HAL
open science

L'immunothérapie allergénique : vers de nouvelles approches thérapeutiques

Alice Montoyo

To cite this version:

Alice Montoyo. L'immunothérapie allergénique : vers de nouvelles approches thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01532499

HAL Id: dumas-01532499

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01532499v1

Submitted on 2 Jun 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2017 N° 40

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par MONTOYO Alice

Née le 06 juillet 1990 à La Rochelle

Le 18 mai 2017 à Bordeaux

L'immunothérapie allergénique

Vers de nouvelles approches thérapeutiques

Thèse dirigée par Mme Maria MAMANI MATSUDA

Jury

M. Thierry Noël, Docteur en Pharmacie – Président du jury

Mme Jacqueline DULIN, Docteur en Pharmacie

Mme Fabienne LUCCHESE, Docteur en Pharmacie

Mme Maria MAMANI MATSUDA, MCU, PhD en Immunologie

Remerciements

À Madame Maria Mamani Matsuda qui fut ma directrice de thèse, je souhaite vous exprimer l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance pour m'avoir permis de réaliser ce travail. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre aide et votre soutien tout au long de l'écriture de cette thèse.

À monsieur Thierry Noël, qui accepta de présider mon jury de thèse et aux autres membres du jury, Mesdames Jacqueline Dulin et Fabienne Lucchese, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

À mes chers parents et en particulier à ma mère pour son soutien indéfectible tout au long de mes études de pharmacie et encore aujourd'hui, je ne cesserai de te remercier.

Aux autres membres de ma famille : mon frère, mes grands-parents et ma grand-mère Monique. Je vous remercie tous chaleureusement pour votre affection et vos encouragements.

À mes amis, ceux de pharmacie, du master 2 et tous les autres, je vous remercie du fond du cœur pour votre soutien tout au long de ces études.

À monsieur et madame Cynober, pour m'avoir « adoptée » durant mon master 2, soutenue et encouragée à l'écriture de cette thèse. Ça y est monsieur Cynober, elle est belle est bien écrite! Merci aussi en particulier à Françoise pour la relecture orthographique.

A Tim, avec qui j'espère continuer à rêver et à voyager, encore longtemps.

Table des matières

REMERCIEMENTS 3
TABLE DES MATIERES 4
INDEX DES FIGURES 7
INDEX DES TABLEAUX 8
LISTE DES ABREVIATIONS 9
1 INTRODUCTION 11
2 CONTEXTE: L'ALLERGIE ET LES ALLERGENES 12
2.1 L'allergie 13
2.2 L'hypersensibilité de type I 16
2.2.1 Etiologie 16
2.2.2 Mécanismes d'action 17
2.2.2.1 Les IgE 17
2.2.2.2 Phase de sensibilisation 18
2.2.2.3 Phase effectrice 20
2.2.2.3.1 Phase immédiate 20
2.2.2.3.2 Phase retardée 23
2.3 Les allergènes 24
2.3.1 Définition et généralités 24
2.3.2 Les voies de pénétration des allergènes 26
2.3.3 Les allergies croisées 26
2.4 Manifestions cliniques de l'hypersensibilité de type I 27
2.4.1 L'anaphylaxie systémique et chocs anaphylactiques 27
2.4.2 La rhinite allergique 28
2.4.3 L'asthme allergique 28
2.4.4 La dermatite atopique 29
2.4.5 Les allergies alimentaires 29
2.5 Diagnostic de l'hypersensibilité de type I 30
3 L'IMMUNOTHERAPIE ALLERGENIQUE 31
3.1 Définition 31
3.2 Voies d'administration 31
3.3 Indications et contre-indications 31
3.4 Conduite du traitement 33
3.5 Efficacité et sécurité 34
3.5.1 Efficacité 34
3.5.2 Sécurité 34
3.5.2.1 Traitements SLIT 34
3.5.2.2 Traitements SCIT 35

3.6 Production et standardisation des allergènes ... 35
3.7 Statut réglementaire actuel : une médecine personnalisée ... 36
3.8 Mécanismes d'action connus ... 37
3.8.1 Rôles des cellules dendritiques et effet de l'immunothérapie ... 38
3.8.2 Effet de l'immunothérapie sur les LT ... 39
3.8.2.1 Effet de l'immunothérapie sur les LTh CD4+ ... 39
3.8.2.1 Effet de l'immunothérapie sur les LTrég ... 40
3.8.3 Effet de l'immunothérapie sur la réponse humorale ... 45
3.8.1 Effet de l'immunothérapie allergénique sur les mastocytes, les basophiles, les éosinophiles, les neutrophiles et les monocytes ... 46
4 NOUVELLES APPROCHES THERAPEUTIQUES ... 49
4.1 Les exigences pour l'amélioration des vaccins allergéniques ... 49
4.2 Cibler les LT et éviter les réactions médiées par les IgE ... 52
4.3 Modification des extraits allergéniques ... 55
4.3.1 Allergènes modifiés chimiquement ... 55
4.3.2 Allergènes recombinants hypoallergéniques ... 56
4.3.2.1 Principes généraux de la synthèse des protéines recombinantes ... 56
4.3.2.2 Intérêts en immunothérapie allergénique ... 58
4.3.2.3 Dérivés modifiés d'allergènes recombinants ou hypoallergènes ... 59
4.3.2.3.1 Fragments et oligomères d'allergènes ... 60
4.3.2.3.2 Isoformes hypoallergéniques d'allergènes recombinants ... 60
4.3.2.3.3 Protéines allergéniques de fusion ... 61
4.3.2.3.4 Allergènes recombinants modifiés par mutation ... 61
4.3.2.3.5 Peptides allergéniques ... 62
4.4 Allergènes couplés à des adjuvants ... 66
4.4.1 Les adjuvants immunostimulants ... 67
4.4.2 Les systèmes vectoriels ... 68
4.4.3 Allergènes fusionnés avec des agents modifiant la réponse immunitaire ... 69
4.5 Les nouvelles voies d'administration ... 70
4.5.1 Une voie injectable : l'immunothérapie intralymphatique ... 70
4.5.2 Les voies non injectables ... 71
4.5.2.1 L'immunothérapie épicutanée ou transcutanée ... 71
4.5.2.2 L'immunothérapie orale ... 73
4.5.2.3 L'immunothérapie locale nasale ou intranasale ... 74
4.6 Vaccins à ADN ... 76
4.7 Les biomarqueurs de l'immunothérapie allergénique ... 79
4.7.1 Définition et généralités sur les biomarqueurs ... 79
4.7.1.1 Définition ... 79
4.7.1.2 Caractéristiques idéales d'un biomarqueur lié à une thérapie. ... 80
4.7.1.3 Sources et développement de biomarqueurs ... 81
4.7.1.4 Intérêt des biomarqueurs dans le développement d'un traitement ... 81

4.7.1.5 Contexte réglementaire 82
4.7.1.6 Biomarqueurs de la réponse à l'ITA 82
4.7.1.6.1 Challenges pour l'identification de biomarqueurs pour l'ITA 82
4.7.1.6.2 Biomarqueurs prédictif de l'efficacité de l'ITA 82
4.7.1.6.1 Biomarqueurs de suivi de l'efficacité à court terme et à long terme 83
5 CONCLUSION 85
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 87
ANNEXES 99

Index des figures

Figure 1. Mécanisme immunologiques des quatre réactions d'hypersensibilité (adapté de [9]). 15
Figure 2. Allergie de type I, mécanismes immunitaires humoraux et cellulaires lors de la phase de sensibilisation (adapté de [29]). 20
Figure 3. Allergie de type I, phase immédiate (adapté de [32]). 21
Figure 4. Allergie de type I, phase retardée (adapté de [32]). 24
Figure 5. Indications de l'ITA dans la rhinite allergique (d'après [3]). 32
Figure 6. Indications de l'ITA dans l'asthme allergique (d'après [75]). 33
Figure 7. Les principaux corécepteurs des LTrég impliqués dans l'induction de la tolérance immunitaire périphérique. 41
Figure 8. Rôle des LTrég dans le contrôle de l'allergie (adapté de [29]). 45
Figure 9. Effets de l'immunothérapie allergénique sur les paramètres immunologiques et cliniques de l'allergie. 48
Figure 10. Exigences pour l'amélioration des vaccins allergéniques. 50
Figure 11. Allergénicité vs Immunogénicité. 53
Figure 12. Schéma d'obtention d'un allergène recombinant (adapté de [80]). 57
Figure 13. Les différents vaccins hypoallergéniques (d'après [141]). 59
Figure 14. Reconnaissance de l'allergène par les cellules T et les IgE (d'après[133]). 63
Figure 15. Schéma du développement d'une protéine de fusion basée sur les épitopes B de l'allergène (d'après [153]). 66
Figure 16. Couplage de l'allergène Der p 1 avec la protéine recombinante du bactériophage Qβ. 68
Figure 17. Mécanisme de la protéine de fusion couplée au fragment Fcγ humain (d'après [164]). 69
Figure 18. Les principaux composants du patch Viaskin®. [178] 73
Figure 19. Principe général des vaccins ADN, cas du vaccin LAMP-VAX™ (d'après [190]). 77

Index des tableaux

Tableau 1. Fonctions des médiateurs libérés lors de la réaction allergique. 22
Tableau 2. Principaux allergènes (adapté de [19]). 25
Tableau 3. Caractéristiques des différentes populations de LTrég (non exhaustif), (adapté de [29] [106]). 42
Tableau 4. Fonctions de l'IL-10 et du TGF- β (adapté de [106] [108] [109] [110] [111]). 44
Tableau 5. Nouvelles approches de vaccins impliquant la modification des extraits allergéniques et le couplage avec des adjuvants (d'après[28]). 54
Tableau 6. Les différents types de biomarqueurs (d'après[197]). 80
Tableau 7. Intérêts du développement de biomarqueurs dans le cycle de vie du médicament (d'après[198]) 81

Liste des abréviations

AAV	*Adeno-associated virus*	**ICOS-L**	*Inducible costimulator ligand*
ADCC	*Antibody dependent cell-mediated toxicity*	**IDO**	Indoleamine 2,3 dioxydase
ADN	Acide désoxiribonucléique	**IFN**	Interféron
AMM	Autorisation de mise sur le marché	**Ig**	Immunoglobuline
ANSM	Agence nationale de la santé et du médicament	**IL**	Interleukine
APSI	Allergènes préparés spécialement pour un individu	**ILIT**	Immunothérapie intralymphatique
ARIA	*Allergic rhinitis and its impact on asthma*	**IR**	Indice de réactivité
C1Q	Composant 1 du complément	**ITA**	Immunothérapie allergénique
Cat-PAD	*Cat peptide antigen desensibilisation*	**ITAM**	*Immunoreceptor tyrosine-based activation motif*
CBER	*Center for biologics evaluation and research*	**ITIM**	*Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*
CD	Cellule dendritique	**LTh**	Lymphocyte T *helper* (effecteur)
CD40	Cluster de différentiation 40	**LBrég**	Lymphocyte B régulateur
CD40L	Ligand du cluster de différentiation 40	**LTrég**	Lymphocyte T régulateur
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité	**MAT**	*Modular antigen translocation*
CPA	Cellule présentatrice d'antigène	**mCD**	CD myéloïde
CpG	Cytosine phosphodiester Guanine	**NCF**	*Neutrophil Chemotactic Factor*
CTLA-4	*Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*	**nLTrég**	Lymphocyte T régulateur naturel
EAACI	*European academy of allergy and clinical immunology*	**LMPA**	Lipide monophosphoryle A
ECF	*Eosinophil chemotactic factor*	**LPS**	Lipopolysaccharide
ECP	*Eosinophil cationic protein*	**OIT**	Immunothérapie orale
EI	Effet Indésirable	**OMS**	Organisation mondiale de la santé

ELIFAB	*Enzyme linked immunosorbent facilitated antigen binding*
ELISA	*Enzyme linked immunosorben assay*
EPIT	Immunothérapie épicutanée
FcγRIIb	Récepteur de faible affinité pour les IgG
FDA	*Food and Drug Administration*
FeNO	Fraction d'oxyde nitrique exhalé
Foxp3	*Forkhead/winged helix transcription factor Fox 3*
FV	*Folding variant*
GM-CSF	*Granulocyte macrophage colony stimulating factor*
ICOS	*Inducible costimulator*
OX40	*Tumor necrosis factor receptor superfamily member 4*
OX40L	*Ligand for tumor necrosis factor receptor superfamily member 4*
PAF	*Platelet Activation Factor*
PRI	Préparation de Référence Interne
RAST	*Radio allergosorbent test*
RI	Réaction indésirable
SCIT	Immunothérapie Sous-Cutanée
SDS-PAGE	Electrophorèse en gel de polyacrylamide en milieu dénaturant
SLIT	Immunothérapie Sublinguale
SPIRE	*Synthetic peptide immuno-regulatory epitopes*
STAB1	Stabinile-1
TCR	*T Cell Receptor*
TGF-β	*Transforming Growth Factor-beta*
TLR	*Toll like receptor*
TNF-α	*Tumor Necrosis Factor alpha*
TSLP	*Thymic Stromal Lymphopoietin*
VLP	*Virus-like particles*
WHO	*World Health Organization*
WT	*Wild Type*
ORL	Oto-Rhino-Laryngologie
FcƐRI	Récepteur de haute affinité aux IgE
FcƐRII	Récepteur de faible affinité aux IgE
PAMP	*Pathogen associated molecular pattern*
pCD	CD plasmacytoïde
PD-1	*Programmed cell Death 1*
PD-L	*Programmed death ligand*
PEG	Polyéthylène glycol
LB	Lymphocyte B
PR	*Pathogenesis-related*

1 Introduction

Alors qu'elle était considérée au début du 20ème siècle comme une maladie rare, l'allergie est aujourd'hui une maladie répandue, dont la prévalence est en nette augmentation à travers le monde. Des estimations récentes de *The European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (EAACI), suggèrent qu'en Europe, 30% de la population souffre de rhinite et/ou de conjonctivite d'origine allergique, 20% des enfants souffrent d'asthme, et 8% de la population souffre d'allergies alimentaires. La prévalence des maladies allergiques est également en augmentation dans les autres régions du monde.[1] D'après les chiffres de la *World Health Organization* (WHO), des centaines de millions de personnes dans le monde sont atteintes de rhinite allergique et près de 235 millions de personnes sont atteintes d'asthme.[2] L'impact des maladies allergiques est important dans la société où elles modifient grandement la qualité de vie des personnes qui en souffrent. L'EAACI, prévoit que d'ici 10 ans, plus de la moitié de la population européenne pourrait présenter une maladie allergique. Cela fait de l'allergie, un problème de santé publique important.[1]

Les traitements d'immunothérapie allergénique (ITA) sont utilisés depuis plus d'un siècle et sont aujourd'hui, les seuls traitements capables de soigner les maladies allergiques en induisant une tolérance allergénique spécifique à un ou plusieurs allergènes. Ces traitements ont confirmé leur efficacité et leur sécurité dans de nombreuses études. Les traitements d'ITA permettent de soulager les patients atteints d'allergies respiratoires et d'allergies aux venins d'insectes, des symptômes de leur allergie et induit une tolérance qui perdure plusieurs années après l'arrêt du traitement.[1]
Les mécanismes d'action des traitements d'ITA, tout comme les mécanismes immunologiques en œuvre dans les maladies allergiques ne sont pas encore totalement élucidés et font l'objet de très nombreuses recherches.

Malgré leur succès et bien que les traitements d'ITA soient connus depuis longtemps, l'utilisation des traitements d'ITA entraine des risques d'apparition d'effets indésirables (EI). De plus, cette méthode n'est, encore aujourd'hui, pas efficace chez tous les patients ni pour tous les allergènes, comme ceux responsables des allergies alimentaires.[4] C'est pourquoi, de très nombreuses recherches sont en cours dans le but d'améliorer l'efficacité, la sécurité et la qualité des traitements d'ITA. Cette amélioration passe également par une meilleure sélection des patients, à travers le développement de biomarqueurs permettant de prédire et de suivre l'efficacité de l'ITA, avant le traitement et au cours de celui-ci.

Bien que le terme « allergie » soit un terme générique qui regroupe 4 grands groupes de mécanismes physiologiques différents explicités en première partie de cette thèse, nous utiliserons ce terme pour désigner plus spécifiquement l'allergie médiée par les immunoglobulines E (IgE) ou hypersensibilité de type I. L'ITA, correspond donc au traitement curatif des hypersensibilités de type I.

Ainsi, la première partie de cette thèse traitera de l'allergie, de ses mécanismes d'action, des allergènes, des manifestions cliniques et de ses méthodes de diagnostic.

Dans une seconde partie, nous étudierons les traitements d'ITA : l'utilisation de ces traitements, leur efficacité, leur tolérabilité, leur fabrication et leurs statuts réglementaires. Nous nous pencherons en particulier sur leurs mécanismes d'action immunologiques connus.

Enfin, dans la dernière partie de cette thèse, nous étudierons les nouvelles approches thérapeutiques, en cours d'étude, pour l'amélioration des traitements d'ITA. Ces nouvelles approches portent en particulier sur l'amélioration des extraits allergéniques, sur l'utilisation de nouveaux adjuvants ou sur l'étude de nouvelles voies d'administration. Nous nous intéresserons également aux vaccins ADN anti-allergéniques, ainsi qu'à la recherche de biomarqueurs de l'ITA.

2 Contexte: l'allergie et les allergènes

2.1 L'allergie

L'hypersensibilité est une réponse anormale et excessive de l'organisme vis-à-vis d'un antigène.

L'allergie est donc définie comme une réaction spécifique, anormale et excessive du système immunitaire vis-à-vis d'une substance antigénique généralement étrangère à l'organisme, appelée allergène, auquel l'organisme est exposé. Cette réaction est reproductible à chaque nouvelle exposition à l'allergène. L'allergie est considérée comme une maladie chronique.[3 4 5 6]

La classification de Gell et Coombs, établie en 1963, répartit les différents types d'hypersensibilités en fonction de leurs mécanismes d'action (Fig. 1).[7] L'ITA, dont cette thèse est le sujet, correspond au traitement curatif des hypersensibilités de type I.

- L'hypersensibilité de type I survient dans un délai très bref (15-30min) chez les individus prédisposés, c'est-à-dire, atopiques. Elle est médiée par les IgE provoquant l'activation des mastocytes tissulaires et des basophiles circulants. Les manifestations cliniques seront des réactions anaphylactiques systémiques ou des réactions localisées telles que l'asthme, la rhinite allergique ou l'eczéma.[4 5 6 8]

- L'hypersensibilité de type II cytotoxique ou cytolytique survient 4 à 6 heures après le contact avec l'allergène. Elle s'observe quand des anticorps autres que des IgE réagissent avec des antigènes endogènes adsorbés ou exprimés sur une membrane cellulaire (notamment des macrophages) ou des antigènes exogènes fixés sur des cellules (ex. médicaments fixés sur la surface des érythrocytes). Cela va induire leur destruction par des macrophages tissulaires ou par l'activation du complément et de *l'Antibody dependant cell-mediated cytotoxicity* (ADCC). Les manifestations cliniques seront des allergies médicamenteuses, des accidents transfusionnels, des anémies hémolytiques, érythroblastose fœtale ou des maladies auto-immunes.[4 5 6 8]

- L'hypersensibilité de type III est une réaction semi-retardée liée à la formation et au dépôt de complexes immuns circulants antigène-anticorps entre des IgG et des antigènes, sur les parois des vaisseaux ou sur les membranes basales. Cette précipitation anormale de complexes immuns entraîne l'activation du complément et le recrutement de polynucléaires neutrophiles et de macrophages ce qui induit une inflammation locale exacerbée. Cette hypersensibilité sera responsable de maladies sériques, de vascularites nécrosantes, de glomérulonéphrites, de lupus érythémateux disséminés, etc.[4 5 6 8]

- L'hypersensibilité de type IV ou retardée à médiation cellulaire n'apparait qu'après un délai de 12 à 48h chez un sujet sensibilisé. L'antigène est présenté aux lymphocytes T *helper* de type 1 (LTh1) spécifiques de l'antigène par les cellules présentatrices d'antigènes. Les lymphocytes ainsi activés libèrent différentes cytokines qui attirent les macrophages et d'autres cellules inflammatoires non spécifiques provoquant ainsi une activité phagocytaire accrue et une libération d'enzymes lytiques.

