiques fixées à la surface des cellules effectrices et des cellules présentatrices d'antigène via le FcεRI ou le CD23. Notamment, les anticorps bloquants en empêchant la liaison des IgE sur les cellules B via le CD23 diminuent la capacité de ces cellules à présenter l'allergène aux cellules T spécifiques. En effet, on a démontré une diminution importante de la liaison des IgE aux cellules B sous l'action de l'ITS comparée au placebo au cours de l'allergie au pollen de graminées [6]. Plus récemment, un parallèle entre l'inhibition de la réponse cutanée précoce et la libération d'histamine, la liaison aux cellules B des IgG et l'augmentation des IgG4 a été démontré [7]. Une autre hypothèse pour l'action des IgG4 au cours de l'ITS est l'engagement préférentiel de l'isoforme B du récepteur de faible affinité aux IgG (FcγRIIB) par des complexes IgG4-allergène sur les mastocytes qui induirait un signal de désactivation par la phosphorylation de motifs inhibiteurs (*immunoreceptor-based inhibition motifs* [ITIM]), activant des phosphatases intracellulaires contrebalançant l'effet des motifs activateurs (*immunoreceptor-based activation motifs* [ITAM]) présents dans la région intracellulaire du FcεRIγ [8].

3. Action de l'ITS sur l'attraction des éosinophiles et des mastocytes

Une diminution de l'infiltration tissulaire par les éosinophiles a été démontrée au cours de l'immunothérapie sublinguale aux acariens [9]. Dans cette étude, l'infiltration conjonctivale par les éosinophiles après challenge intraoculaire était diminuée dans le groupe traité mais pas dans le groupe placebo. De façon importante après deux ans de traitement, la diminution d'infiltration de la conjonctive par les éosinophiles dans le groupe traité était trouvée avant même tout challenge.

Au cours de l'ITS sous-cutanée aux graminées, une inhibition de la migration des éosinophiles dans la muqueuse nasale après stimulation spécifique *in situ* [10] a été démontrée.

Concernant les mastocytes, indépendamment de l'effet lié à la modification de la balance IgE/IgG4, une diminution de l'infiltration de la muqueuse nasale par des cellules exprimant c-kit a été montrée au cours de l'ITS aux graminées par rapport à un groupe placebo [11].

4. Action de l'ITS sur l'activation T

C'est dans le domaine de l'activation des lymphocytes T que la plupart des études portant sur le mécanisme d'action de l'ITS ont été publiées au cours des 15 dernières années. Après la découverte du modèle Th2 au début des années 1990, il a été postulé que l'ITS était capable d'induire une réorientation de l'activation Th2 dans un sens Th1 inhibant ainsi l'activation des éosinophiles et des cellules T et réorientant la synthèse des immunoglobulines des IgE vers les IgG4. En effet, Secrist et al. ont démontré dans le sang que la stimulation par l'allergène *ex vivo* induisait la production d'IL-4 chez des patients non traités et d'IFN- γ chez des patients désensibilisés aux acariens ou aux graminées [12]. De la même façon, une augmentation des cellules T productrices d'IFN- γ a été observée en réponse à des stimulations allergéniques réalisées chez des sujets rhinitiques traités [13].