Les lésions ainsi provoquées, aussi appelées communément « allergie », seront impliquées dans des dermatites de contact (par exemple contact avec des plantes vénéneuses), des maladies auto-immunes, des rejets de greffe, etc.[4 5 6 8]

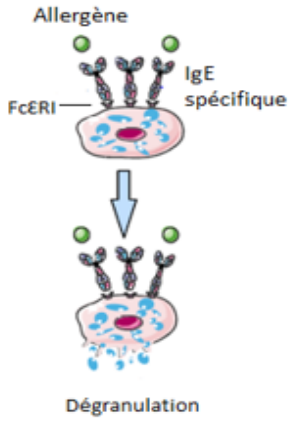
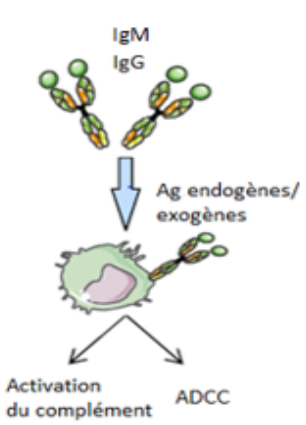
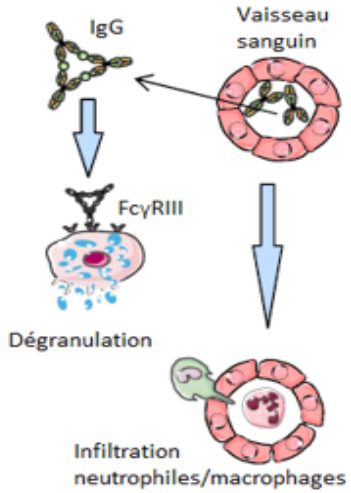
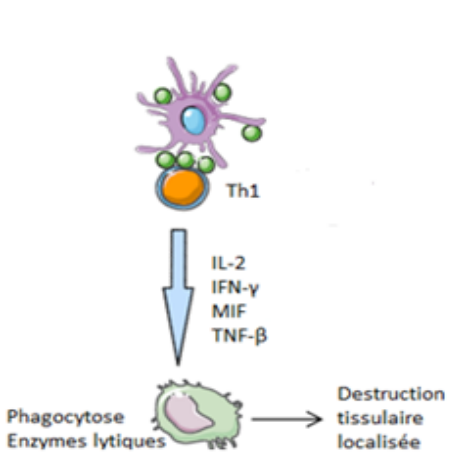
	Type I	Type II	Type III	Type IV
Délai d'apparition	15 à 30 min	4 à 6h	3 à 10h	12 à 48h
Médiation	Hypersensibilité médiée par des **IgE**	Hypersensibilité médiée par des **IgG** ou **IgM**	Hypersensibilité médiée par des **complexes immuns**	Hypersensibilité à **médiation cellulaire**
Mécanismes effecteurs	Activation des basophiles/mastocytes  	Cellules FcR+ (macrophages)  	 	Activation des LTh1 sensibilisés Activation des macrophages 
Clinique	Anaphylaxie systémique, asthme, rhinite allergique, eczéma	Allergies médicamenteuses, accidents transfusionnels, anémies hémolytiques, érythroblastose fœtale, maladies auto-immunes	Maladies sériques, vascularites nécrosantes, glomérulonéphrites, lupus érythémateux disséminés	Dermatites de contact, maladies auto-immunes, rejets de greffes, lésions tuberculeuses

Figure 1. Mécanisme immunologiques des quatre réactions d'hypersensibilité (adapté de [9]).

Les hypersensibilités de type I, II et III sont à médiation humorale alors que l'hypersensibilité de type IV est une hypersensibilité médiée par l'immunité cellulaire. Les hypersensibilités de type I, II et III se distinguent par les classes d'anticorps sur lesquels se basent leurs mécanismes. Les réponses de type I sont provoquées par la dégranulation de médiateurs par des mastocytes et des basophiles sensibilisés et activés par la fixation d'allergènes sur les IgE spécifiques fixés sur leur membrane. Les réponses de type II sont provoquées par des IgG ou des IgM dirigés contre des antigènes fixés aux surfaces cellulaires ou médicamenteux cela va entraîner l'activation du complément et de l'ADCC. Les réponses de type III sont causées par des complexes immuns entre des IgG et des antigènes fixés sur des membranes qui vont entraîner la dégranulation des mastocytes *via* leur récepteur FcγRIII et l'infiltration de neutrophiles tissulaires dans les vaisseaux sanguins. Les réponses de type IV sont induites par des LTh1 spécifiques de l'allergène. Ceux–ci vont sécréter des cytokines permettant le recrutement et l'activation de macrophages.[4 6 8]

2.2 L'hypersensibilité de type I

Les individus possédant une prédisposition génétique à développer une réponse allergique telles que l'asthme, une rhinite allergique ou un eczéma atopique sont dits atopiques. L'atopie est donc la capacité, dans un environnement favorable (incluant pollution, mode de vie citadin, etc.), d'induire des réponses immunes de type allergique *via* une production importante d'IgE dirigés contre des protéines de l'environnement, normalement inoffensives pour un sujet normal.[10]

2.2.1 Etiologie

L'allergie est une maladie complexe, qui est la résultante de l'interaction entre de nombreux facteurs génétiques et environnementaux.

Plusieurs études montrent que les polluants atmosphériques, particulièrement présents dans les villes amplifient les réponses allergiques médiées par les IgE aux allergènes aéroportés ainsi que les réponses inflammatoires au niveau des voies respiratoires. Le tabagisme est aussi incriminé.[11] L'urbanisation entraînerait également une plus grande exposition aux allergènes domestiques tels que les acariens, les moisissures ou les phanères d'animaux piégés dans les isolements thermiques, les moquettes, etc.[12] Une diminution de la prévalence des maladies allergiques a aussi été observée dans les populations rurales par comparaison avec des familles vivant en milieu urbain. Cela peut être expliqué par la théorie hygiéniste selon laquelle, le manque d'exposition à des agents infectieux durant l'enfance favoriserait l'augmentation des maladies allergiques.[13] [14]
Le réchauffement climatique fait aussi partie des facteurs incriminés dans l'augmentation de la fréquence des allergies respiratoires au cours des 30 dernières années. En effet, il provoque une augmentation des périodes de pollinisation, augmentant la quantité de pollens allergisants dans l'air.[15]

De nombreuses études se sont portées sur l'identification des mécanismes génétiques pouvant être responsable de l'atopie. L'atopie apparaît comme un syndrome multigénique, ce qui s'accorde avec son polymorphisme clinique. Les principaux gènes impliqués peuvent être répartis en 4 groupes : 1) les gènes associés à l'immunité innée et l'immunorégulation, 2) les gènes impliqués dans la réponse Th2, 3) les gènes associés à la biologie des épithéliums et des muqueuses, 5) les gènes associés aux fonctions ventilatoires et au remodelage bronchique. Dans le second groupe, la région chromosomique 5q31 a été identifiée comme suspecte et contient les gènes codant pour les cytokines IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 et le *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) qui possèdent un rôle essentiel dans l'expression de la réaction inflammatoire allergique.[6] [16]
Ainsi, les antécédents d'allergies familiales et l'origine ethnique sont des facteurs de risque pouvant contribuer au déclenchement des allergies.[17] Le risque de survenue de manifestations allergiques chez un enfant est estimé à 30% si l'un des parents présente une allergie respiratoire ou cutanée. Ce risque est estimé à 65% si les deux parents sont allergiques.[18]

2.2.2 Mécanismes d'action

Les réactions induites par les anticorps IgE ont la particularité d'être rapides et sensibles. On qualifie ces réactions de sensibles car elles peuvent être provoquées par des petites quantités d'allergènes et déclencher une réaction anaphylactique fatale. En fonction de la concentration en allergènes, de la localisation de l'exposition (aérienne, digestive, parentérale) ou de la durée d'exposition, la réaction peut être systémique, comme pour le choc anaphylactique ou localisée, induisant une inflammation chronique locale d'intensité variable.[19]

Il existe deux phases immunologiques dans l'hypersensibilité de type I. Une première phase de sensibilisation, cliniquement muette, conduit à la synthèse des IgE spécifiques. La deuxième phase effectrice symptomatique est liée à l'activité immédiate de l'allergène sur les cellules portant les IgE à leur surface.[19]

2.2.2.1 Les IgE

Les IgE sont produites soit par les plasmocytes localisés dans les ganglions lymphatiques drainant le site d'entrée de l'allergène, soit localement au niveau des sites de pénétration de l'allergène, par des plasmocytes venant des centres germinatifs en développement dans le tissus inflammatoire.[20]

La concentration sérique normale des IgE est de 10 ng/mL. Elles ne traversent pas les membranes placentaires, le nouveau-né ne peut donc pas être sensibilisé par les anticorps maternels.[19] Les IgE sont impliquées dans les mécanismes de défense antiparasitaires (helminthes, schistosomes, *Plasmodium*).[21]

Leurs synthèse est entre autre, induite par l'action sur les Lymphocytes B (LB) de l'interleukine 4 (IL-4) et de l'IL-13 synthétisées par les LTh2 et est inhibée par l'action de l'interféron gamma (IFNγ), de l'IFNα et du *transforming growth factor beta (*TGF-β).[22]

Les IgE sont reconnues par deux récepteurs spécifiques. Elles iront s'y fixer *via* leur segment Fc, laissant la région Fab disponible pour la reconnaissance de l'allergène.
Le récepteur FcƐRI de haute affinité (Kd = 1-2x10^-9), exprimé par les mastocytes, les basophiles et les éosinophiles est responsable de la plupart des symptômes associé à l'allergie. Quand les IgE fixées à une cellule reconnaissent un allergène spécifique, le récepteur induit un signal d'activation cellulaire. Une concentration importante d'IgE chez les personnes allergiques va entraîner une nette augmentation de l'expression du récepteur FcƐRI à la surface des cellules et donc augmenter la sensibilité de ses cellules à une faible concentration d'allergène spécifique.

Le récepteur FcƐRII ou CD23 de faible affinité sous forme monomérique (kd=1x10^-6) est exprimé par de nombreux types de cellules dont les macrophages, les LB, les monocytes, les cellules dendritiques

(CD), les plaquettes et les éosinophiles. Ce récepteur aura un rôle important dans l'augmentation de la production d'IgE par les LB.

Les IgE persistent plusieurs mois à la surface des cellules mais seulement 2 à 3 jours sous forme libre dans le sang périphérique.[6 20 22]

2.2.2.2 Phase de sensibilisation

Lors de la phase de sensibilisation (Fig. 2), les CD présentes dans les épithéliums capturent les allergènes qui y pénètrent. Les CD sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Elles migrent alors vers les ganglions lymphatiques locorégionaux tout en achevant leur maturation et en dégradant l'allergène en peptides. Finalement, le peptide dégradé sera associé au Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe II à la surface de la CD pour former un complexe peptide/CMHII. Ce complexe est présenté aux LTh naïfs CD4+ et est reconnu par leur récepteurs spécifiques (*T Cell Receptor*, TCR), ce qui va induire une réponse proliférative et leur différentiation en cellules effectrices sécrétrices de cytokines.

Les LTh naïfs vont se différencier majoritairement en six sous populations de LT effecteurs : les LTh1, les LTh2, les LTh9, les LTh17, les LTh22 et les Lymphocytes T régulateur (LTrég). Ces principales populations de LTh sont classées en fonction des cytokines orientant leur différentiation, des facteurs de transcription régulant l'expression de leurs gènes et de la nature des cytokines qu'elles sécrètent. Des LTh mémoires spécifiques de l'allergène seront aussi produits.[5 6 19 23]

- Les LTh1 sont préférentiellement impliquées dans l'immunité protectrice contre des micro-organismes à développement intracellulaire. Elles vont synthétiser principalement de l'IL-2, de l'IL-12 et de l'IFNγ.[19] Ces cytokines sont également produites par les CPA et vont réguler négativement la réponse Th2 et induire la production de LTh1 à partir des LTh CD4+ naïfs.[24] Les cellules Th1 vont cependant avoir un rôle dans la dermatite atopique en induisant l'apoptose des cellules épithéliales, des cellules musculaires lisses et des kératinocytes[25] et dans la chronicité de l'asthme *via* l'apoptose des cellules épithéliales.[26]
- Les LTh2 sont préférentiellement impliqués dans l'immunité protectrice contre des micro-organismes extracellulaires.[19] Dans le cadre d'une réaction allergique, ils vont induire le recrutement, l'activation et la survie des éosinophiles, des basophiles et des mastocytes au site d'exposition à l'allergène par la synthèse d'autres cytokines telles que l'IL-3, l'IL-9, l'IL-5, l'IL-4 et l'IL-13 et dont les rôles dans les phénomènes allergiques sont résumés dans le Tableau 1.

Les cytokines IL-4 et IL-13 sont impliquées dans la maturation des LB en plasmocytes avec une commutation isotypique en faveur des IgE. Un second signal sera nécessaire, qui correspond à la liaison du récepteur CD40 situé sur les LB avec le CD40L situé sur les LT. Parallèlement, les LB naïfs peuvent être activées directement par l'allergène. Des LB mémoires spécifiques de l'allergène seront également produits.[5 6 23]

- Les LTh9 se caractérisent par la production d'IL-9. IL-9 possède de nombreuses fonctions incluant l'augmentation de la production de mucus chez les patients asthmatiques.[27]
- Les LTh17 sont impliqués dans la défense contre les pathogènes intracellulaires et le développement de maladies auto-immunes. Ils sont caractérisés par la synthèse des cytokines IL-17, IL-6, *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNFα) et IL-22. Les LTh17 contribueraient au développement des maladies allergiques dont l'asthme allergique en favorisant le recrutement et la survie des éosinophiles et des neutrophiles dans les voies respiratoires. Ils favoriseraient aussi la différentiation et l'activation des LTh2. [28]
- Les LTh22 ont un rôle dans les mécanismes inflammatoires des tissus périphériques. Ils ont été isolés dans la peau de patients atteints de psoriasis, de dermatite atopique ou de dermatite de contact. Ils sont caractérisés par la synthèse d'IL-22 qui possède un rôle dans l'induction de cytokines pro-inflammatoires par les cellules épithéliales bronchiques et les myofibroblastes.[28]
- Les LTrég ont un rôle de régulateur et de maintien d'un « équilibre » entre les différentes réponses Th. Il existe plusieurs populations de LTrég différents dont les fonctions sont explicitées dans le chapitre 3.5.2. Ils synthétisent de l'IL-10 et du TGF-β. Ces cytokines permettent d'influencer une commutation isotypique du LB en faveur de la synthèse d'IgG4, d'IgG1 et d'IgA. Ces immunoglobulines possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Les IgA sont particulièrement présentes au niveau des muqueuses. Les IgG4 sont associés au développement d'une tolérance immunitaire et bloqueraient la fixation des IgE aux allergènes *via* un mécanisme qui sera développé dans le chapitre 3.5.3. Les LTrég vont également avoir un rôle dans l'inhibition de la prolifération des LTh2, des mastocytes, des éosinophiles et des basophiles.[27]

Chez un individu atopique, l'équilibre entre les réponses Th1 et Th2 n'est pas maintenu. Il a été démontré que les patients atopiques développent une réponse spécifique de l'allergène de profil Th2 prépondérant alors que les individus non atopiques développent face à ce même antigène un profil Th1/Tr.[29] On ne connaît pas aujourd'hui les mécanismes exacts à l'origine de la perte de cet équilibre. Une étude réalisée par Akkoc T. *et al.* en 2008 a montré que le profil Th2 des patients atopiques était dû à un apoptose dérégulée entre les cellules Th1 et Th2, favorisant la mort des cellules Th1 effectrices et mémoires, en particulier celles productrices d'IFNγ.[30] D'autres études suggèrent que de nombreux facteurs sont impliqués comme l'hérédité, la nature et la dose de l'allergène, la nature des signaux de costimulation délivrés par les CPA, l'environnement cytokinique[19] ou encore, une altération des fonctions des LTrég.[31]

Les IgE produites vont se fixer par leur partie constante Fc sur les mastocytes tissulaires, sur les basophiles du sang circulant et sur les éosinophiles *via* leurs récepteurs FcƐRI et FcƐRII. Ils vont persister plusieurs mois à la surface des cellules. On parle alors de « cellules sensibilisés ». [3 8 22]

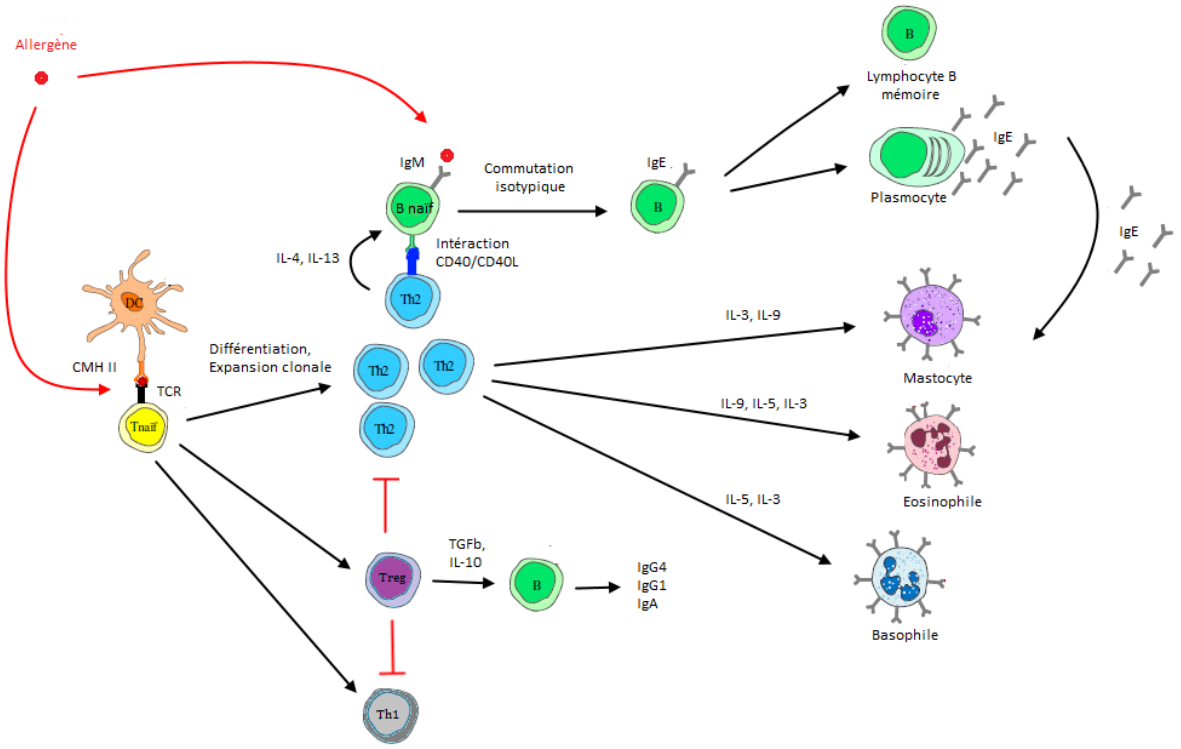


Figure 2. Allergie de type I, mécanismes immunitaires humoraux et cellulaires lors de la phase de sensibilisation (adapté de [29]).

Lors de la phase de sensibilisation, l'allergène est pris en charge par les CD qui le présentent aux LTh CD4+ naïfs. Ceux-ci vont se différencier en LTh2, LTh1 et LTrég. Le rôle des LTrég est d'inhiber les réponses Th1 et Th2. Les LTh2 vont permettre la commutation isotypique des LB et d'induire la synthèse d'IgE et la production de LB mémoires. Parallèlement, ces derniers peuvent aussi être directement activés par l'allergène. Les IgE iront se fixer sur les mastocytes, les éosinophiles et les basophiles qui seront ainsi sensibilisés. Les LTh2 vont également synthétiser des cytokines qui vont permettre le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires.

2.2.2.3 Phase effectrice

La phase effectrice commence lors d'un nouveau contact avec le même allergène. Elle se déroule en deux étapes : la phase immédiate et la phase retardée.

2.2.2.3.1 Phase immédiate

La phase immédiate (Fig. 3) survient quelques secondes à quelques minutes après l'exposition à l'allergène et sera responsable des symptômes immédiats (éternuements, urticaire, œdème, prurit, bronchospasme etc.).[30] Elle est initiée par les mastocytes et les polynucléaires basophiles.