L'allergie au venin d'hyménoptères offre un modèle idéal d'étude des mécanismes de l'ITS. En effet, les patients allergiques au venin éligibles à l'ITS constituent un groupe homogène de patients qui ont tous présenté des réactions allergiques généralisées lors d'une exposition unique à l'allergène. De plus, en étant habituellement non atopiques, le système immunitaire de ces patients ne répond pas à d'autres allergènes au cours du traitement, de sorte que l'effet de l'ITS sur les cellules T est plus facile à identifier. Enfin, l'ITS est considérée comme régulièrement efficace chez ces malades, ce qui renforce la fiabilité de ce modèle expérimental. La réorientation Th2/Th1 a été rapportée d'abord dans ce modèle [14]. Cependant, dans l'allergie au venin d'abeilles, la stimulation *ex vivo* des cellules T par la PLA2, l'allergène principal du venin d'abeille, induit une extinction de la production des cytokines Th2 mais aussi Th1 chez les patients traités. En revanche, une augmentation importante de la production d'IL-10 est observée dans ces conditions [5,15]. L'IL-10 est une cytokine immunosuppressive, bien connue pour être impliquée dans l'induction et le maintien de tolérance. C'est cependant seulement au début des années 2000 que les cellules T régulatrices (Treg) ont été identifiées comme faisant partie des cellules productrices d'IL-10 au cours de l'ITS. Les Treg représentent de petites populations de lymphocytes T capables de produire de l'IL-10 et/ou du TGF- β , une autre cytokine immunosuppressive. Parmi les Treg, la population exprimant à la fois CD4 et CD25 à un haut niveau ainsi que le facteur de transcription Foxp3 est la population la plus étudiée à ce jour. Plusieurs articles publiés au cours des dernières années suggèrent qu'un déficit en ces cellules puisse être responsable des maladies allergiques et inflammatoires.

Il serait cependant probablement excessif de considérer le déficit en Treg comme le *primum movens* de l'allergie chez tous les malades : ce déficit peut aussi être la conséquence de l'inflammation et la pertinence de Foxp3 comme signature de leur effet régulateur est controversée [16]. Néanmoins, les cellules CD4 + CD25 + ont été montrées comme diminuées et d'activité altérée dans l'allergie aux pollens de graminées [17] et de bouleau et dans l'allergie aux acariens [18]. Au cours de l'ITS aux graminées [19] et au venin [20], une augmentation de l'activation des Treg a été démontrée. Nous avons montré par ailleurs une augmentation progressive de la proportion de cellules T CD4 + CD25^{high} et de cellules productrices d'IL-10 au cours de l'ITS au venin de guêpe avec en parallèle une déviation Th2/Th1. Cet effet de l'ITS était détectable de façon précoce, dès six heures après la première injection. De façon importante, les résultats n'étaient pas les mêmes chez les patients ayant eu une réaction généralisée avec choc presque mortel par rapport aux malades ayant développé une urticaire généralisée lors de la piqure d'insecte. Chez ces derniers, une augmentation plus précoce des Treg était observée, associée à une ascension plus marquée des cellules positives pour l'IL-10 et pour l'IFN- γ [21]. Récemment, nous avons montré qu'au cours de l'ITS au venin d'abeilles, les réactions allergiques induites par le traitement lui-même étaient en rapport avec une absence de cellules Treg et de cellules productrices d'IL-10 et une absence de déviation Th2/Th1. Ces résultats font du suivi de l'activation T au cours de l'ITS un biomarqueur potentiel de la réalité de l'induction de tolérance (Botturi, en préparation) et un guide de l'administration du traitement. En effet, on peut proposer que chez les patients chez lesquels l'augmentation attendue des Treg ne se produit pas, on puisse ralentir la progression des doses injectées et ainsi éviter les réactions allergiques indésirables.

Dans l'allergie au pollen de graminées, une augmentation des cellules exprimant l'IL-10 a été retrouvée dans la muqueuse nasale en réponse à une stimulation spécifique par l'allergène chez des patients traités par rapport à un groupe placebo [5]. De façon intéressante, l'augmentation de la production d'IL-10 était parallèle à la décroissance de la réaction tardive cutanée [7]. Enfin, un afflux de cellules Fox p 3 + CD4 + CD25 + T a été démontré dans la muqueuse nasale après ITS [22] de même que des cellules TGF- β + [23]. Notons que la production d'IL-10 au cours de l'ITS n'est pas limitée aux cellules T. En effet, celle-ci a également été démontrée par les lymphocytes B et les monocytes au cours de l'ITS au venin d'abeilles [15] et dans les macrophages au cours de l'ITS pour rhinite saisonnière [5].