Après avoir traversé les muqueuses, les allergènes se fixent sur les IgE spécifiques portées par les mastocytes et les polynucléaires basophiles sensibilisés. Un allergène va relier entre eux deux IgE adjacents, réalisant ainsi un pontage conduisant à l'activation en cascade de ces cellules et à leur dégranulation. Les mastocytes et polynucléaires basophiles libèrent d'abord des médiateurs pro-

inflammatoires préformés contenus dans des granules cytoplasmiques : histamine, protéases, facteur chimioattractant des éosinophiles (*eosinophil chemotactic factor*, ECF), facteur chimioattractant des neutrophiles (*neutrophil chemotactic factor*, NCF), TNFα, IL-6. Les protéases (chymase, tryptase et estérase sérique) vont activer à leur tour des métalloprotéases qui vont causer des lésions de la matrice extracellulaire et donc une destruction des tissus.

Ces cellules vont ensuite synthétiser et libérer, dans un second temps, des médiateurs lipidiques dérivant des phospholipides membranaires (prostaglandines D2, leucotriènes), le facteur d'activation des plaquettes (*platelet activation factor*, PAF) et d'autres cytokines (IL-4, IL-13,..) perpétuant la réponse Th2.[6] [29] Les différentes fonctions de ses médiateurs sont décrites dans le Tableau 1.

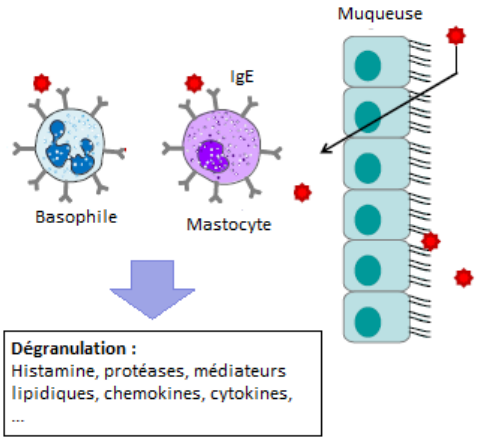


Figure 3. Allergie de type I, phase immédiate (adapté de [32]).
Après avoir traversé les muqueuses, les allergènes se fixent sur les IgE spécifiques portées par les mastocytes et les polynucléaires basophiles sensibilisés, au niveau de leurs récepteurs FcεRI. Un allergène va relier entre eux deux IgE adjacents et réaliser un pontage activant la dégranulation de médiateurs pro-inflammatoires.

Médiateurs	Actions physiologiques

Histamine	Vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire (à l'origine d'œdèmes de la paroi bronchique), bronchospasmes, exsudation de plasma, hypersécrétion de mucus, contraction des muscles lisses.[3 8]
Protéases (chymase, tryptase, estérase sérique)	Inflammation, dégradation tissulaire, sécrétion de mucus bronchique, hyperréactivité bronchique, exsudation de plasma, recrutement des éosinophiles et prolifération de fibroblastes.[6]
Médiateurs lipidiques	
Leucotriènes	Vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire, bronchoconstriction, hypersécrétion de mucus, recrutement de polynucléaires neutrophiles, hypertrophie musculaire lisse, hyperréactivité bronchique.[33]
Prostaglandines D2	Vasodilatation, bronchoconstriction, recrutement des neutrophiles,des LTh2 et des éosinophiles.[34]
Cytokines	
IL-1, IL-6	Agents pro-inflammatoires, rôles dans l'induction de l'anaphylaxie systémique.[8]
TNFα	Augmentation du nombre de molécules d'adhérence sur l'endothélium favorisant l'arrivée de leucocytes et de lymphocytes dans les tissus [8 20] , stimule la production de cytokines pro-inflammatoires.[20]
IL-4, IL-13	Augmentation de la production d'IgE [23], stimule et amplifie la réponse Th2.[20]
IL-8	Chimioattractant des neutrophiles et basophiles.[23]
IL-5, IL-3	Recrutement et activation des éosinophiles et des basophiles.[27] Différentiation des basophiles et des mastocytes (IL-3).[19]
GM-CSF	Activation de cellules myéloïdes (granulocytes, macrophages, monocytes), augmentation de la perméabilité vasculaire, recrutement et activation des éosinophiles, des neutrophiles et des basophiles.[27]
IL-9	Action dans la croissance des mastocytes et des basophiles, augmentation de l'expression du récepteur FcƐRI, augmentation de la production de mucus.[20]
IL-17	Augmentation de recrutement et de la survie des éosinophiles, des macrophages et des neutrophiles. Favorise la réponse Th2.[28]
IL-10, TGF-β	Agents anti-inflammatoires, réduisent la synthèse d'IgE, induisent une commutation isotypique en faveur des IgG et des IgA.[29]
PAF	Activation des leucocytes, augmentation de la production de médiateurs lipidiques, activation des neutrophiles, des éosinophiles et des plaquettes.[20]

Tableau 1. Fonctions des médiateurs libérés lors de la réaction allergique.

2.2.2.3.2 Phase retardée

Les médiateurs libérés lors de la phase immédiate vont être responsables de l'activation et du recrutement d'autres leucocytes comme des éosinophiles, des neutrophiles, des monocytes et des LT, ainsi que des CD. L'infiltration tissulaire de ses cellules sera responsable de la phase retardée ou chronique (Fig. 4) de l'allergie où elles provoqueront un état inflammatoire, des lésions et des remodelages tissulaires.[35] Cette phase survient 8 à 12 heures après la phase immédiate.[20]

Lors de la phase retardée, les LTh2 mémoires vont être réactivés par les CPA et les médiateurs produits lors de la phase immédiate. Ils vont produire des cytokines permettant la survie, l'activation et la dégranulation des mastocytes, des éosinophiles et des basophiles. Ils vont également déclencher la production d'IgE en activant les LB mémoires spécifiques de l'allergène.[36] Les LT vont induire une augmentation de la production de mucus (*via* l'action de l'IL-9), et une augmentation de l'hyperréactivité bronchique.

L'infiltrat de polynucléaires éosinophiles est une des réactions typiques de la réaction allergique. Ils sont activés par les mastocytes et les LTh2 *via* les cytokines IL-3 et IL-5 et par les allergènes se fixant aux IgE présents à leur surface. Leur activation va entraîner la libération immédiate de molécules toxiques comme des hydrolases, des peroxydases, des neurotoxines ou des protéines basiques majeures et des radicaux libres provoquant des dommages tissulaires. Dans un second temps, leur activation va déclencher la synthèse de médiateurs lipidiques (leucotriènes et prostaglandines), et de cytokines comme l'IL-3, l'IL-5 et le GM-CSF qui vont augmenter la réponse allergique en recrutant d'autres leucocytes dont des éosinophiles.[3 6 8 29 37]
Les basophiles, éosinophiles et mastocytes vont interagir les uns avec les autres pour amplifier la réponse inflammatoire. Par exemple, les protéines basiques majeures libérés par les éosinophiles vont stimuler la dégranulation des basophiles et des mastocytes.[20]

Les neutrophiles attirés et activés sur la zone inflammatoire vont y libérer des enzymes lytiques, le PAF, des prostaglandines et des leucotriènes.[38] Elles vont également jouer un rôle important dans le recrutement et l'activation des éosinophiles.[39]
Les monocytes attirés sur le lieu de la réaction se différentient en macrophages activés capables de phagocytose, de sécrétion de nombreux médiateurs et de fonction de CPA capables d'activer les LTh naïfs CD4+.[8]

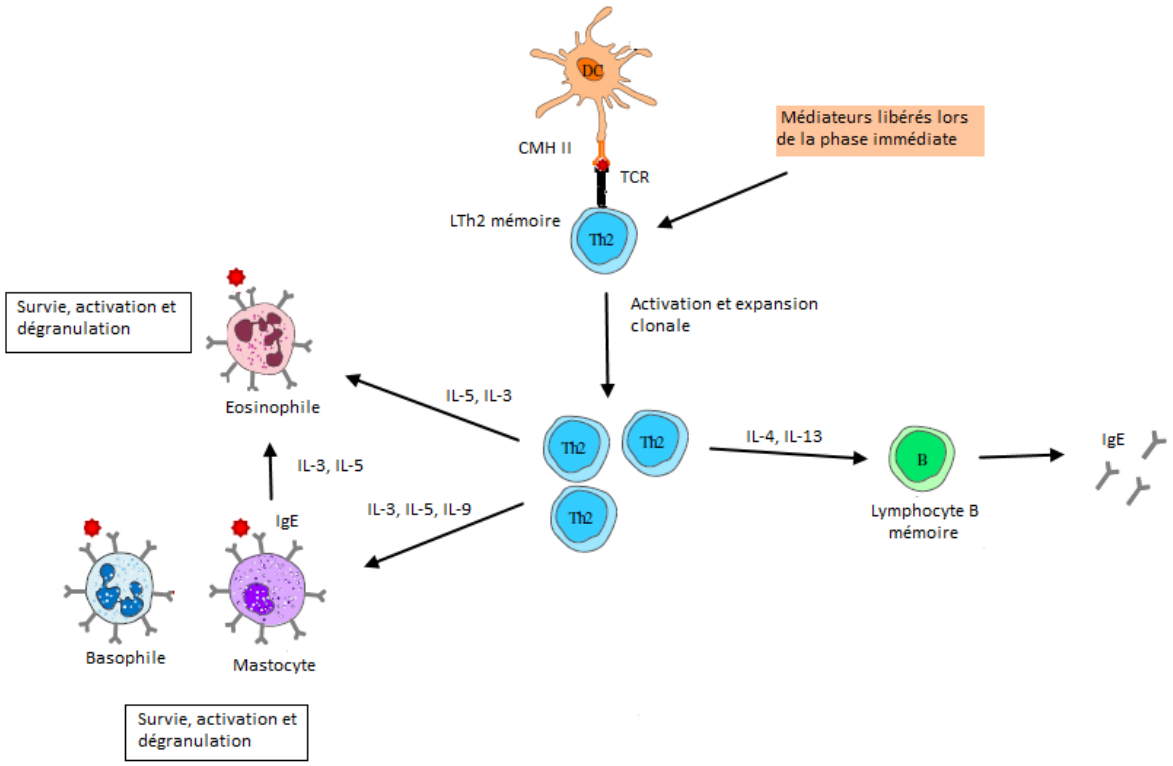


Figure 4. Allergie de type I, phase retardée (adapté de [32]).

Lors de la phase retardée de l'allergie, les LTh2 mémoires vont être activés par les CPA et les cytokines et chimiokines produites lors de la phase immédiate. Les LTh2 spécifiques de l'allergène vont activer les LB mémoires qui se différencieront en plasmocytes producteurs d'IgE. Les Th2 vont avoir un rôle important dans la survie, l'activation et la dégranulation des éosinophiles, des basophiles et des mastocytes.

2.3 Les allergènes

2.3.1 Définition et généralités

Un allergène est, le plus souvent, une substance protéique d'origine végétale ou animale qui, associée à des facteurs de prédisposition génétique, va stimuler les réponses d'hypersensibilité de type I chez les individus allergiques et entraîner la synthèse d'IgE spécifiques de cet allergène en quantité excessive.[40]

Le terme d'allergène désigne souvent la source allergénique (par exemple acarien), alors qu'il s'agit de protéines composant cette source. Un allergène dit majeur est un allergène contre lequel plus de 50% des personnes d'un groupe de patients est allergique. Un allergène mineur sera donc un allergène contre lequel moins de 50% des personnes d'un groupe de patients est allergique.[10] Une source allergénique peut donc contenir plusieurs allergènes majeurs ou mineurs (Cf. Tableau 2).[37]

Famille d'allergènes	Sources	Espèces	Exemples d'allergènes majeurs
Pneumallergènes	Acariens (corps/fèces)	*Dermatophagoides pteronyssinus*	Der p 1 Der p 2
		Dermatophagoides farinae	Der f 1 Der f 2
	Pollen de graminées	Fléole, Dactyle, Flouve, Ivraie, Pâturin	Phl p 1, Dac g 1, Ant o 1, Lol p 1, Poa p 1
	Pollen d'arbres	Bouleau, Cyprès, Olivier	Bet v 1, Cup a 1, Ole e 1
	Pollen d'herbacées	Ambroisie, Armoise, Pariétaire	Amb a 1, Art v 1, Par j 1
	Phanères de chien, chat	*Canis familiaris, Felis domesticus*	Fel d 1, Can f 1
	Insectes	*Blatella germanica*	Bla g 1
	Moisissures	*Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus*	Alt a 1, Asp f 1
Trophallergènes	Arachide	*Arachis hypogea*	Ara h 1
	Pomme	*Malus domestica*	Mal d 1
	Pêche	*Prunus persica*	Pru p 1
Venins	Guêpe	*Vespula vulgaris* *Polistes dominula*	Ves v 1 Pol d 5
	Abeille	*Apis mellifera*	Api m 1

Tableau 2. Principaux allergènes (adapté de [19]).

Malgré leur grande diversité, des caractéristiques physico-chimiques communes ont été mises en évidence entre différents allergènes. Il s'agit la plupart du temps de molécules de petite taille comprises entre 10 et 40 kDa, très solubles et qui diffusent facilement à travers les muqueuses.[41] Ils présentent fréquemment des activités protéolytiques. Par exemple, Der p 1, un allergène majeur de l'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus* possède une activité cystéine-protéase. Cette activité protéolytique aide à l'immunogénicité de cet allergène en dégradant les jonctions cellulaires épithéliales. Ce phénomène favorise la pénétration de l'allergène au travers des muqueuses mais lui permet aussi d'être en contact rapidement avec les cellules de l'immunité.[42] De nombreux allergènes possèdent aussi des motifs moléculaires habituellement associés à des pathogènes (*Pathogen Associated Molecular Pattern,* PAMP), capables d'interagir avec les cellules immunitaires et de les activer, provoquant une réponse immunitaire, dans ce contexte, allergique.[8]

2.3.2 Les voies de pénétration des allergènes

La voie de pénétration d'un allergène (cutanée, digestive, respiratoire), la durée d'exposition et la quantité d'allergènes vont influencer le pouvoir allergisant de ceux-ci et le type de réaction allergique.[10 19]

Les allergènes qui pénètrent dans l'organisme par les voies respiratoires sont appelés pneumallergènes. Les pneumallergènes les plus courants sont ceux des acariens (dont les plus répandus en Europe sont *Dermatophagoides pteronyssinus* et *Dermatophagoides farinae*), des pollens, des phanères d'animaux et des moisissures. Les acariens, les moisissures et les phanères sont des allergènes dits d'intérieur, se retrouvant préférentiellement dans les poussières de maison alors que les pollens sont des allergènes dit d'extérieurs. Parmi les pneumallergènes, on trouve les allergènes perannuels tel que les acariens, dont la période d'exposition dure toute l'année et les allergènes saisonniers comme les pollens, auxquels nous sommes exposés durant une période précise de pollinisation.[10 19]

Les allergènes alimentaires sont appelés les trophallergènes. Un grand nombre d'aliments peuvent engendrer des réponses allergiques tels que les fruits, le lait de vache, les œufs, l'arachide, les fruits de mer, etc. Parmi ces allergènes, l'arachide est le plus connu pour provoquer des réactions anaphylactiques graves.[43 44]

Les venins d'insectes concernent surtout les venins d'hyménoptères (abeilles, guêpes, frelon) mais le venin d'autres insectes tels que les fourmis, les moustiques ou les tiques sont aussi imputés. Ces venins peuvent engendrer des réponses importantes pouvant aboutir à des chocs anaphylactiques.[19]

2.3.3 Les allergies croisées

Il arrive qu'une réaction allergique se déclare chez un patient suite au contact avec un allergène différent de celui auquel il est sensibilisé. Il s'agit, la plupart du temps, de personnes sensibilisés à un pneumallergène et développant une allergie à un aliment. Cette réaction se nomme allergie croisée et est causée par des IgE pouvant se lier aux protéines du pollen et aux allergènes alimentaires de structure similaire appelés panallergènes.

Les panallergènes sont des protéines communes à des organismes de groupes taxonomiques différents qui vont posséder des homologies de structure et des épitopes similaires.[45] On peut citer en exemple, les protéines *pathogenesis-related* (PR) dont font partie les allergènes majeurs du pollen de bouleau (Bet v 1), de la pomme (Mal d 1), de la cerise (Pru av 1), de la noisette (Cor a 1) ou du céleri (Api g 1).[46] On peut également citer la famille des tropomyosines, présentes chez les acariens et les crevettes.[40 47 48] Cliniquement, une allergie croisée entre un pollen et un fruit ou légume pourra provoquer un syndrome d'allergie orale. Les symptômes sont principalement un prurit au niveau de la bouche et de la gorge,

l'apparition de vésicules au niveau oro-pharyngé et parfois un œdème de Quincke au niveau des lèvres, du palais et de la gorge. Ces symptômes surviennent très rapidement après contact de l'aliment avec les muqueuses de la bouche. Occasionnellement, les patients peuvent se plaindre de nausées ou d'inconfort abdominal.[49] [50]

Certains médicaments peuvent aussi provoquer des réactions allergiques dépendantes des IgE comme la pénicilline, les sulfamides, les anesthésiques locaux et les salicylates.[8] En effet, ces médicaments peuvent subir, dans l'organisme, des modifications structurales ou chimiques permettant leur association avec des protéines sériques telles que l'albumine, induisant ainsi la formation d'une molécule immunogène.[51]

2.4 Manifestions cliniques de l'hypersensibilité de type I

Les manifestations cliniques des maladies allergiques sont nombreuses mais les mécanismes immunologiques en cause sont les mêmes. Les symptômes peuvent varier en fonction de l'allergène, du patient, du lieu d'exposition à l'allergène, de la quantité de celui-ci ou de la durée de l'exposition.
D'après les statistiques de l'Organisation Mondiale de la santé (OMS), des centaines de millions de patients à travers le monde présentent une rhinite allergique et près de 235 millions de patients, un asthme. La prévalence mondiale des maladies allergiques est en augmentation.[52] Les prévalence des maladies allergiques dans la population française sont les suivantes : [53]

- Rhinite allergique : 25 à 40%
- Asthme allergique: 7 à 12%
- Eczéma : 20 à 8%
- Allergie alimentaire : 1.4 à 3.7%

2.4.1 L'anaphylaxie systémique et chocs anaphylactiques

L'anaphylaxie systémique est une manifestation allergique grave et brutale, survenant très rapidement après le contact avec l'allergène et est due à la dégranulation rapide des mastocytes disséminés dans les tissus associés aux vaisseaux sanguins. Sa sévérité est variable. Les premiers symptômes sont très souvent des symptômes cutanés (érythème prurigineux, urticaire).
Elle peut cependant, rapidement évoluer en choc anaphylactique extrêmement grave avec des symptômes cardiaques (tachycardie, hypotension), respiratoires (dyspnées, bronchospasmes) et gastro intestinaux (nausées, vomissements). L'augmentation de la perméabilité vasculaire va entraîner une baisse importante de la pression artérielle. Un œdème peut également se former qui, s'il est localisé au niveau du larynx ou de l'épiglotte, provoquera la suffocation. Le traitement d'urgence est l'injection d'adrénaline.[20] [54]

2.4.2 La rhinite allergique

L'*Allergic Rhinitis and its impact on Asthma* (ARIA) *guideline* définit la rhinite allergique comme une inflammation des muqueuses nasales et conjonctivales causée par un mécanisme d'hypersensibilité de type I résultant de l'exposition de celles-ci à des allergènes.[17 19]

La migration dans les muqueuses nasales de cellules inflammatoires (éosinophiles, mastocytes, LT) va déclencher des lésions et un remodelage des tissus entraînant une obstruction nasale. De plus, la destruction de l'épithélium respiratoire va occasionner un phénomène appelé inflammation neurogénique, dans lequel les terminaisons nerveuses sont exposées à des protéines cytotoxiques entraînant une contraction des muscles lisses, une sécrétion de mucus par les cellules caliciformes et une exsudation de plasma par les capillaires.[55]

Les quatre principaux symptômes seront une rhinorrhée, une obstruction nasale, des démangeaisons nasales et des éternuements. Ces symptômes sont souvent accompagnés d'une conjonctivite allergique, on parlera alors de rhinoconjonctivite allergique. La conjonctivite est une inflammation de la conjonctive et se traduit par des syndromes oculaires tels que des larmoiements, un prurit oculaire ou un œdème palpébral.[18]

La rhinite allergique est généralement saisonnière et résulte d'une sensibilisation à des allergènes de l'environnement extérieur dont surtout les pollens. Elle peut également être une affection perannuelle causée par une sensibilisation aux allergènes domestiques comme les acariens.[6 17]

La rhinite allergique n'est pas une maladie sévère mais elle affecte le patient dans sa vie quotidienne de manière importante (baisse des performances scolaires et de travail, fatigues, irritabilité, insomnies, etc.). Sa prévalence est en augmentation et elle toucherait 10 à 40% de la population mondiale. La rhinite allergique est très souvent associée à de l'asthme.[17 55 56]

2.4.3 L'asthme allergique

L'asthme allergique est une maladie respiratoire chronique caractérisée par une inflammation des voies aériennes. Cette inflammation suit l'inhalation de faibles quantités d'allergènes auxquels les malades sont sensibilisés et sera responsable d'une hyperactivité bronchique, d'une hypersécrétion de mucus et d'un remodelage broncho-pulmonaire.