Peu d'études ont concerné les mécanismes de l'ITS sublinguale mais les publications récentes suggèrent que ce sont les mêmes que dans l'ITS sous-cutanée. Ainsi dans l'allergie au pollen de bouleau, Bohle et al. ont détecté une augmentation des cellules CD4 + CD25+ circulantes et de l'expression des gènes de l'IL-10 et de Foxp3 dès la quatrième semaine de traitement par voie sublinguale [24].

À propos de l'action de l'ITS sur l'activation T, il faut encore dire que [1] l'induction des cellules Treg a été détectée dès 1980 dans un article démontrant l'existence d'une population T chez

les patients désensibilisés qui inhibait la prolifération des cellules T spécifiques de l'allergène [25] et [2] que presque toute la littérature concerne la voie injectable.

5. Action de l'ITS sur l'immunité innée

Au-delà des cellules T, l'ITS agit sur les cellules présentatrices de l'allergène elles-mêmes. Cela est important car cette action prouve de facto un rôle de l'ITS non spécifique de l'allergène. Cet effet pouvait être suspecté en considérant le nombre de cellules impliquées soit dans l'augmentation des Treg, soit lors de la réorientation Th2/Th1. En effet ce nombre est trop important pour que toutes les cellules impliquées soient toutes spécifiques de l'allergène et la plupart de ces cellules sont probablement des cellules T *bystander* ou « spectatrices » non spécifiques. Cette possible implication des cellules T *bystander* [26] pourrait rendre compte des effets connus de l'ITS sur l'histoire naturelle de l'allergie, notamment sur la survenue de nouvelles sensibilisations [27].

L'ITS est administrée sous la forme d'extraits purifiés et standardisés qui contiennent les allergènes accompagnés de composants non protéiques capables de se lier aux récepteurs *toll-like* (TLR), présents à la surface des cellules présentatrices d'antigène professionnelles et non professionnelles (cellules épithéliales, cellules B, cellules endothéliales...). Ces motifs, appelés *pathogen-associated motifs* (PAMPS) comprennent de petites séquences d'acides nucléiques telles que des ARN simples ou doubles brin, des séquences CpG, des saccharides ou des lipopolysaccharides. La liaison de ces PAMPS aux TLR induit la différenciation des cellules présentatrices en cellules capables d'organiser l'orientation des lymphocytes T en un type ou un autre, indépendamment de la nature de l'antigène proprement dit [28]. Il est probable que durant l'ITS, les PAMPS associés aux allergènes mais aussi associés à d'autres protéines présentes dans l'extrait, orientent les cellules présentatrices vers un profil pro-Th1 ou pro-Treg participant ainsi à l'effet vaccinal induit par l'ITS. Il est également possible qu'en raison de la voie et du rythme d'administration et de la dose d'allergène utilisée, la cellule présentatrice se conduise d'une façon différente que lors de l'exposition naturelle à l'allergène et ainsi oriente les cellules T dans un sens protecteur. Au-delà de ces suppositions, plusieurs études ont démontré l'effet de l'ITS sur l'immunité innée. Lors de l'ITS au venin, Akoum et al. ont montré que la diminution de la production d'IL-4 par les cellules T lors du traitement n'était retrouvée que lors de la stimulation ex vivo des cellules par l'allergène, alors que l'augmentation de la production d'IFN- γ était elle visible même en l'absence de cette stimulation spécifique ex vivo [29]. Dans le même modèle, nous avons rapporté une augmentation de l'IL-12, une cytokine connue pour induire une différenciation Th1 des lymphocytes T, par les monocytes circulants [30]. Dans la muqueuse nasale, l'ITS induit l'afflux de cellules productrices d'IL-12 lors d'une stimulation allergénique in situ [31]. Cet effet non spécifique de l'immunothérapie spécifique est probablement important et remet en question l'utilisation d'allergènes recombinants pour l'immunothérapie, à moins qu'ils ne soient couplés à des

adjuvants non spécifiques comme les PAMPS [32]. L'effet de l'ITS sur les cellules appartenant à l'immunité innée ne se limite pas à la production d'IL-12. En effet, plusieurs travaux démontrent clairement la production d'IL-10 par les monocytes ou les macrophages chez les patients traités [5,15].

En ce qui concerne la voie sublinguale, une étude récente a montré que l'utilisation d'un agoniste de TLR2, capable de déclencher la production d'IL-10 et d'IL-12 par les cellules dendritiques, augmentait l'effet de l'ovalbumine administrée par voie sublinguale dans un modèle d'immunothérapie à l'ovalbumine. [33]. Une stratégie analogue a déjà été utilisée chez l'homme en couplant de façon covalente un agoniste de TLR9, en l'occurrence des séquences CpG à Amb A 1, une forme recombinante de l'allergène majeur d'ambrosia. Un effet prolongé sur les symptômes de rhinite a été obtenu par une injection hebdomadaire de ce composé durant la saison pollinique [31].

6. Conclusion

La compréhension des mécanismes de l'ITS a considérablement progressé au cours des 20 dernières années, en parallèle avec celle de l'allergie elle-même. Depuis peu, on commence à comprendre comment opère l'ITS par voie sublinguale mais les travaux restent balbutiants. La connaissance fine des mécanismes d'induction de tolérance chez l'homme permet en elle-même d'acquérir des connaissances sur les mécanismes de l'allergie en particulier et de l'inflammation en général. De plus, l'analyse des cellules en cause et de leurs médiateurs donne des pistes de recherche pour améliorer les stratégies actuelles de traitement, en développer de nouvelles et envisager une vaccination antiallergique plus globale, non nécessairement spécifique d'un allergène donné. C'est réaffirmer ici la nécessité de poursuivre les travaux d'immunologie dans le domaine de l'ITS.

Remerciements

Les travaux d'Antoine Magnan sont soutenus par la Société française d'allergologie, la Société de pneumologie de langue française, la fondation recherche médicale et la région pays de La Loire.

Références

- [1] Pipet A, Botturi K, Pinot D, Vervloet D, Magnan A. Allergen specific immunotherapy in allergic rhinitis and asthma. Mechanisms and proof of efficacy. *Respir Med* 2009, sous presse.
- [2] Cooke R, Barnard J, Helbald S, Stull A. Serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever). *J Exp Med* 1935;62:733–50.
- [3] Lichtenstein LM, Norman PS, Winkenwerder WL, Osler AG. In vitro studies of human ragweed allergy: changes in cellular and humoral activity associated with specific desensitization. *J Clin Invest* 1966;45: 1126–36.
- [4] Wachholz PA, Soni NK, Till SJ, Durham SR. Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:915–22.