L'hyperactivité bronchique correspond à une tendance des bronches à réagir de façon plus importante, pour un seuil de réactivité plus faible. Le remodelage broncho-pulmonaire va se caractériser par une hypertrophie des muscles lisses, un épaississement de la membrane basale et une hyperplasie des cellules à mucus. La muqueuse bronchique va subir l'infiltration de cellules inflammatoires

(éosinophiles, basophiles, mastocytes, LT). Les syndromes de l'asthme allergique se traduisent par de la toux, une dyspnée et une sensation d'oppression thoracique consécutive à l'obstruction bronchique.

L'asthme allergique correspond à 60% des cas d'asthme. Les cas d'asthme non allergique sont consécutifs à une exposition à un irritant chimique, de la fumée, inhalation d'air froid ou certaines conditions particulières (exercice physique, infection des voies respiratoires, etc.). Les allergènes dits « domestiques » comme les acariens, les phanères d'animaux ou les blattes sont la cause principale d'asthme allergique chronique.[6] [57]

2.4.4 La dermatite atopique

La dermatite atopique ou eczéma allergique est une affection inflammatoire chronique de la peau associée à une hyperréactivité cutanée. Elle se caractérise par des lésions sèches, squameuses et très prurigineuses infiltrées par des LT, des basophiles, des éosinophiles, des mastocytes et des macrophages. Elle affecte 3 à 5% de la population et concerne environ un enfant sur 10 avant l'âge de 10 ans. La dermatite atopique s'améliore spontanément avant l'adolescence dans environ 3 cas sur 4. Les lésions aiguës se caractérisent par des papules érythémateuses avec une infiltration importante de LTh2 et de macrophages alors que les lésions chroniques sont caractérisées par une hyperkératose et un infiltrat important de LTh1 avec une production importante d'IFNγ et d'IL-12.[6] [58]

2.4.5 Les allergies alimentaires

Lors d'une allergie alimentaire, l'allergène ingéré va pénétrer dans l'épithélium muqueux du tractus gastro-intestinal et y provoquer la dégranulation des mastocytes. Cela va être à l'origine de vomissements et des douleurs abdominales dues à la contraction des muscles lisses et des diarrhées dues à la sécrétion de mucus pas l'épithélium intestinal. Le contact de l'allergène avec les muqueuses orales et respiratoires pourra entraîner des gonflements de la langue et des lèvres et des troubles respiratoires. Les allergènes alimentaires peuvent aussi être absorbés dans la circulation sanguine et disséminés dans les tissus causant des urticaires, des démangeaisons et de l'eczéma.[20]

Ces symptômes surviennent dans les 30 minutes suivant l'ingestion de l'aliment. Les allergies alimentaires sont la première cause de décès par choc anaphylactique et peuvent être provoquées par des traces d'allergènes « contaminant » un autre aliment, lors de sa fabrication par exemple.[59] Plus de 12% des enfants présenteraient une allergie à au moins un aliment, ce qui ferait de l'allergie alimentaire la maladie chronique la plus commune de l'enfance.[60]

2.5 Diagnostic de l'hypersensibilité de type I

Le diagnostic de l'allergie va se baser sur l'interrogatoire du patient, un examen clinique, des tests cutanés et éventuellement des tests sériques.

L'interrogatoire du patient va permettre la mise en évidence des symptômes (leur intensité et leur chronologie), des éléments évocateurs d'une origine allergique, des antécédents familiaux et les facteurs déclenchants.
L'examen clinique consiste en une auscultation générale (poids, tension artérielle, etc.), et une auscultation des organes touchés (sphère ORL, poumons, etc.).
Suite à l'examen clinique, des signes évocateurs d'une allergie vont pousser le praticien à réaliser des tests cutanés et sériques. Le test cutané le plus couramment utilisé est le prick-test. La technique du prick-test consiste à réaliser une provocation allergénique par une micro-piqûre à travers une goutte de solution d'extrait allergénique préalablement déposée sur la face antérieure de l'avant-bras. L'allergène est donc amené ainsi dans le derme superficiel au contact des mastocytes et des basophiles. Chez un patient sensibilisé à cet allergène, le contact de l'allergène avec les IgE fixés à la surface de ces cellules va déclencher la libération de médiateurs pro-inflammatoires, se traduisant par un œdème, un érythème et un prurit. On réalise dans les mêmes conditions un test de contrôle négatif (eau physiologique) et un test de contrôle positif (solution de chlorhydrate d'histamine). La lecture des résultats se fait 20 minutes après l'exécution du test. Un test positif correspond à l'apparition d'une papule de diamètre supérieur à 3 mm ou supérieur à 50% de la papule induite par le témoin positif. Le diamètre des papules doit être supérieur à 3 mm pour le témoin positif et inférieur à 3 mm pour le témoin négatif.[61]
En cas de doute sur le diagnostic ou si les tests cutanés ne sont pas réalisables, on réalise alors un dosage sérique des IgE.[19] [62] Les IgE spécifiques de l'allergène étaient dosés par un test appelé *Radio Allergo Sorbent Test* (RAST), qui fut largement abandonné à partir de 2010 pour le test ELISA (*Enzyme Linked Immunosorben Assay*), plus sensible.[63]

L'utilisation aujourd'hui d'allergènes recombinants pour les tests cutanés et sériques au lieu d'extraits allergéniques permet d'affiner la spécificité des résultats et donc permet d'adapter spécifiquement le traitement. En effet, un extrait allergénique peut contenir une multitude d'allergènes différents majeurs et mineurs alors que l'utilisation d'allergènes recombinants ne ciblera le test que sur un allergène.[64]

3 L'immunothérapie allergénique

3.1 Définition

L'ITA consiste à administrer de manière répétée, le ou les allergènes responsables de l'allergie afin d'induire une tolérance spécifique à ce ou ces allergènes, préalablement identifiés. Le traitement consistera donc à l'administration répétée de doses croissantes d'un composé allergénique jusqu'à atteindre une dose optimale à laquelle on observe une amélioration des symptômes provoqués par l'exposition à l'allergène.[65]

Le concept d'ITA se base sur les travaux des docteurs Leonard Noon et John Freeman, chercheurs à l'hôpital Sainte Mary de Londres, qui furent publiés en 1911 dans *The Lancet*. [66] [67] Noon et Freeman furent les premiers chercheurs à tester une inoculation en sous cutané d'une dilution de pollen de graminées sur une cohorte de patients en traitement du rhume des foins.

3.2 Voies d'administration

L'ITA est aujourd'hui administrée de deux manières : par voie sous-cutanée (SCIT) ou par voie sublinguale (SLIT). La SCIT est la voie « historique » de l'ITA et est utilisée depuis 1930. En 1986, la voie sublinguale est proposée en alternative [68] et s'imposera comme la voie la plus courante, tout d'abord sous la forme de gouttes sublinguales puis de comprimés.[69] La SLIT a permis, entre autres, de proposer une alternative non invasive à la SCIT et à ses EI tels que des réactions anaphylactiques, rares mais potentiellement graves.[70] Certains allergènes comme les pollens peuvent être délivrés par les deux voies, mais d'autres comme les venins ne peuvent être délivrés que par voie sous-cutanée pour mimer la voie naturelle de pénétration de l'allergène dans l'organisme.[71]

3.3 Indications et contre-indications

D'après l'ARIA *Guideline*, l'ITA est indiquée dans le traitement des rhinites allergiques et de l'asthme allergique dans certaines conditions (Fig. 5 et 6), ainsi que dans les allergies respiratoires et aux venins dépendantes des IgE.[72] L'ITA est indiquée chez des patients :

- âgés de plus de 5 ans,
- souffrant d'allergies aux pneumallergènes, aux moisissures et aux venins d'hyménoptères,
- présentant une rhinoconjonctivite ou un asthme,
- dont les symptômes sont insuffisamment contrôlés par les traitements pharmacologiques,
- ne supportant pas les traitements pharmacologiques,
- (dans le cas de la SLIT) présentant des réactions systémiques après une SCIT ou refusant les injections.

L'ITA est contre- indiquée de manière absolue dans les cas suivant :

- Présence d'une maladie immunologique, cardiovasculaire (excepté pour l'ITA spécifique contre les venins), infection chronique.
- Asthme sévère et/ou non contrôlé par des traitements pharmacologiques.
- Traitement par des β-bloquants.
- Problèmes psychologiques sévères.

Il n'existe aujourd'hui pas d'ITA commercialisé, indiqué dans les allergies alimentaires et l'eczéma atopique d'origine allergique.[73] [74]

Les stratégies de prise en charge de l'allergie sont, en premier lieu, l'éviction du ou des allergènes causant les symptômes, associée à des traitements pharmacologiques symptomatiques de première intention (antihistaminiques, antileucotriènes, corticoïdes). L'immunothérapie allergénique spécifique intervient dans ce schéma thérapeutique comme traitement étiologique. Il peut être prescrit en synergie avec les traitements pharmacologiques.[3] [75]

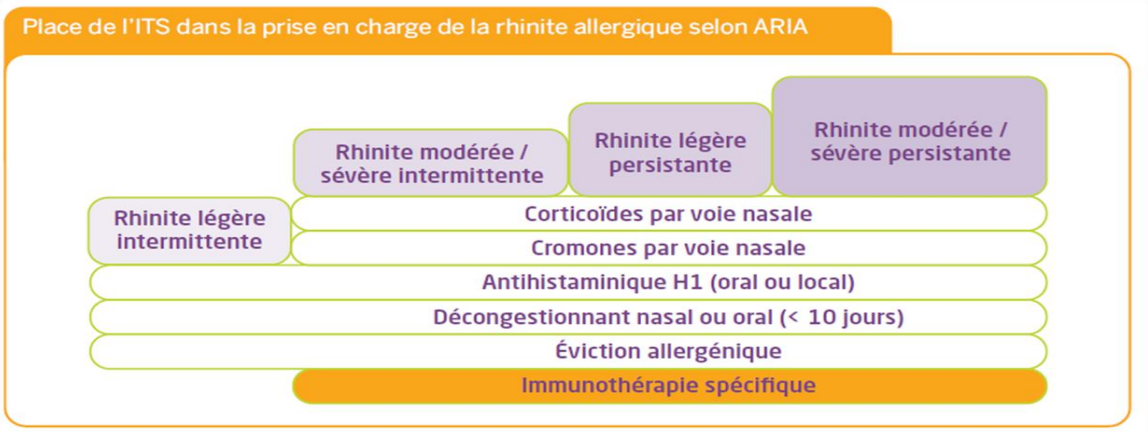


Figure 5. Indications de l'ITA dans la rhinite allergique (d'après [3]).

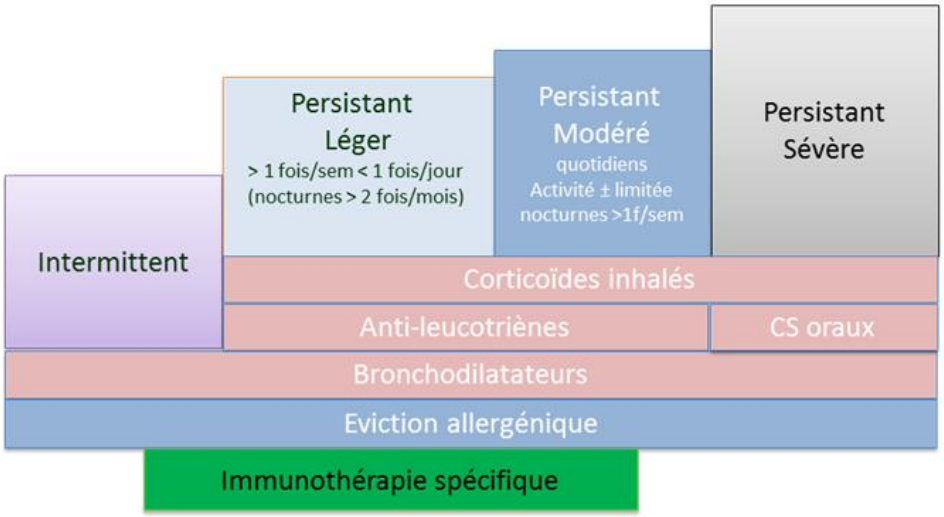


Figure 6. Indications de l'ITA dans l'asthme allergique (d'après [75]).

3.4 Conduite du traitement

La posologie ne varie pas en fonction de l'âge, mais elle doit être adaptée en fonction de la réactivité propre à chaque individu.

Les protocoles d'administration des différentes ITA, qu'elles soient sous forme de comprimés sublinguaux, d'une solution sublinguale ou d'injections sous-cutanées se décomposent en deux phases :

- Une phase d'initiation avec une augmentation de dose progressive, jusqu'à atteindre la dose maximale la mieux tolérée par le patient. Cette phase dure environ 10 jours.
- Une phase de maintenance plus ou moins longue qui consiste à administrer à intervalles réguliers la dose maximale tolérée par le patient à la fin de la phase d'initiation.

Les traitements saisonniers qui concernent les allergènes saisonniers doivent être initiés environ 2 à 4 mois avant le début estimé de la saison pollinique et poursuivis jusqu'à sa fin. Ils doivent être reproduits sur 3 à 5 ans si une amélioration significative des symptômes est observée la première année. Pour les allergies perannuelles, le traitement sera maintenu tout au long de l'année.

Pour les SLIT, la prise du traitement est le plus souvent journalière, durant la montée de dose comme pour la phase de maintenance. Les gouttes ou les comprimés sublinguaux doivent être pris le matin à jeun, conservés 2 minutes sous la langue, puis déglutis. Concernant les SCIT, les injections sont le plus souvent hebdomadaires durant la phase d'initiation (3 à 6 mois) puis sont espacées de 2, 3 ou 4 semaines (maximum 6 semaines) en phase d'entretien.[10 73 74]

3.5 Efficacité et sécurité

L'évaluation de la sécurité et de l'efficacité de l'ITA repose essentiellement sur l'observation des paramètres cliniques.

3.5.1 Efficacité

Des méta-analyses d'études cliniques récentes en double aveugle, contre placebo, ont montré dans leurs résultats que les ITA par les voies SCIT et SLIT améliorent les symptômes de la rhinite allergique et de l'asthme allergique tout en permettant de réduire l'utilisation de traitements symptomatiques. Ces résultats ont été confirmés par une revue sur l'efficacité et la sécurité des ITA conduite par la *Food and Drugs Administration* (FDA).[76] Des études montrent également que l'ITA améliore la qualité de vie des patients par la réduction des symptômes de l'allergie, réduit l'augmentation saisonnière des IgE, prévient la progression de la rhinite allergique en asthme et prévient les nouvelles sensibilisations à de nouveaux allergènes.[36] Les effets cliniques semblent persister après l'arrêt de l'ITA. Plusieurs études montrent également une amélioration des symptômes chez les patients atteints de dermatite atopique et traités par ITA, bien que ces résultats semblent remis en cause dans d'autres études.[72] [73] [74]

3.5.2 Sécurité

Les EI dus aux traitements d'ITA peuvent être des EI locaux ou systémiques.
L'incidence de la survenue d'EI et leur sévérité varie en fonction des études et semble avoir une corrélation avec la maladie allergique du patient, la dose administrée, la conduite du traitement (normal ou en « accéléré » avec une réduction du temps entre les prises) et le ou les allergènes utilisés, bien que cela soit encore débattu.

3.5.2.1 Traitements SLIT

Des réactions locales apparaissent chez plus de 75% des patients traités par SLIT. Les EI locaux les plus couramment décrits dans les études cliniques sont des démangeaisons, un gonflement ou une sensation de brûlure sous la langue, des nausées ou des douleurs intestinales. Ils sont cependant bien tolérés, ne nécessitent pas de modifications du traitement et se résolvent spontanément sans traitements correcteurs. De nombreuses études ont rapporté que la majorité des EI locaux apparaissaient en début de traitement, durant la phase initiale.
Des cas d'EI systémiques comme de l'asthme ou de l'urticaire ont été rapportés. Ses réactions semblent dépendre de la dose et de l'allergène. Des études cliniques et de pharmacovigilance ont montré un taux très bas d'EI systémiques et aucun EI engageant le pronostic vital.[72] [74] [77]

3.5.2.2 Traitements SCIT

Les réactions locales apparaissent chez plus de 82% des patients traités par SCIT. Les EI locaux les plus fréquemment décrits sont : un érythème, un prurit ou un gonflement au point d'injection. L'incidence de réactions systémiques graves avec un traitement SCIT concerne 0.1% à 0.2% des injections et 2% à 5% des patients traités. Le principal risque d'EI grave pouvant être provoqué par le traitement SCIT est le risque d'une réaction anaphylactique. La SCIT doit donc être injectée par ou sous la supervision d'un médecin qui pourra reconnaître les symptômes de l'anaphylaxie et administrer un traitement d'urgence.[72 73 77]

3.6 Production et standardisation des allergènes

La préparation d'un traitement d'ITA va nécessiter la préparation d'extraits allergéniques. Un extrait allergénique correspond à la préparation d'un allergène par extraction des constituants actifs de substances animales ou végétales à l'aide d'un milieu adéquat. Ces extraits allergéniques sont standardisés, c'est-à-dire produits selon des méthodes qui garantissent une reproductibilité lot après lot de leur activité biologique. Ils doivent posséder une composition et une concentration constante et reproductible.[10]
La matière première à partir de laquelle sera extrait le principe actif est d'origine biologique. Ces matières doivent provenir de sources choisies. Il existe des instructions précises pour leur récolte, leur stockage, leur extraction, leur purification, leur concentration et leur conservation.[75]

La standardisation est basée sur la comparaison des extraits produits avec un étalon, pour chaque allergène. Cet étalon peut être une préparation de référence internationale, nationale ou interne au laboratoire fabriquant. En pratique, la préparation de référence interne (PRI) est la plus utilisée en Europe.

En France, l'activité allergénique de cette référence est calibrée par un test cutané *in vivo*, après que celle-ci ait été préalablement caractérisée sur le plan biochimique et immunologique. Cet indice est exprimé en indice de réactivité par millilitres (IR/mL). Il a été mis en place en France mais il existe d'autres unités non comparables. Les extraits de références sont testés par test cutané: utilisé selon la technique du prick-test chez 30 sujets sensibilisés à l'allergène, ils doivent provoquer l'apparition d'une papule d'un diamètre moyen déterminé.[78]

Les extraits à usages diagnostiques et thérapeutiques et les PRI subissent une standardisation *in vitro* au cours de laquelle ils sont comparés par des techniques qualitatives et quantitatives à la référence. Le but est d'obtenir des extraits allergéniques de puissance allergénique constante d'un lot à l'autre.