- [5] Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, Jacobson MR, Walker SM, Wilcock LK, et al. Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *J Immunol* 2004;172:3252–9.
- [6] van Neerven RJ, Wikborg T, Lund G, Jacobsen B, Brinch-Nielsen A, Arnved J, et al. Blocking antibodies induced by specific allergy vaccination prevent the activation of CD4+ T cells by inhibiting serum-IgE-facilitated allergen presentation. *J Immunol* 1999;163:2944–52.
- [7] Francis JN, James LK, Paraskevopoulos G, Wong C, Calderon MA, Durham SR, et al. Grass pollen immunotherapy: IL-10 induction and suppression of late responses precedes IgG4 inhibitory antibody activity. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1120–5. e2.
- [8] Daeron M, Malbec O, Latour S, Arock M, Fridman WH. Regulation of high-affinity IgE receptor-mediated mast cell activation by murine low-affinity IgG receptors. *J Clin Invest* 1995;95:577–85.
- [9] Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, Riccio A, Pronzato C, Mela GS, et al. Randomised controlled-trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998;351:629–32.
- [10] Wilson DR, Nouri-Aria KT, Walker SM, Pajno GB, O'Brien F, Jacobson MR, et al. Grass pollen immunotherapy: symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:971–6.
- [11] Nouri-Aria KT, Pilette C, Jacobson MR, Watanabe H, Durham SR. IL-9 and c-Kit+ mast cells in allergic rhinitis during seasonal allergen exposure: effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:73–9.
- [12] Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, Marshall JD, Umetsu DT. Allergen immunotherapy decreases interleukin-4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. *J Exp Med* 1993;178:2123–30.
- [13] Durham SR, Ying S, Varney VA, Jacobson MR, Sudderick RM, Mackay IS, et al. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1356–65.
- [14] Jutel M, Pichler WJ, Skrbic D, Urwyler A, Dahinden C, Muller UR. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN-gamma secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. *J Immunol* 1995;154:4187–94.
- [15] Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuthrich B, Blaser K. Role of interleukin-10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98–106.
- [16] Tran DQ, Ramsey H, Shevach EM. Induction of FOXP3 expression in naive human CD4+FOXP3 T cells by T-cell receptor stimulation is transforming growth factor-beta dependent but does not confer a regulatory phenotype. *Blood* 2007;110:2983–90.
- [17] Ling EM, Smith T, Nguyen XD, Pridgeon C, Dallman M, Arbery J, et al. Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004;363:608–15.
- [18] Akdis M, Verhagen J, Taylor A, Karamloo F, Karagiannidis C, Cramer R, et al. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T-regulatory-1 and T-helper-2 cells. *J Exp Med* 2004;199:1567–75.
- [19] Francis JN, Till SJ, Durham SR. Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1255–61.
- [20] Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszczyk M, Blaser K, et al. IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T-cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003;33:1205–14.
- [21] Mamessier E, Birnbaum J, Dupuy P, Vervloet D, Magnan A. Ultra-rush VIT induces differential T-cell activation and regulatory patterns according to the severity of allergy. *Clin Exp Allergy* 2006;36:704–13.
- [22] Radulovic S, Jacobson MR, Durham SR, Nouri-Aria KT. Grass pollen immunotherapy induces Foxp3-expressing CD4(+)CD25(+) cells in the nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1467–72.
- [23] Pilette C, Nouri-Aria KT, Jacobson MR, Wilcock LK, Detry B, Walker SM, et al. Grass pollen immunotherapy induces an allergen-specific IgA2 antibody response associated with mucosal TGF-beta expression. *J Immunol* 2007;178:4658–66.
- [24] Bohle B, Kinaciyan 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;120:707–13.
- [25] Rocklin RE, Sheffer AL, Greineder DK, Melmon KL. Generation of antigen-specific suppressor cells during allergy desensitization. *N Engl J Med* 1980;302:1213–9.
- [26] Botturi K, Vervloet D, Magnan A. T cells and allergens relationships: are they that specific? *Clin Exp Allergy* 2007;37:1121–3.
- [27] Des Roches A, Paradis L, Menardo JL, Bouges S, Daures JP, Bousquet J. Immunotherapy with a standardized dermatophagoides pteronyssinus extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:450–3.
- [28] Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol* 2008;8:193–204.
- [29] Akoum H, Tsiopoulos A, Vorng H, Wallaert B, Dessaint JP, Joseph M, et al. Venom immunotherapy modulates interleukin-4 and interferon-gamma messenger RNA expression of peripheral T-lymphocytes. *Immunology* 1996;87:593–830.
- [30] Magnan A, Marin V, Mely L, Birnbaum J, Romanet S, Bongrand P, et al. Venom immunotherapy induces monocyte activation. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1303–9.
- [31] Hamid Q, Naseer T, Minshall EM, Song YL, Boguniewicz M, Leung DY. In vivo expression of IL-12 and IL-13 in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:225–31.
- [32] Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, Balcer-Whaley SL, Khattignavong AP, Lindblad R, et al. Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med* 2006;355:1445–55.
- [33] Lombardi V, Van Overtvelt L, Horiot S, Moussu H, Chabre H, Louise A, et al. Toll-like receptor 2 agonist Pam3CSK4 enhances the induction of antigen-specific tolerance via the sublingual route. *Clin Exp Allergy* 2008.