Les techniques qualitatives vont permettre de déterminer la composition protéique et allergénique de l'extrait. Elles consistent en des techniques d'identification physico-chimiques et immunochimiques, comme l'isoelectrofocalisation, l'immunoempreinte (Western-Blot) et l'électrophorèse en gel de

polyacrylamide en milieu dénaturant (SDS-PAGE), par exemple. Ces méthodes sont utilisées pour la caractérisation du PRI avant l'étape de standardisation *in vivo* et certaines en contrôle de routine.[19]

Les techniques quantitatives vont permettre de déterminer la concentration en protéines totales, ainsi que la puissance allergénique relative, par comparaison avec la PRI. On pourra doser les protéines totales, l'activité enzymatique ou doser les allergènes par des techniques immunologiques. La puissance relative d'un extrait est déterminée par rapport à la PRI à l'aide de méthodes d'inhibition d'IgE spécifiques humaines contenues dans des pools de sérums de patients sensibilisés. La technique ELISA inhibition est la plus fréquemment utilisée. [19]

Aux Etats Unis, le *Center for Biologics Evaluation and Research* (CBER) de la FDA, a mis en place un programme de standardisation des allergènes entre les fabricants, basés sur l'évaluation de la puissance allergénique par comparaison avec une référence établie par le CBER et une caractérisation *in vitro* par des techniques immunochimiques.[19 52 79]

Malgré ces étapes de standardisation, l'origine biologique des allergènes va être à l'origine de variabilités quant à leur contenu en molécules allergéniques, sur le plan quantitatif et qualitatif.
Les extraits vont contenir des impuretés qu'il faudra éliminer. Par exemple, dans les pollens, la présence d'éléments étrangers (spores, débris), de pollens étrangers, de métaux lourds ou de pesticides est possible. La teneur en allergènes va aussi dépendre des procédés d'extraction et de préparation. Par exemple, pour les extraits allergéniques d'acariens, la teneur en allergènes majeurs peut être très variable selon qu'ils sont préparés à partir du milieu de culture des acariens ou des corps de ceux-ci.[80]
Les sources allergéniques sont soumises à des variations et à des influences diverses. Par exemple pour les pollens, le climat, l'environnement, le mode de culture ou les modes de prélèvement peuvent influencer la qualité des extraits.[78 81] En ce qui concerne la récolte des phanères, les différentes races chez une même espèce, le mode et la région de rasage sur l'animal, ou le sexe de l'animal pourra avoir une influence.[19] Les allergènes naturels, même purifiés, vont être caractérisés par un polymorphisme important sur le plan moléculaire et de leurs modifications post-traductionnelles.[80]

3.7 Statut réglementaire actuel : une médecine personnalisée

En Europe, les « produits allergènes » sont décrits par la directive 2001/83/CE de la législation européenne, comme « tout médicament destiné à identifier ou provoquer une modification spécifique at acquise de la réponse immunologique à un agent allergisant ». D'un point de vue réglementaire, il existe deux types de produits allergènes:

- La spécialité pharmaceutique à laquelle s'applique la directive 2001/83/CE et qui nécessite une autorisation de mise sur le marché (AMM).
- Les allergènes préparés spécialement pour un individu (APSI) utilisés pour le diagnostic et le traitement et qui sont régulés indépendamment par chaque état.

Il n'existe pas en Europe ou au niveau mondial d'harmonisation pour l'enregistrement des APSI. Cette absence d'harmonisation règlementaire va se manifester par des procédures d'enregistrement

spécifiques à chaque pays. Les différents documents pertinents au développement des traitements d'ITA sont présentés en Annexe 1.

En France, la préparation et la délivrance des APSI nécessitent une autorisation préalable de l'Agence Nationale de la Santé et du Médicament (ANSM) d'après l'article L.4211-6 du code de la santé publique. Cette autorisation est renouvelable périodiquement tous les 5 ans. Les APSI sont régis par le décret du 23 février 2004 et n'ont pas le statut de spécialités pharmaceutiques. Cela est justifié par le nombre important de sources allergéniques potentielles et la variabilité des profils de sensibilisation des patients, souvent polysensibilisés (sensibles à plusieurs allergènes), dont l'approche thérapeutique individuelle, au cas par cas, est indispensable.

En France, les spécialités pharmaceutiques et les APSI commercialisés sont développés et fabriqués par deux laboratoires : Stallergenes Greer et ALK Abello. Les spécialités pharmaceutiques se présentent sous la forme de traitements SCIT ou SLIT (gouttes sublinguales ou comprimés). Les APSI se présentent sous la forme de traitements SCIT ou SLIT uniquement en solutions sublinguales.
Il est exigé par décret aux fabricants, de fournir la liste des préparations mères d'allergènes utilisées pour la préparation des APSI. Ceux-ci sont fabriqués selon la formule prescrite par le médecin. En effet, les APSI sont délivrés directement aux patients par le laboratoire et sont préparés et conditionnés à la demande, par prescription nominative. Ils peuvent également être vendus en pharmacie dans certains pays d'Europe. Pour chaque préparation mère, un dossier technique décrivant les spécifications, les conditions et les méthodes de fabrication, de contrôle et de stockage, ainsi que les données toxicologiques et pharmacologiques est fourni.[82] [83]

Aux Etats-Unis, la formulation des APSI est réalisée par l'allergologue. Alors que 45% des traitements ITA en Europe sont des SLIT, ceux-ci sont beaucoup moins prescrits aux Etats-Unis car leur formulation n'est actuellement pas approuvée par la FDA.

3.8 Mécanismes d'action connus

Le but des traitements d'ITA est d'induire une tolérance immunologique. La tolérance immunitaire se définit comme l'ensemble des mécanismes permettant d'inhiber une réponse immune vis-à-vis d'un antigène spécifique de l'environnement ou du soi ou de reprogrammer des réponses immunitaires pathologiques. Cette tolérance agit au niveau central et périphérique.
Au niveau central, elle permet aux cellules de l'immunité adaptative, les LT et les LB de différencier le soi du non-soi durant leur développement, qui a lieu respectivement, dans le thymus et dans la moelle osseuse. Elle va inclure, par exemple, la destruction des LT auto-réactifs durant leur développement dans le thymus en faisant intervenir un mécanisme de sélection négative ou des LTrég.[84] [85]
La tolérance périphérique se met en place par différents mécanismes incluant l'anergie, la délétion clonale, l'ignorance des LT et la régulation immune, lorsque les LT et les LB sont en maturation dans

les organes lymphoïdes secondaires ou dans les tissus.[86] C'est cette tolérance périphérique que l'on cherchera à induire avec l'ITA.
L'anergie est décrite comme l'incapacité d'un LTh CD4+ à répondre fonctionnellement à l'antigène pour lequel il est spécifique. L'anergie pourrait résulter de la perte de l'expression du TCR lorsque les LT sont activés *via* celui-ci en l'absence de molécules de costimulation.[87]
La délétion clonale consiste en la mort par apoptose d'un ou des clones de lymphocytes spécifiques de l'antigène en question.
L'ignorance des LT correspond à la cohabitation des LT naïfs et de leur antigène cible dans les tissus périphériques. L'allergène spécifique est alors présenté en trop faible quantité pour activer les LT. Cette ignorance peut être également due à une faible affinité des TCR des LT pour les complexes peptide allergénique-CMH.[88]
La régulation immune va être induite par des mécanismes adaptatifs impliquant des LTrég.[9 32 36]

Les effets immunologiques de l'ITA sur les mécanismes de l'allergie ont été étudiés dans de très nombreuses publications et n'ont pas été complétement définis. On note une divergence dans les observations, probablement à cause de l'utilisation d'allergènes différents, de protocoles différents ou de voies d'administrations différentes.[36]

3.8.1 Rôles des cellules dendritiques et effet de l'immunothérapie

Quelle que soit la voie d'administration utilisée, l'allergène contenu dans le traitement est capté par les CPA selon le même processus que celui qui permet la mise en place d'une réponse immune spécifique. Les CD vont alors jouer un rôle essentiel.

Il existe plusieurs sous-types de CDs que l'on peut classer en fonction de leur localisation. On distingue, dans le sang circulant, deux types principaux de CD immatures:

- Les CD myéloïdes (mCD), synthétisant de l'IL-12 et de l'IL-6.
- Les CD plasmacytoïdes (pCD), synthétisant l'IFNα.[89]

On trouvera au niveau tissulaire, les cellules de Langerhans et les CD des muqueuses.[90]

Les CD sont capables d'exprimer des molécules de costimulation et de sécréter des cytokines capables de réguler la réponse T ou d'influencer la différenciation des LTh.[90]
Par exemple, la molécule de costimulation *Inducible Costimulator Ligand* (ICOS-L) exprimée par les CD va agir sur les LT sur leurs récepteur *Inducible Costimulator* (ICOS) et va stabiliser leurs récepteurs à l'IL-10. Cela va rendre les LT plus sensibles aux effets de cette cytokine immunosuppressive.[91] Des études récentes montrent que ICOS-L serait moins exprimé par les mCD des individus allergiques. Le ligand du *Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 4* l'OX40 (OX40-L) est aussi une molécule de costimulation présente à la surface des mCD. Sa liaison à OX40, exprimé par les LTh naïfs, polarise ceux-ci vers un phénotype Th2.[89]

De plus, le phénotype des CD serait également modifié chez les patients souffrant de rhinite allergique et d'asthme allergique, avec une expression accrue du récepteur FcƐRI à leur surface.[92]

Les CD vont sécréter des cytokines qui vont influencer la différenciation des LTh :

- l'IL-12 va conduire à une réponse de type Th1,
- l'IL-10 et le TGF-β pourront conduire à une réponse de type LTrég,
- l'IL-13, l'IL-5, l'IL-6 et le TNFα pourront induire une différentiation de type Th2.[93]

Les causes de la polarisation Th2 induite par les CD chez les personnes atopiques sont mal connues mais mettraient en cause des cytokines pro-inflammatoires produites par l'épithélium respiratoire en réponse à l'exposition aux allergènes, comme le GM-CSF, l'IL-25, l'IL-33 ou le *Thymic Stromal Pymphopoietin* (TSLP) qui seraient responsables de l'activation et de l'orientation inflammatoire des CD qui polarisent ensuite les LTh naïfs vers un phénotype de type Th2.[93]

Une équipe étudiant l'effet des traitements SCIT et oraux (OIT) sur les CD pour des allergènes du lait de vache a observé une réduction de la production d'IL-6 par les mCD et une augmentation de la synthèse d'IFNα par les pCD chez les patients allergiques traités. L'IFNα est une cytokine inhibant l'induction de la réponse Th2.[89] Ces résultats ont été corrélés avec l'apparition d'une tolérance.[94]
L'ITA active également l'induction de CD tolérogènes. Une CD tolérogène va induire une réponse de tolérance par rapport à l'allergène rencontré et synthétiser de l'IL-10, dont le rôle important dans l'induction d'une tolérance immunitaire sera résumé plus loin. Il a été démontré que les CD tolérogènes immatures ou partiellement matures peuvent entraîner une tolérance périphérique en induisant la différenciation des LTrég. Ils peuvent aussi induire la délétion clonale des LT ou la réduction de l'expression des ligands des molécules de costimulation à la surface des CD. Les LTrég induits peuvent ainsi, à leur tour, réprimer les CD pro-inflammatoires. Les CD vont également montrer une réduction de leur capacité de présentation de l'allergène aux LT.[28] [27]

3.8.2 Effet de l'immunothérapie sur les LT

3.8.2.1 Effet de l'immunothérapie sur les LTh CD4+

De nombreuses études mettent en corrélation l'induction d'une tolérance immunitaire spécifique à un allergène suite à un traitement d'ITA avec une augmentation du taux et de l'activation des LTrég et des LTh1 (dans une moindre mesure) et la réduction des taux et des fonctions des LTh2. Cette réorientation est observable dès la première semaine de traitement.[27]
Cela va donc diminuer la production des cytokines Th2, ce qui va contribuer à entraîner une baisse de la production d'IgE au profit des IgG et les IgA. Ce changement va également induire l'inhibition de l'activation des mastocytes, des éosinophiles et des basophiles qui sont dépendants des cytokines Th2.[95]

3.8.2.1 Effet de l'immunothérapie sur les LTrég

L'induction de la tolérance périphérique lors d'un traitement d'ITA va être caractérisée par la génération de LTrég spécifiques de l'allergène et par la sécrétion de deux cytokines par ces cellules : l'IL-10 et le TGF-β. Les LTrég sont en partie induits par l'action de ces mêmes cytokines créant ainsi, un rétrocontrôle positif.[28]

Il existe plusieurs populations de LTrég, classées en fonction de leurs origines, de leurs phénotypes et de leurs mécanismes d'action (Tableau 3). On distinguera les LTrég naturels (nLTrég), présents naturellement dans le thymus et ceux présents en périphérie et induits à partir de LTh naïfs suite à une rencontre avec l'allergène (LTr1, LTr3 et les LTr CD8+).
Les nLTrég représentent 5 à 10% des LTh CD4+ présents dans le sang périphérique. Ils sont produits dans le thymus mais leur synthèse peut également être induite dans le sang périphérique par une exposition à un allergène ou une stimulation des LTrég CD4+ CD25- par le TGF-β. Ils expriment le *forkhead/winged helix transcription factor Fox 3* (Foxp3) qui peut également être activé par le TGF-β [28] et qui joue un rôle dans leurs fonctions régulatrices. Plusieurs études ont démontré que la déplétion des nLTrég chez un modèle murin asthmatique augmente l'hyperréactivité bronchique, l'éosinophilie, le taux d'IgE et la sécrétion de cytokines de type Th2.[96] Au cours d'un traitement d'ITA, leur nombre augmente dans les muqueuses nasales, ce qui serait corrélé à l'amélioration des symptômes cliniques.[97]
Les LTr1 produisent du TGF-β et surtout de l'IL-10 en quantités importantes. Leurs taux sont importants chez les patients non atopiques [28] et ils représentent le sous-type de LTrég le plus induit lors d'une ITA.[26] Ils sembleraient avoir un rôle majeur dans l'ITA. En effet, durant un traitement ITA, on observe une augmentation importante *in vivo* des LTr1, associés à une réduction des symptômes.[28]
Les LTr3, impliqués dans l'induction de la tolérance orale produisent des hauts niveaux de TGF-β.[29] En plus de leur rôle dans la suppression des réponses Th1 et Th2, ils joueraient un rôle dans la commutation de classe en faveur des IgA.[98]
L'action immunosuppressive des LTr CD8+ a été étudiée et jouerait également un rôle dans la tolérance orale.[99]

Les LTrég expriment à leur surface des corécepteurs capables d'induire des signaux d'inhibition. Ces corécepteurs vont aussi permettre la régulation des LTrég par les CD et plus largement, par les CPA. On trouve parmi ces corécepteurs : le *Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4* (CTLA-4), le *Programmed cell Death 1* (PD-1) et ICOS.[100]

CTLA-4 a pour ligands CD80 et CD86 qui sont exprimés sur les CPA. CTLA-4 est exprimé constitutivement par les LTrég et par les autres LT, après activation. Il se lie à ses ligands avec une plus grande affinité que le récepteur CD28, présent sur les LT et qui est un récepteur activateur.[101] Après fixation sur ses ligands, CTLA-4 induit un signal suppresseur des fonctions des LTrég en inhibant le signal transduit par le TCR. Ainsi, il permet d'atténuer l'activation des LTrég et permet de maintenir une tolérance périphérique. Il induit également la production d'indoleamine 2,3 dioxydase (IDO) par les CPA, qui est une enzyme limitante dans la voie de dégradation du tryptophane. L'augmentation du

catabolisme du tryptophane va induire l'arrêt de la prolifération et de l'activité lymphocytaire des LT naifs.[102] [103] Les souris déficientes en CTLA-4 développent des maladies auto-immunes lymphoprolifératives.[27]

PD-1 est un récepteur exprimé par les LT activés et a pour ligands PD-L1 et PD-L2, exprimés par les CPA. L'activation de PD-1 induit une réponse inhibitrice pour la cellule Trég aboutissant à un arrêt de la prolifération lymphocytaire et de la sécrétion de cytokines.[104]

ICOS a pour ligand ICOS-L, exprimés également sur les CPA. ICOS va jouer un rôle dans la différentiation des LT CD4+ naïfs en LTrég après contact d'ICOS situé sur les LT CD4+ naïfs avec ICOS-L situé sur les CD. [105]

Les LTrég sont soit activés par les CD, soit activés directement par contact avec les récepteurs exprimés par des cellules endothéliales ou d'autres LT.

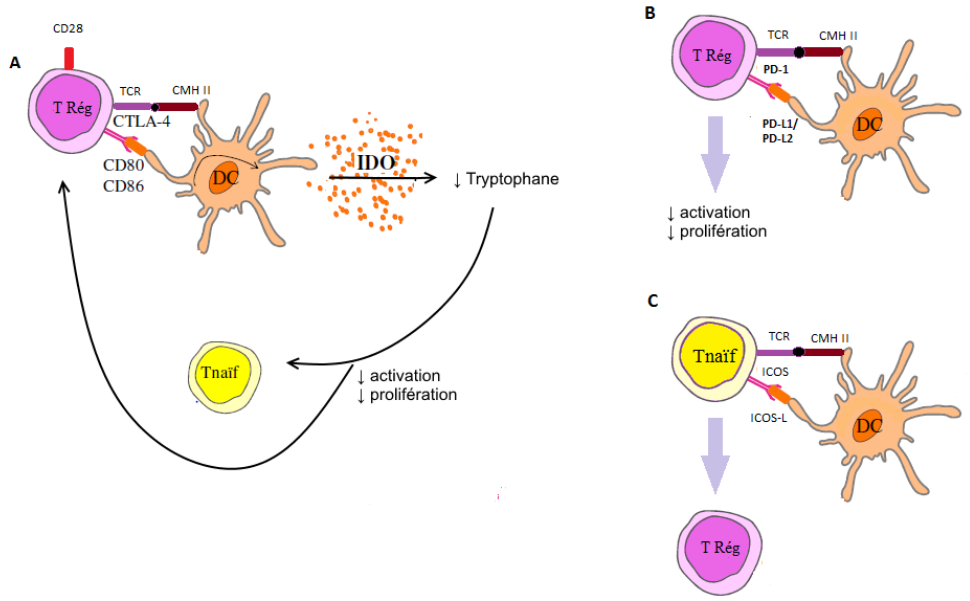


Figure 7. Les principaux corécepteurs des LTrég impliqués dans l'induction de la tolérance immunitaire périphérique. Après liaison sur leur ligand exprimé par les CPA, CTLA-4 (A) va entrainer la réduction de l'activation et de la prolifération des LTh naïfs et des LTrég, PD-1 (B) va également induire un signal suppressif des LTrég et ICOS (C) va avoir un rôle dans la différentiation des LTh CD4+ naïfs en en LTrég.

	LTrég naturels nLTrég	**LTrég inductibles Tr1**	**LTrég inductibles Th3**	**LTrég inductibles CD8+**

Phénotype	CD4+ CD25+ Foxp3+	CD4+ CD25+/-	CD4+	CD8+
Marqueurs membranaires **CTLA-4** **ICOS** **PD-1**	 +++ ++ +	 + ++ +	 ++ - -	 - - +
Cytokines sécrétées **IL-10** **TGF-β** **IFNγ**	 + + +	 ++++ ++ ++	 + ++++ +	 ++ + -
Actions suppressives et régulatrices *via*	Contact cellulaire IL-10 TGF-β	IL-10 TGF-β Contact cellulaire	TGF-β	IL-10
Facteurs d'induction / de différentiation	CD immatures ou tolérogènes TGF-β	CD immatures ou tolérogènes IL-10, IFN-α, IL-4	CD immatures ou tolérogènes TGF-β, IL-4, IL-10	?
Induction par ITA spécifique	++ (SCIT)	++++ (SCIT, SLIT)	+++ (SLIT), ITA orales	ITA orales

Tableau 3. Caractéristiques des différentes populations de LTrég (non exhaustif), (adapté de [29] [106]).

(++++ : Très important ; +++ : assez important ; ++ : peu important ; + : très peu important ; - : nul)

Les LTrég vont être capables de réguler la réponse immunitaire allergique en inhibant les lymphocytes Th1 et Th2 mais vont également cibler les CD, les mastocytes et les éosinophiles et vont réguler la sécrétion d'IgE spécifiques tout en induisant la synthèse d'IgG4 et d'IgA. Les nLTrég et LTr1, vont en particulier, jouer un rôle important dans l'induction de la tolérance *via* deux mécanismes : [106]

- Le contact cellulaire direct (prépondérant chez les nLTrég) mettant en jeu des molécules de surface comme le PD-1, le CTLA-4 ou OX40. Par exemple, ils vont inhiber la dégranulation des mastocytes par contact cellulaire via un mécanisme impliquant l'interaction entre OX40 et OX40L, situés respectivement à la surface des LTrég et des mastocytes.
- La production de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et le TGF-β va jouer un rôle important dans l'induction d'une tolérance immunitaire, notamment dans la répression des réponses Th2. Les fonctions de ces deux cytokines dans le contexte de l'ITA sont décrites dans le Tableau 4.[29]

L'IL-10 est une cytokine immunosuppressive connue pour être impliquée dans l'induction et le maintien de la tolérance. Par exemple, l'IL-10 produite par les LTrég va inhiber la production de GM-CSF et inhiber l'expression du CD40 chez les éosinophiles et induire leur mort cellulaire.[27] Il a été démontré que le taux d'IL-10 dans les fluides de lavage bronchoalvéolaires est moins important chez les sujets

asthmatiques que chez les sujets sains.[26] Elle est produite par les LTrég mais également par les LB, les monocytes, les macrophages et les CD.[95]
Le TGF-β va également tenir un rôle central, en tant que cytokine régulatrice dans l'induction d'une tolérance immunitaire. L'action induite par le TGF-β et l'IL-10 va ainsi permettre le contrôle de l'inflammation des voies aériennes.[27]

La synthèse d'IFNγ par les LTrég va également jouer un rôle important. En effet, Secrist *et al*., ont démontré que la stimulation *ex vivo* par un allergène induisait la production d'IFNγ chez des patients désensibilisés aux acariens ou aux graminées.[107] L'IFNγ va influer sur la réponse Th2 en diminuant la sécrétion d'IL-4 et d'IL-5, en diminuant la prolifération des cellules Th2, en induisant l'apoptose des éosinophiles, en induisant la synthèse des IgG et en inhibant le recrutement des cellules effectrices au site inflammatoire.[24]

Cellules	IL-10	TGF-β

CD immatures	Inhibe la maturation des CD, inhibe l'expression des ligands des molécules de costimulation à la surface des CD et inhibe l'expression du CMH II. Inhibe la capacité de présentation de l'antigène. Inhibe la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires.	Inhibe la maturation des CD. Inhibe la capacité de présentation de l'antigène.
LT	Inhibe la prolifération, la différentiation et les fonctions des LTh1 et des LTh2.	Inhibe la prolifération, la différentiation et les fonctions des LTh1 et des LTh2. Augmente l'expression du CTLA-4 sur les LTrég.
LB	Augmente la survie. Induit la commutation isotypique des LB en faveur des IgG (particulièrement des IgG4).	Induit la commutation isotypique des LB en faveur des IgA
IgE	Suppression des IgE spécifiques de l'allergène.	Suppression des IgE spécifiques de l'allergène.
nLTrég	Favorise le développement des LTrég.	Favorise le développement des LTrég par régulation positive de Foxp3.
LTr1	Favorise le développement des LTr1.	Promeut la synthèse d'IL-10.
Monocytes et macrophages	Inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires et la capacité de présentation de l'antigène.	Inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires et la capacité de présentation de l'antigène.
Eosinophiles	Inhibe la survie et la production de cytokines pro-inflammatoires.	Inhibe la survie et la prolifération
Mastocytes	Inhibe la survie et la production de cytokines pro-inflammatoires.	Inhibe la survie et la production de cytokines pro-inflammatoires.
Neutrophiles	Inhibe la production de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires.	Chimioattractant.
Basophiles	Inhibe la production de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires.	Inhibe la survie et la production de cytokines pro-inflammatoires.

Tableau 4. Fonctions de l'IL-10 et du TGF- β (adapté de [106 108 109 110 111]).

De nombreuses études récentes ont montré que l'ITA induisait la production de LTrég. De plus, l'activité de suppression et de régulation des LTrég induite au cours d'un traitement d'ITA seraient spécifiques

de l'allergène.[109] Cependant, le mécanisme d'action de ces lymphocytes est dépendant de facteurs solubles comme l'IL-10 et le TGF-β qui, eux, ne sont pas spécifiques d'un allergène. Cela pourrait expliquer que l'ITA spécifique génère une réponse spécifique de l'allergène mais aussi non spécifique, permettant de réduire le risque d'une nouvelle sensibilisation à un nouvel allergéne.[112]

De façon intéressante, des études suggèrent que les taux d'IL-10 (dosés après 5 à 7 jours de traitement) et de TGF-β (dosés après 1 an de traitement) soient proposés comme marqueurs biologiques potentiels du succès d'un traitement ITA.[108] Les différents mécanismes dans lesquels Les LTrég sont engagés sont résumés sur la figure 8.

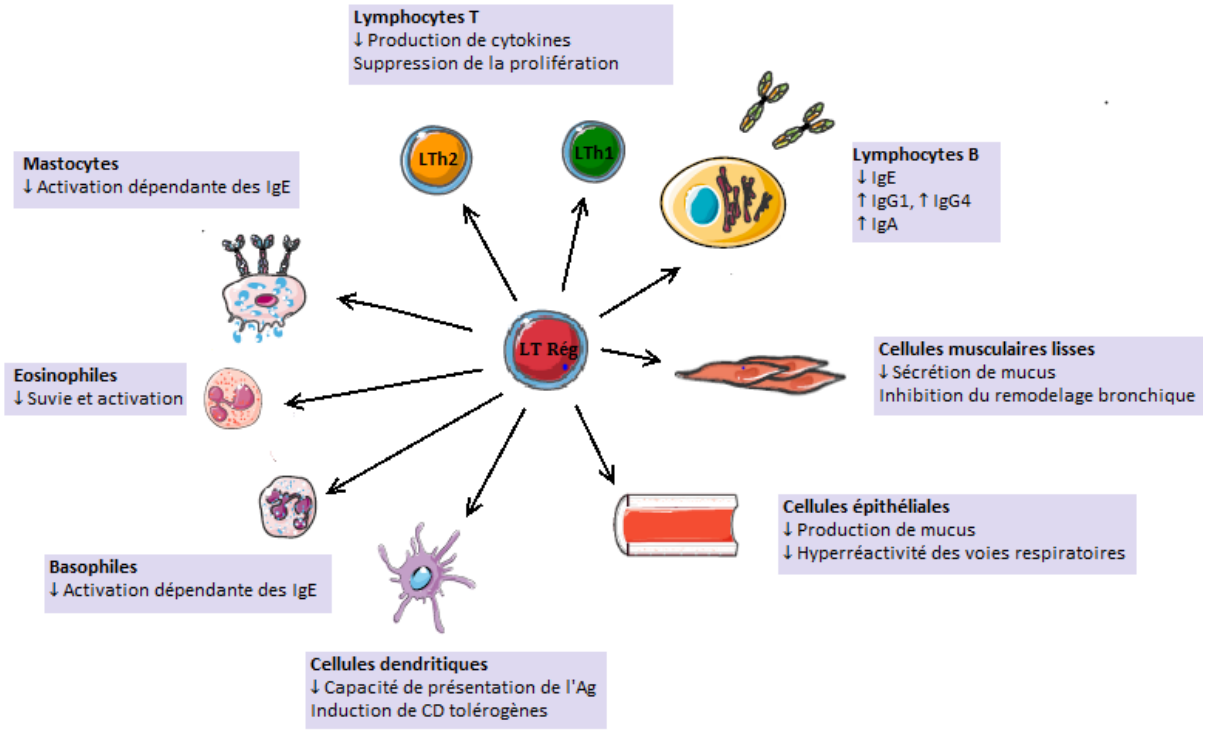


Figure 8. Rôle des LTrég dans le contrôle de l'allergie (adapté de [29]).

Les différentes populations de LTrég produisent l'IL-10 et le TGF-β. Leurs synthèses sont induites par l'ITA chez les individus atopiques et naturellement chez les individus sains. Ces cytokines vont induire l'augmentation de la synthèse d'IgG et d'IgA et l'inhibition de la synthèse d'IgE. Ils vont réduire le relargage de médiateurs de l'inflammation en inhibant l'activation des basophiles, des mastocytes et des éosinophiles. Ils vont également inhiber la production des cytokines produites par les LTh2 et les LTh1 et vont inhiber leur prolifération directement, par contact cellulaire et induire la formation de CD tolérogènes. Enfin, les LTrég inhibent la sécrétion de mucus, le remodelage bronchique et l'hyperréactivité des voies respiratoires.

(Ag : Antigène)

3.8.3 Effet de l'immunothérapie sur la réponse humorale

Au cours d'un traitement par ITA, une diminution progressive du taux d'IgE ou sont absence d'augmentation[113] est observée après une période d'augmentation initiale transitoire. Cette augmentation survient environ 1 semaine après le début du traitement et la diminution au bout de plusieurs mois.[27] Les traitements par ITA semblent également induire une augmentation des taux d'IgG4, d'IgG1 et d'IgA sériques, qui elles vont apparaitre dès la première semaine de traitement.[27 114 115]

L'ITA est également responsable d'une commutation des LB mémoires synthétisant des IgE en LB mémoires synthétisant des IgG1 et des IgG4, probablement par l'action de l'IL-10, du TGFβ et de l'IFNγ qui sont des cytokines connues pour entrainer ce type de commutation isotypique.[116]
L'augmentation du taux d'IgG, et particulièrement d'IgG4 spécifiques, dont le taux est multiplié par 10 à 100 dans le sérum, contribuerait à une réponse clinique positive *via* différents mécanismes :

- Ces anticorps, se fixent au fragment Fc des récepteurs FcγRIIb qui est un récepteur de faible affinité pour les IgG, exprimé par les LB, les basophiles et les mastocytes. L'activation de ce récepteur va induire un signal de d'inhibition de l'activation cellulaire et de la libération des médiateurs pro-inflammatoires.[27 29 117 118]
- Ces anticorps spécifiques sont des anticorps bloquants qui empêchent l'allergène de se fixer aux IgE spécifiques fixées à la surface des cellules effectrices et des CPA *via* les récepteurs FcƐRI et FcƐRII. Ce phénomène est un phénomène de compétition avec l'allergène. Ils entraînent donc une réduction de la dégranulation des basophiles et des mastocytes sensibilisés.[117 119]
- Des études ont également démontré que les IgG, et en particulier les IgG4 inhibaient la présentation de l'allergène par les LB, aux LT en inhibant la fixation des complexes allergènes-IgE sur les récepteurs FcƐRII à la surface des LB. Ainsi, cela induit l'inhibition de la prolifération des LT.[36 95 120]

Plusieurs publications attribuent aux lymphocytes B régulateurs (LBrég) un rôle important dans les traitements ITA en contribuant au maintien de la tolérance périphérique. Comme pour les LTrég, il existe plusieurs populations de LBrég. Les LBr1 produiraient une très grande quantité d'IL-10, inhiberaient la synthèse de cytokines pro-inflammatoires, aideraient à la différenciation des LTrég, possèderaient une fonction suppressive des LTh CD4+ et la capacité de produire spécifiquement des IgG4 et des IgA.[27 121]

3.8.1 Effet de l'immunothérapie allergénique sur les mastocytes, les basophiles, les éosinophiles, les neutrophiles et les monocytes

L'ITA prise au long terme est associée à une diminution significative des symptômes associés à la phase immédiate mais également à la phase retardée de la réaction allergique au niveau des muqueuses nasales, bronchiques et au niveau de la peau. On observe une réduction des symptômes spécifiques aux allergènes, mais également une réduction de l'hyperréactivité non spécifique des muqueuses nasales, bronchiques et conjonctivales.[26]

Plusieurs études ont démontré que l'ITA engendre une diminution de l'infiltration tissulaire et de l'activation de cellules inflammatoires suivantes : mastocytes, éosinophiles, basophiles et neutrophiles, dans la peau et les muqueuses (nasales, pulmonaires). Elle engendre également une diminution du relargage des médiateurs inflammatoires par ces cellules. [29] La réduction de l'activité de dégranulation des basophiles, des mastocytes et des éosinophiles est observable dès le premier jour de traitement. La réduction du nombre cellulaire de mastocytes et d'éosinophiles et de leurs médiateurs dans les muqueuses des patients allergiques est observable quelques mois après le début du traitement.[27]

Il a été démontré que durant une ITA SLIT au pollen de bouleau, le taux d'*Eosinophil cationic protein* (ECP), un marqueur de l'activation des éosinophiles dosé dans le plasma, était réduit ainsi que l'expression des molécules chémoattractantes des éosinophiles et des neutrophiles. Ces résultats sont associés à une réduction de l'hyperréactivité bronchique et à la réduction des symptômes cliniques. On observe également une réduction de l'augmentation saisonnière des éosinophiles.[26]
On observe également durant l'ITA, une augmentation de la synthèse de l'IL-12, une cytokine connue pour induire une différenciation Th1 des LT [122] et d'IL-10 [95] par les monocytes circulants.

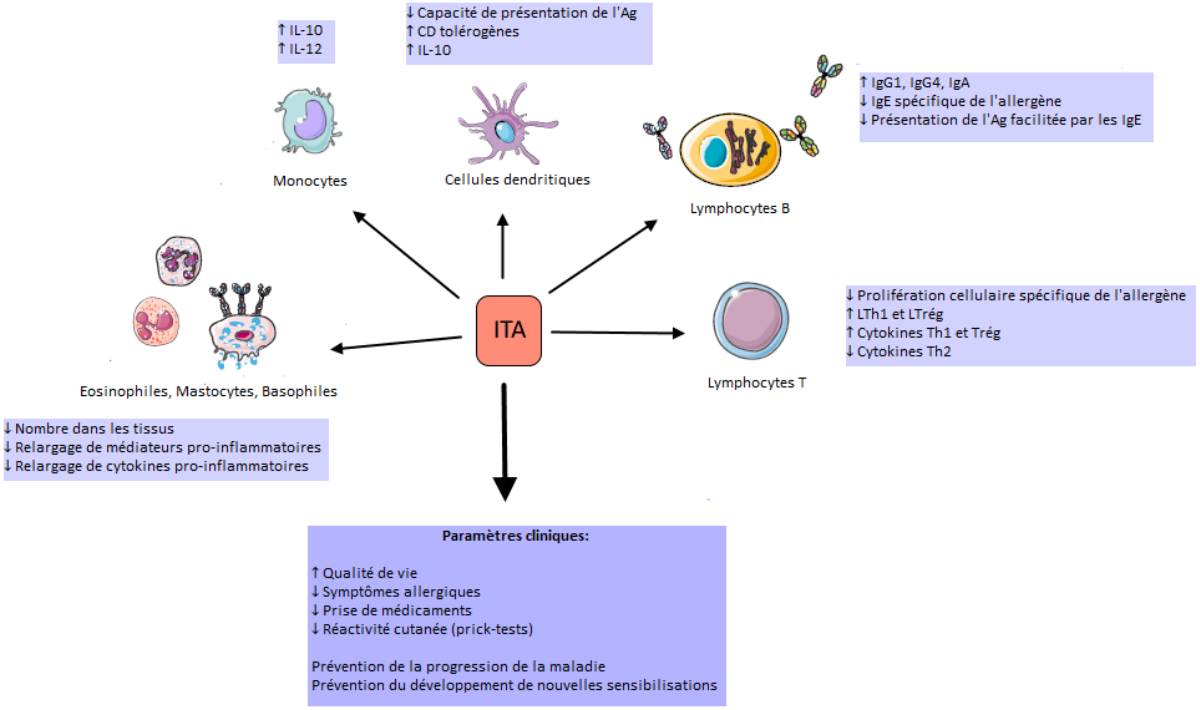


Figure 9. Effets de l'immunothérapie allergénique sur les paramètres immunologiques et cliniques de l'allergie.

L'ITA va influencer les réponses cellulaires et humorales dirigées contre l'allergène. Le nombre en LTh2 diminue, de même que la concentration des cytokines Th2, tandis que les LTh1, les LTrég et les concentrations de leurs cytokines respectives augmentent. Les concentrations en IL-10 et en TGF-β augmentent, ce qui va favoriser la commutation isotypique des LB pour la production d'IgG1, d'IgG4 et d'IgA. On observe une réduction du recrutement des éosinophiles, des neutrophiles et des basophiles dans les tissus, de même que le relargage de leurs médiateurs. Les symptômes cliniques sont diminués durablement durant et à l'issue du traitement.

4 NOUVELLES APPROCHES THERAPEUTIQUES

Malgré leur succès, les traitements d'ITA nécessitent encore des améliorations. Les réponses apportées à ses différents axes d'amélioration feront l'objet de la dernière partie de cette thèse.

Les stratégies de développement qui vont être décrites dans cette partie vont avoir pour but d'augmenter le rapport bénéfice/risque en augmentant l'immunogénicité sans augmenter l'allergénicité. Dans le contexte de l'ITA, l'immunogénicité des traitements va se définir par leur capacité à se lier aux LT et donc leur efficacité. L'allergénicité va se définir comme leur capacité à se lier aux IgE, et donc à provoquer des réactions indésirables (RI) liées aux réactions dépendantes des IgE

Ces stratégies vont suivre 3 grands axes :

1) Modifier les extraits allergéniques pour les rendre plus immunogènes et moins allergéniques.
2) Utiliser des adjuvants pour stimuler, orienter les réponses immunitaires ou améliorer la présentation de l'allergène aux LT.
3) Utiliser des méthodes d'administrations alternatives qui vont cibler des tissus où les réactions immunitaires pourront avoir lieu facilement, sans provoquer de RI.

Ces axes pourront être exploités plus ou moins en même temps en fonction des approches développées par les chercheurs. Par exemple, le développement d'un vaccin allergénique utilisant des allergènes recombinants hypoallergéniques par voie intralymphatique est possible.

Les vaccins ADN, utilisant des techniques de thérapie génique seront également abordés.

Enfin, le développement de nouveaux traitements d'ITA s'accompagne également du développement de biomarqueurs prédictifs et du suivi des effets du traitement. Ce point sera étudié dans la dernière partie de cette thèse.

4.1 Les exigences pour l'amélioration des vaccins allergéniques

Malgré l'essor de l'ITA, l'extension de son utilisation à un plus grand nombre de patients nécessite différentes exigences d'amélioration (Fig. 10).

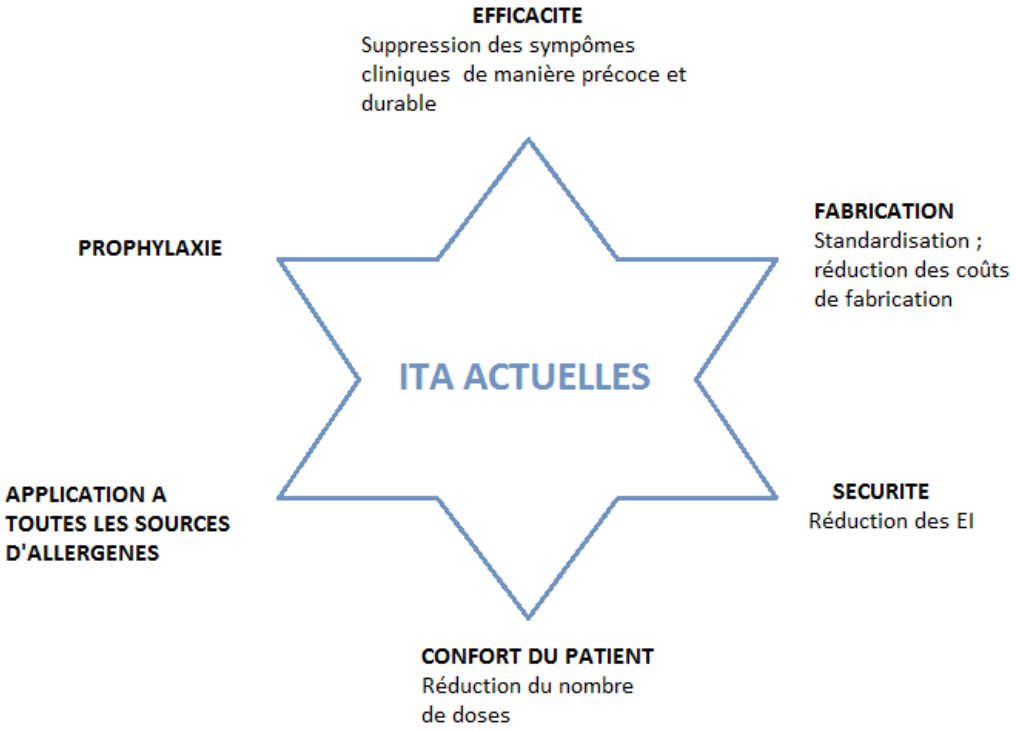


Figure 10. Exigences pour l'amélioration des vaccins allergéniques.

Le premier de ces axes d'amélioration concerne la sécurité du patient. On peut, en effet, constater que les traitements d'ITA SCIT et SLIT peuvent provoquer des EI pouvant impacter significativement la vie du patient. Les traitements actuels d'ITA, et en particulier la SCIT, présentent le risque majeur de provoquer des réactions anaphylactiques systémiques immédiates. Ces réactions se déclenchent dans les 30 minutes après l'administration et sont provoquées par la dégranulation rapide des basophiles et des mastocytes. Une réduction du risque d'EI peut être obtenue de différentes façons. Il est par exemple possible de maintenir les allergènes au niveau du site d'administration. Cela a été possible par l'utilisation d'adjuvants comme l'hydroxyde d'aluminium ou le phosphate de calcium, utilisés dans un grand nombre de traitements SCIT. Il est également possible de réduire la réactivité des extraits allergéniques. Cela est possible de différentes façons qui seront explicitées dans cette thèse. [123] [124]

L'autre inconvénient majeur de l'ITA est son schéma d'administration. En effet, l'ITA nécessite des administrations répétées et parfois quotidiennes. Dans le cas de la SCIT, celles-ci sont réalisées chez le médecin ce qui demande des rendez-vous réguliers. Un des objectifs des nouveaux traitements sera

donc de proposer une réduction du nombre d'administrations. L'ITA a un effet dose dépendant, cependant, la fréquence des EI, de plus en plus importante avec l'augmentation des doses, empêche l'administration de doses trop élevées. Cela oblige à réaliser une augmentation des doses de façon très progressive et donc à réaliser un grand nombre d'administrations. Le nombre d'administrations peut, par exemple, être réduit par l'utilisation d'une voie d'administration plus efficace. De manière idéale, cette voie doit permettre d'activer un grand nombre de cellules CPA, donc doit cibler des tissus qui en contiennent en grand nombre.[125] La durée du traitement (de 3 à 5 ans) est également un problème car cela entraîne l'abandon du traitement par de nombreux patients.

L'efficacité clinique est également un élément à améliorer. En effet, il est parfois difficile d'atteindre et de maintenir une dose thérapeutique efficace chez les patients à cause des EI. De plus, les effets du traitement cessent dans les deux à trois ans après l'arrêt de celui-ci.[126]
Les vaccins allergéniques vont donc devoir s'améliorer pour réduire leurs EI et augmenter leur efficacité sur les symptômes chroniques de l'allergie, dans le but d'induire une suppression des symptômes dès le début du traitement et de façon durable après l'arrêt de celui-ci. Il doit être possible d'obtenir de tels effets thérapeutiques tout en réduisant le nombre de doses, afin d'améliorer le confort du patient et donc d'augmenter la compliance au traitement.[127]

Comme nous l'avons vu précédemment, les extraits allergéniques naturels contiennent une grande variété d'allergènes de puissance allergénique variable et en quantités différentes. Le contenu des extraits allergéniques peut également être très différent entre deux fabriquants. [128]
Il est également connu que les allergènes possèdent une immunogénicité très variable. Par exemple certains pollens de graminées vont induire une réponse en IgG importante (Phl p 5), alors que d'autres vont induire une réponse plus faible (Phl p 2, Phl p 1). Ainsi, cela nous amène à penser que les grandes variations d'immunogénicité entre les différents allergènes contenus dans les extraits naturels ne peuvent pas être totalement contrôlées par les procédures de production actuelles.[127] [129]
Il est donc important que la fabrication de ces traitements soit standardisée pour suivre les requis pharmaceutiques nécessaires à la fabrication des vaccins. De plus, les techniques de production de vaccins allergéniques doivent être applicables à toutes les sources d'allergènes, dont celles responsables des allergies alimentaires et des dermatites atopiques. Aujourd'hui, aucun vaccin d'ITA n'est encore disponible sur le marché pour ces deux maladies allergiques. Il y a là un réel besoin et des études sont aujourd'hui en cours pour y répondre.

Finalement, il a été démontré que l'ITA peut empêcher la progression d'une allergie légère ou modérée vers des formes plus sévères. Il a aussi été démontré que l'ITA peut prévenir la progression de la rhinite allergique en asthme allergique, en particulier chez les enfants.[130] Au cours de l'enfance, il est possible de développer une sensibilisation asymptomatiques évoluant en une sensibilisation symptomatique. L'administration d'un traitement d'ITA serait donc possible en prophylaxie pour des enfants sensibilisés, qui ne présentent pas encore de symptômes cliniques, dans le but de prévenir le développement de ses symptômes.[131] [132]

Il y a donc un réel besoin de développer des nouvelles stratégies d'ITA plus sûres, plus efficaces, avec des protocoles plus courts et plus adaptés au confort du patient. Le développement de ses nouvelles approches de traitement est aujourd'hui un véritable challenge.[71]

4.2 Cibler les LT et éviter les réactions médiées par les IgE

Lorsque les premiers isoformes d'allergènes naturels hypoallergéniques furent décrits, des groupes de chercheurs ont commencé à étudier leur structure et à réfléchir à des dérivés hypoallergéniques d'allergènes recombinants pouvant être utilisés en ITA.
L'un des objectifs des dérivés d'allergènes recombinants est d'augmenter l'immunogénicité des allergènes, tout en réduisant leur allergénicité (Fig. 11). Les allergènes interagissent avec les LT *via* des épitopes dits T et avec les IgE, fixés sur les cellules effectrices, *via* des épitopes dits B. Un épitope est une région moléculaire d'un antigène capable d'interagir avec un récepteur spécifique.[66]
Ces approches se basent donc sur la connaissance des séquences en acides aminés des allergènes et de leur structure tertiaire. En effet, les épitopes B sont formés par des peptides spécifiques, dispersés sur la séquence et rassemblés par le repliement de la molécule qui forme sa structure tertiaire. Les épitopes T sont formés par des segments courts d'acides aminés dispersés sur la séquence allergénique et forment sa structure primaire. Les patients allergiques reconnaissent une grande variété d'épitopes différents pour un même allergène. [123] [127] [133]

Diverses approches sont aujourd'hui en cours d'investigation et ont pour but de stimuler les cellules T tout en diminuant la capacité des allergènes à se lier aux IgE, afin d'éviter les réactions médiées par les IgE responsables des EI. Nous pouvons citer ici quelques exemples de stratégies :

- Traiter par des peptides recombinants correspondants uniquement aux épitopes T.
- Sélectionner des isoformes sans réactivité vis-à-vis des IgE.
- Réduire la densité, l'accessibilité aux épitopes B ou modifier la séquence épitopique B par mutation ou clivage des ponts disulfures.[134]

L'avantage de ces thérapies est de permettre l'apport d'une forte dose d'allergènes en quelques administrations, suffisante pour obtenir une tolérance immunitaire médiée par les LT en évitant au maximum les EI médiés par les IgE, comme un choc anaphylactique.[134]

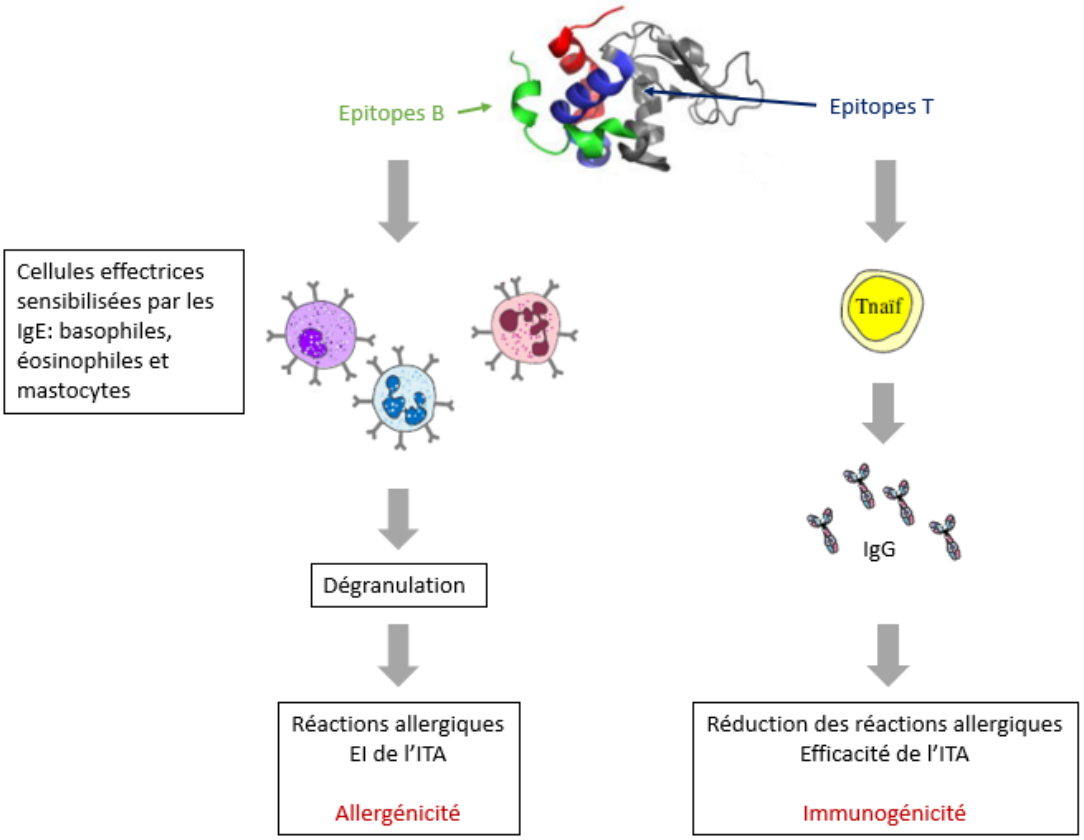


Figure 11. Allergénicité vs Immunogénicité.

Les LT interagissent avec les allergènes présentés par les CPA au niveau de leurs épitopes T. Cela va déclencher une cascade de réactions aboutissant, entre autres, à la synthèse d'IgG responsables de l'efficacité de l'ITA. Les cellules effectrices sensibilisées par les IgE interagissent avec les allergènes *via* leurs épitopes B. Cela va provoquer leur dégranulation à l'origine des EI.

Type de modifications	Type de vaccins ou d'approches	Description	Remarque
Modification des extraits allergéniques	Allergènes recombinants WT*	Allergènes recombinants strictement identiques aux allergènes naturels, synthétisés par génie génétique.	Amélioration de la standardisation
	Hypoallergènes crées chimiquement	Allergoïdes : allergènes, recombinants ou naturels, modifiés chimiquement.	Réduit la capacité de liaison aux IgE (allergénicité) mais préserve la capacité de liaison au LT (immunogénicité)
	Protéines allergéniques mutantes	Allergènes recombinants modifiés par mutagénèse dirigée ou non.	
	Protéines allergéniques de fusion	Des allergènes ou des fragments d'allergènes différents sont fusionnés et exprimés en une seule protéine recombinante.	
	Peptides allergéniques	Des portions d'allergènes de quelques acides aminés sont exprimées par génie génétique.	
	Oligomérisation d'allergènes	Un allergène ou des fragments d'un même allergène sont fusionnés et exprimés en une seule protéine recombinante.	
	Isoformes recombinants hypoallergéniques	Isoformes hypoallergéniques WT* synthétisés de manière recombinante	
Allergènes couplés avec des adjuvants	Protéines allergéniques de fusion	Des allergènes ou des fragments d'allergènes associés et des protéines hétérogènes sont fusionnés et exprimés en une seule protéine recombinante.	Modification des réponses immunologiques
	Allergènes couplés à des agonistes des TLR	Allergènes couplés au motif CpG qui réagit avec le TLR9. Allergènes couplés au monophosphoryle A qui réagit avec le TLR4.	Stimulation du système immunitaire Meilleure prise en charge de l'allergène
	Allergènes couplés à des protéines de capside virale	Allergènes couplés à des protéines recombinantes la capside virale du bactériophage Qβ	
	Allergènes couplés à des particules carbohydratées	Allergènes couplés à des nanoparticules de maltodextrine polymérisée ou de polymère de chitosane	
	Allergènes administrés avec des bactéries atténuées	Allergènes administrés avec *Lactobacillus plantarum* et *Bifidobacterium bifidum*	

Tableau 5. Nouvelles approches de vaccins impliquant la modification des extraits allergéniques et le couplage avec des adjuvants (d'après[28]).

* WT= *Wild Type*

4.3 Modification des extraits allergéniques

Les modifications des extraits allergéniques et des allergènes qui vont être présentées dans cette partie sont résumées sur le Tableau 5. Cette liste est non exhaustive mais regroupe les différentes stratégies les plus représentées dans la littérature.

La modification des extraits allergéniques va inclure la modification chimique des protéines allergéniques, mais aussi la possibilité d'utiliser le génie génétique pour produire des protéines recombinantes. Cela va permettre de générer des allergènes standardisés et plus ou moins modifiés par rapport aux allergènes d'origine naturel dits « *wild type* » (WT) et dont on pourra augmenter l'immunogénicité tout en réduisant l'allergénicité.

Les allergènes qui perdent leur capacité allergisante sont appelés des hypoallergènes. Ils peuvent être obtenus de deux façons : par modification chimique ou par recombinaison génétique. Dans le premier cas, on parlera d'allergoïdes.

4.3.1 Allergènes modifiés chimiquement

Dans la littérature, on parlera d'allergoïdes pour définir des allergènes, recombinants ou naturels, modifiés chimiquement par un traitement avec du formaldéhyde ou du glutaraldéhyde. Ils ont été développés pour la première fois dans les années 70. Les aldéhydes vont former des liaisons entre les protéines, formant ainsi des polymères d'allergènes de haut poids moléculaire (1000 kDa). Ces allergènes polymériques possèdent la même immunogénicité mais sont moins allergéniques que les allergènes habituels, en raison de la destruction des épitopes B formés par la structure tertiaire des allergènes. Ils sont actuellement utilisés après absorption sur un adjuvant comme l'hydroxyde d'aluminium.[135] A cause de leur taille, il semblerait que les allergoïdes se dissolvent plus lentement dans les tissus et ainsi, restent plus longtemps au contact des CPA contenues dans les tissus, ce qui augmente leur immunogénicité.
De nombreuses études ont démontré l'efficacité des traitements d'ITA utilisant des allergoïdes polymériques, démontrant une régression significative des symptômes allergiques chez l'adulte et l'enfant.
Il semble cependant que les allergoïdes polymériques provoquent des RI locales et systémiques. Dans la plupart des cas, les RI apparaissant sous traitements SCIT utilisant des allergoïdes polymériques. Ces réactions sont habituellement non sévères mais quelques études reportent tout de même des réactions de nature sévère dont quelques cas de réactions anaphylactiques. Il n'est donc pas évident que les allergoïdes puissent être considérés comme avantageux par rapport aux allergènes naturels.[136]

Une autre approche consiste à créer des allergoïdes monomériques. Chez les allergoïdes monomériques, les sites de fixation aux IgE sont inactivés par une carbamylation des groupes lysines. Ces molécules sont donc plus petites (12 à 40 kDa). La bonne absorption de ces molécules au niveau

de la muqueuse orale les rend optimales pour une administration orale ou sublinguale. Leur petite taille leur permet également d'échapper à la protéolyse par les enzymes de la salive.[136] Les traitements d'ITA développés avec des allergoïdes monomériques semblent efficaces et présentent beaucoup moins d'EI avec une absence de RI sévères, durant les études.[137]

Les traitements d'ITA utilisant des allergoïdes monomériques semblent donc être une approche intéressante. On peut cependant remarquer qu'il doit être difficile de savoir si toutes les protéines sont dénaturées de manière équivalente durant la carbamylation et donc de standardiser de tels produits. On peut également noter l'absence d'études qui permettraient de comparer les traitements d'allergoïdes monomériques aux traitements utilisant des allergènes naturels.

4.3.2 Allergènes recombinants hypoallergéniques

4.3.2.1 Principes généraux de la synthèse des protéines recombinantes

L'essor du génie génétique au début des années 1970 a fait apparaître la possibilité de programmer des cellules pour leur faire synthétiser des protéines d'intérêt, trop complexes à synthétiser chimiquement.

L'ADN d'une population de cellules est ainsi modifié par recombinaison génétique afin de produire une protéine dite recombinante. L'ADN codant pour la protéine est précédemment défini et isolé et est introduit dans la cellule hôte par l'utilisation d'un vecteur. Cet ADN peut être modifié en fonction de la protéine souhaitée. La cellule hôte sera chargée de synthétiser la protéine en utilisant le gène inséré. Cette protéine sera ensuite isolée et purifiée (Fig. 12). Les allergènes Der p1 (acarien) et Bet v 1 (bouleau) furent ainsi les premiers allergènes recombinants clonés dans les années 80.[80]

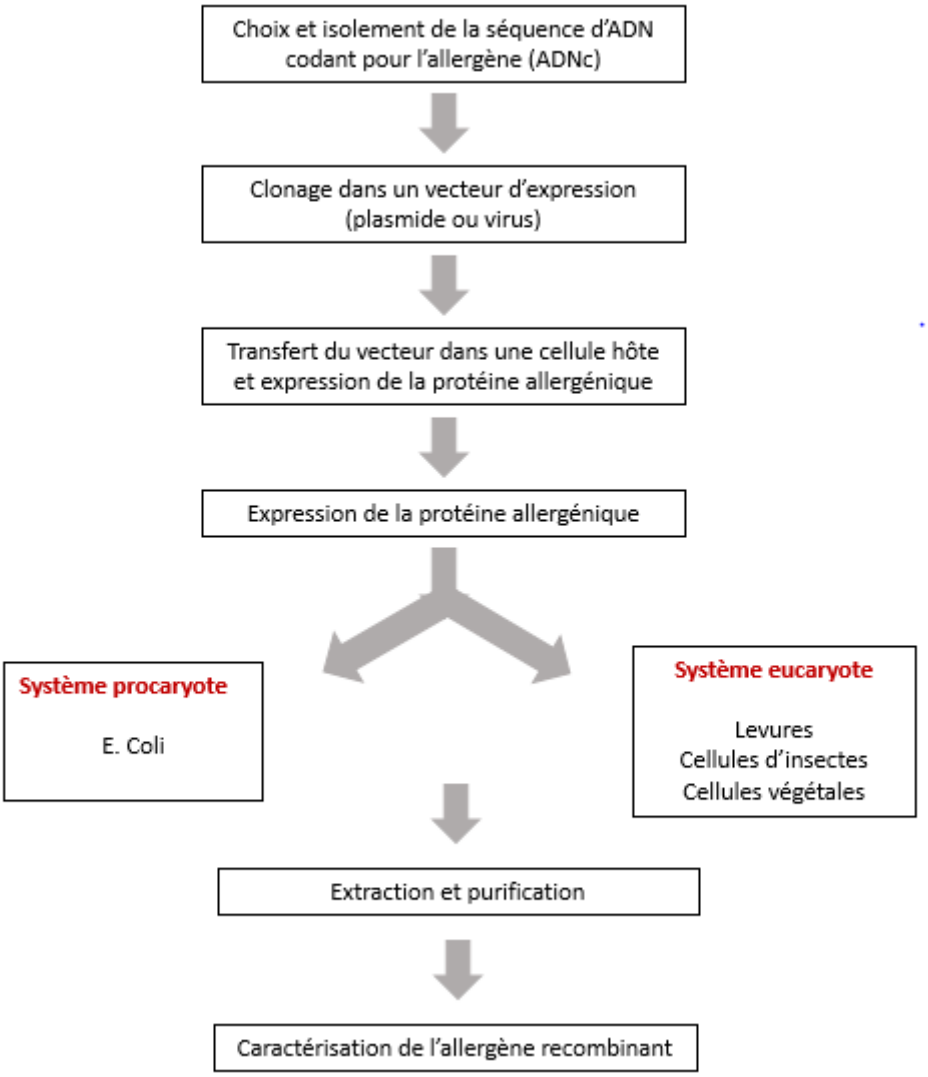


Figure 12. Schéma d'obtention d'un allergène recombinant (adapté de [80]).

Ce schéma résume les différentes étapes majeures permettant de synthétiser un allergène recombinant. En premier lieu, l'ADNc codant pour l'allergène est isolé à partir du gène ou obtenu auprès d'une banque d'ADN. Afin d'en assurer son expression, l'allergène est cloné dans un vecteur d'expression pouvant être un plasmide ou un virus. Lui-même est ensuite transféré dans une cellule hôte qui assurera la synthèse de la protéine. Cette cellule est appelée le « système d'expression » et pourra être de deux types : procaryote (bactéries comme *E. coli*) ou eucaryote (levures, cellules d'insectes, cellules de plantes). Le choix du système d'expression va dépendre des modifications post-traductionnelles (glycosylations, ponts disulfures, etc.) de la protéine, des niveaux de rendement ou du coût de production recherché. Chaque système présente ses avantages et ses inconvénients. Le choix du vecteur dépendra de l'hôte choisi : plasmide pour une levure ou virus pour une cellule d'insecte. En fonction de la cellule choisie, la protéine sera sécrétée dans le milieu de culture ou en intracellulaire, ce qui va orienter les méthodes d'extraction et de purification. Enfin, on caractérisera la protéine dans une dernière étape. Cela consiste à établir ses caractéristiques physico-chimiques, immunologiques et à contrôler sa conformation par des tests *in vitro* et *in vivo*.

4.3.2.2 Intérêts en immunothérapie allergénique

Les allergènes recombinants vont présenter des avantages majeurs par rapport aux extraits allergéniques naturels :

- Les extraits allergéniques recombinants sont parfaitement caractérisés aux niveaux moléculaire et immunochimique.
- Ils sont hautement purifiés et faciles à produire de manière reproductible qualitativement, en accord avec les exigences de production et de qualité pharmaceutiques.
- La concentration en allergènes peut être exactement ajustée au profil de sensibilisation du patient.
- Ils permettent une utilisation en thérapeutique et en diagnostic (où ils sont déjà utilisés dans les prick-tests).
- Ils permettent des modifications et des améliorations de leurs propriétés immunologiques et physicochimiques pour accroître leur immunogénicité de manière reproductible. [80]

La technologie recombinante permet deux approches en immunothérapie allergéniques : synthétiser des allergènes recombinants identiques aux allergènes naturels ou allergènes recombinants WT et synthétiser des dérivés modifiés d'allergènes recombinants.

Les allergènes recombinants WT sont strictement similaires aux allergènes naturels dont ils sont issus. Bien que cette approche ait des avantages en termes de production et d'efficacité, le taux et la sévérité des EI induits par les traitements d'ITA, produits à partir de ces allergènes, semblent identiques à ceux induits par les traitements fabriqués à partir d'extraits naturels. Cette méthode permet donc de résoudre le problème de la standardisation des extraits allergéniques mais garde les « limites » des allergènes naturels (en terme d'efficacité et d'EI) dont ils sont les copies conformes.[138]
Il est également possible de « reconstituer » un extrait allergénique contenant plusieurs allergènes différents en utilisant des allergènes recombinants. En 2008, Jutel *et al.* étudièrent un traitement composé de cinq allergènes recombinants WT de la Fléole des prés dans une étude clinique de phase III, en double aveugle contre placebo. Les résultats montrèrent une augmentation significative des IgG1 et des IgG4 spécifiques avec une réduction des IgE spécifiques.[139]

Les dérivés modifiés d'allergènes recombinants sont créés par la manipulation génétique des allergènes. Contrairement aux allergènes recombinants WT, ils vont permettre de réduire l'allergénicité des extraits et d'augmenter leur immunogénicité. Ils vont permettre, par exemple, de réduire le nombre d'épitopes IgE sur les molécules allergéniques sans affecter leur faculté à réagir avec les LT *via* leurs épitopes T.[123] Cela ouvre de grandes possibilités de traitements différents : allergènes modifiés par mutagénèse, fragments d'allergènes, oligoméres d'allergènes, allergènes fusionnés avec des protéines adjuvantes, peptides, etc. Parmi leurs avantages, les hypoallergènes présentent une réactivité médiée par les IgE réduite, ce qui permettra d'administrer des doses plus importantes et donc de réduire le nombre d'injections.

4.3.2.3 Dérivés modifiés d'allergènes recombinants ou hypoallergènes

La connaissance de la séquence allergénique, de la structure des allergènes et de la localisation des épitopes T et B, a permis différentes approches pour le développement de vaccins allergéniques hypoallergéniques. La figure 13 donne un aperçu des différents types de dérivés qui ont été développés et qui seront traités dans cette partie.[140]

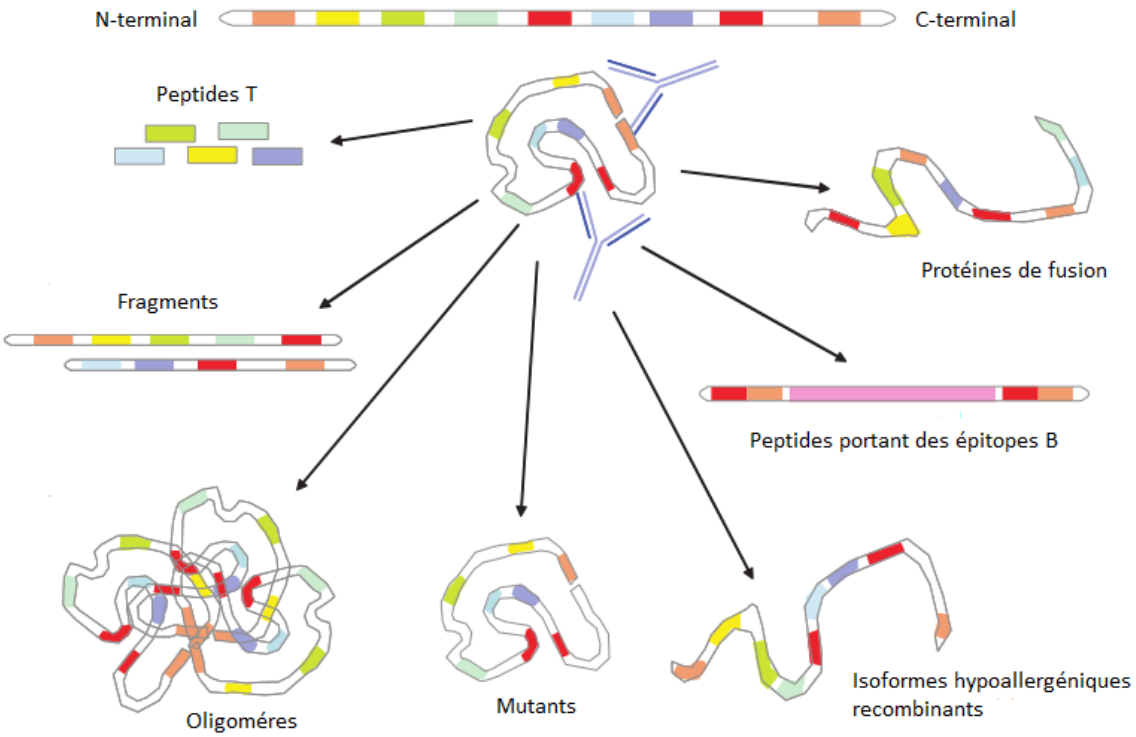


Figure 13. Les différents vaccins hypoallergéniques (d'après [141]).

La structure primaire de l'allergène est ici représentée. Les différents peptides qui le composent sont représentés par les traits de couleur. Ceux impliqués dans la formation des épitopes B, sont colorés en orange et rouge. Ceux reconnus par les LT sont représentés en bleu, vert et jaune. Ainsi, les peptides T isolés ne contiennent pas d'épitopes B. Les fragments d'allergènes, les oligomères d'allergènes, les isoformes hypoallergéniques et les allergènes de fusion contiennent des épitopes T, mais à cause de la perte du repliement original, ont perdu leurs épitopes B. Les allergènes mutants, eux, ont subi des changements au niveau des acides aminés impliqués dans les épitopes B ou dans le repliement. Dans le cas des peptides portant des épitopes B, ceux-ci sont liés à une protéine de structure (en rose). Ces molécules ne possédent pas d'épitopes T.

4.3.2.3.1 Fragments et oligomères d'allergènes

La production de fragments et d'oligomères dérivés d'allergènes a été décrite pour la première fois par l'équipe de Vrtala *et al*., qui synthétisa deux fragments d'allergènes recombinants, utilisés en mélange équimolaire, ainsi qu'un oligomère trimérique recombinant, à partir de l'ADNc de l'allergène Bet v 1. Les fragments sont composés des acides aminés 1 à 73 de Bet v 1 pour le premier fragment et des acides aminés 74 à 159 pour le second fragment. Les oligomères sont composés du même allergène exprimé en plusieurs fois (ici trois) dans un même gène.[142]

Ces dérivés d'allergènes recombinants furent les premiers testés dans un essai clinique en 2001, chez des sujets allergiques au pollen de bouleau, par rapport à l'allergène naturel.[143] Ces traitements, n'induisaient pas d'augmentation du taux d'IgE spécifiques, en comparaison avec l'allergène Bet v 1 WT alors qu'ils induisaient des IgG1, IgG2, IgG4 et IgA spécifiques de l'allergène, ainsi qu'une prolifération importante des LT.[144] L'équipe observa qu'ils avaient perdu leur capacité de liaison aux IgE et arboraient une structure tertiaire aléatoire.[142] Il a également été trouvé que ces dérivés ne peuvent pas induire de nouvelles sensibilisations à cause de la réduction de leur allergénicité.[141]

Plusieurs théories ont été établies par l'équipe pour expliquer l'augmentation de l'immunogénicité chez ces fragments et oligoméres d'allergènes :

- Cela peut être dû au fait que tous les acides aminés composant les séquences allergéniques sont présentes et potentiellement accessibles aux LT alors que les épitopes B sont largement détruits.
- Il est possible que les épitopes T présents sur les molécules soient mieux présentés aux LT dans ces états d'oligomérisation ou de fragmentation.
- Il est possible que ces dérivés se lient mieux aux CMH II et aux récepteurs des LT
- Dans le cas de l'oligomérisation, il est possible que la trimérisation ait abouti à la formation de nouveaux épitopes T.[142]

L'utilisation des dérivés d'allergènes est cependant limité par leur immunogénicité encore faible, résultant en une réponse en IgG spécifique basse.[143]

4.3.2.3.2 Isoformes hypoallergéniques d'allergènes recombinants

Après les résultats encourageants obtenus avec les dérivés recombinants de Bet v 1, différents isoformes hypoallergéniques d'allergènes ont été étudiés et en particulier des isoformes de l'allergène majeur du bouleau Bet v 1. Ces allergènes possèdent une conformation qui entrave la liaison des IgE spécifiques sur l'allergène et les rend donc hypoallergéniques. Une stratégie qui a été imaginée fut donc de synthétiser ses isoformes de manière recombinante pour les utiliser en ITA. L'équipe de Kahlert *et al.*, étudia l'isoforme Bet v 1.0101 de l'allergène majeur du bouleau qui représente environ 50% des allergènes Bet v 1 totaux. Ils l'utilisèrent pour produire une protéine allergénique recombinante stable

appelée rBet v 1-FV (*folding variant*, FV). L'avantage de cette approche est que la séquence primaire de l'allergène est préservée et donc que les épitopes T de la protéine sont intacts. Les études précliniques réalisées par l'équipe ont montré une réduction significative des réactions médiées par les IgE, avec une réduction de l'activation des basophiles, alors que les réactions médiées par les LT sont intactes.[145] Un vaccin basé sur rBet v 1-FV a été développé et est testé récemment dans une étude de phase III randomisée en double aveugle avec succès.[141]

4.3.2.3.3 Protéines allergéniques de fusion

Nous parlerons ici d'allergènes de fusion pour définir le cas où les ADNc codant pour des allergènes majeurs ou des fragments d'allergènes majeurs différents sont exprimés dans un même vecteur d'expression et exprimés en une seule protéine recombinante.[114]

Dans une étude récente, Fujimura *et al.*[146], décrivent une protéine chimérique composée de deux allergènes majeurs issus du pollen du Cèdre japonais (Cry j 1 et Cry j 2). La protéine fut exprimée dans des cellules de *E. coli*, purifiée puis conjuguée avec du polyéthylène glycol (PEG) afin d'augmenter sa stabilité. Elle fut ensuite injectée par voie sous-cutanée à des souris et à des singes qui furent mis en présence de pollens. L'induction d'IgE spécifiques au pollen de Cédre fut significativement atténuée chez les deux animaux. La production et la prolifération de cytokines Th2 furent également réduites. En parallèle, la sécrétion d'IgG spécifiques et la sécrétion d'IFNγ furent augmentées significativement.

Un avantage de cette technologie est de pouvoir produire des molécules multi-allergéniques de manière assez simple. Des études récentes ont démontré la capacité de ces protéines à avoir une liaison moindre aux IgE tout en permettant d'obtenir des réponses T et en IgG spécifiques.[147]
Ces techniques présentent également des désavantages :

- La protéine obtenue peut être instable, se dégrader, former des agrégats ou des multimères, par exemple en formant des ponts disulfures entre différentes molécules.
- La protéine peut se replier de façon inappropriée.

Le deuxième point semble être la situation la plus fréquente car chaque allergène composant les molécules de fusion possède son propre repliement lui permettant d'être actif. Il est donc conseillé d'appliquer cette approche avec des allergènes possédant des repliements simples ou qui sont simples à replier.[147]
Cette technique pose aussi la question d'une possible sensibilisation *de novo* par l'un des allergènes ou fragment d'allergène utilisé dans la molécule et auquel le patient ne serait pas sensibilisé.

4.3.2.3.4 Allergènes recombinants modifiés par mutation

Certains hypoallergènes ont été obtenus par l'insert de mutations dans la séquence originale. Ainsi des fragments hypoallergéniques dérivant des allergènes majeurs de Fléole des prés Phl p 5 et Phl p 6 ont été synthétisés avec une délétion en acides aminés afin de déstabiliser la structure tertiaire de la protéine. Dans ce sens, une autre stratégie développée fut la mutation des cystéines qui sont impliquées dans la formation des ponts disulfures qui stabilisent la structure de la protéine. Cette méthode permet donc de déstabiliser la structure de la protéine et donc de déstabiliser les épitopes B.[143 148]

Certains allergènes vont dépendre de la liaison du calcium à la protéine. En particulier, leur conformation va dépendre de cette liaison. Il a été montré que la déplétion ou la mutation du calcium de ces allergènes est lié à la perte de réactivité vis-à-vis des IgE.[148]

Au-delà de la perte de la conformation tertiaire de la protéine et donc de sa réactivité aux IgE, les acides aminés composant la protéine sont également impliqués dans l'interaction directe de l'allergène avec les IgE. Ces acides aminés peuvent être mutés de façon ciblée. Cependant, les épitopes IgE sont difficiles à identifier et les épitopes T peuvent être impactés par ces mutations.[143]

4.3.2.3.5 Peptides allergéniques

Les connaissances des épitopes T et B vont permettre différentes approches autour de la synthèse de peptides dérivés d'allergènes (Fig. 14).

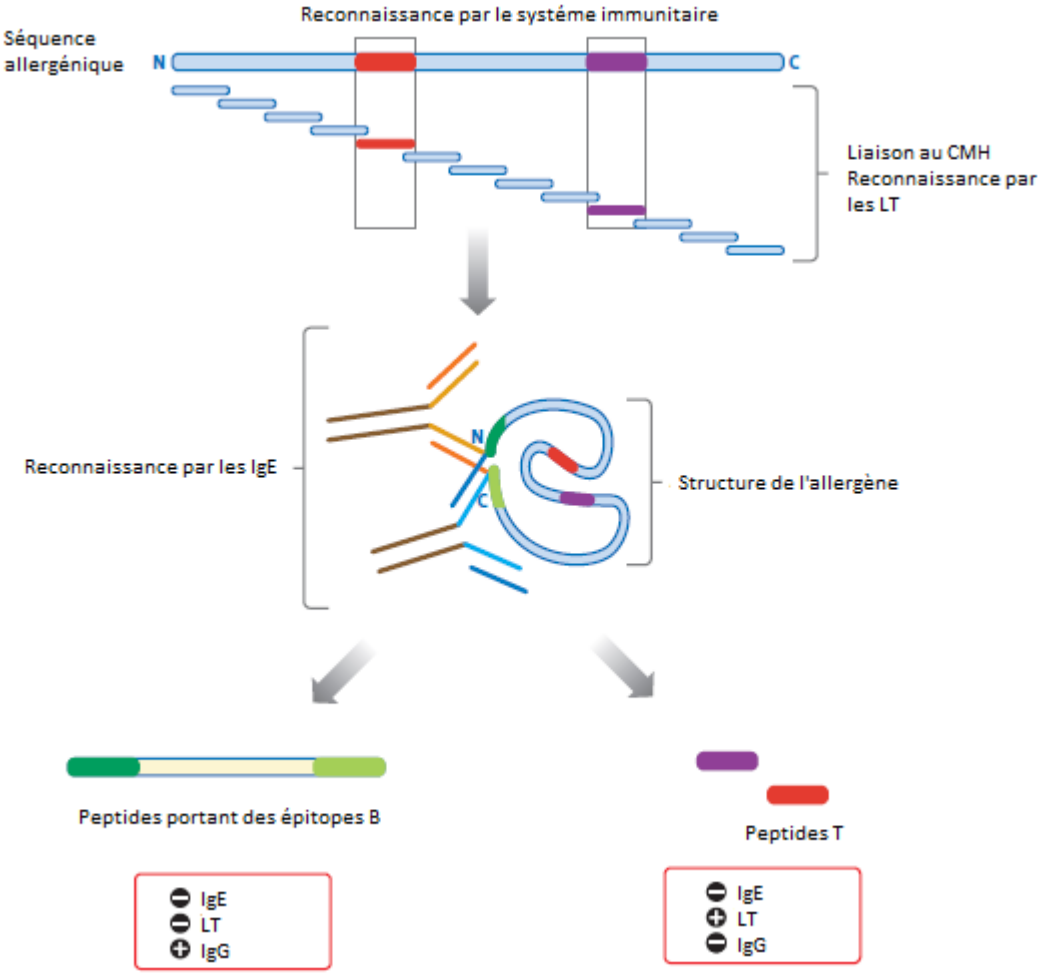


Figure 14. Reconnaissance de l'allergène par les cellules T et les IgE (d'après[133]).

La carte des sites de liaisons aux CMH des LT, sur les allergènes peut être établie grâce à des peptides chevauchants synthétisés à partir de la séquence allergénique. Les IgE reconnaissent les épitopes B orientés sur la surface extérieure de l'allergène. Les épitopes B discontinus sur la protéine sont rassemblés dans l'espace, grâce au repliement de la protéine, pour être reconnus par les IgE. A cause de leur petite taille, les peptides T synthétiques, n'ont pas de réactivité vis-à-vis des IgE et généralement, n'induisent pas d'IgG spécifiques. Les épitopes B peuvent être greffés à des protéines porteuses. Ces peptides n'ont pas de réactivités vis-à-vis des IgE et des cellules T mais peuvent induire des IgG spécifiques de l'allergène qui vont bloquer la liaison des IgE à l'allergène.

4.3.2.3.5.1 Utilisation des épitopes T en immunothérapie

Il est possible de synthétiser des peptides contenant uniquement les épitopes T et qui vont cibler les cellules T. Le but est alors de développer une tolérance immunologique par liaison aux CMH II sur les CPA qui vont présenter le peptide allergénique aux cellules T. Certains peptides nécessiteront des modifications pour assurer leur solubilité, leur stabilité, leur fabrication et leur administration.[149]

Dans une étude réalisée par l'équipe de Müller *et al.*, cinq patients allergiques au venin d'abeille furent traités par SCIT avec trois peptides contenant les épitopes T de l'allergène majeur du venin d'abeille Api m 1, chacun composés de 11 à 18 résidus d'acides aminés. L'étude a montré une augmentation des cytokines Th1 et des IgG4 spécifiques de l'allergène chez les patients. Certains sujets développèrent des IgE spécifiques et deux patients développèrent des RI systémiques. Cette étude souligne l'importance d'utiliser des peptides les plus courts possible pour minimiser le risque d'une liaison avec les IgE.[150]

Dans des études réalisées par l'équipe de Worm, l'équipe utilisa un mélange de sept peptides développés pour le traitement de l'allergie aux poils de chat, appelé *Cat Peptide Antigen Desensibilisation* (Cat-PAD). Ces peptides sont dérivés de l'allergène majeur du chat Fel d 1. La taille des peptides est ici étudiée pour être insuffisante pour une liaison aux IgE. Les résultats cliniques des études, et notamment de l'étude de phase III toujours en cours, montrèrent une réduction significative des syndromes de rhinoconjonctivite après quatre injections, durant 12 semaines de traitement, avec une persistance des effets deux ans après le début du traitement.[151]
Ce traitement Cat-PAD est un type de traitement désigné sous le nom *de synthetic peptide immuno-regulatory epitopes* (SPIRE) ou peptides synthétiques immunorégulateurs. C'est un concept de peptides thérapeutiques développés par Larche et Kay entre les années 1990 et 2000. Il s'agit de peptides de 13 à 17 acides aminés, administrés à des concentrations très basses (75 µg au lieu de 750 µg) par voie transcutanée. L'ajustement de la dose semble prévenir les RI observées avec l'utilisation de peptides plus longs. D'autres thérapies SPIRE sont aujourd'hui en cours d'étude de phase IIb pour des allergènes d'acariens, de pollens de graminées et d'ambroisie, avec des résultats encourageants.[152]

Concernant les mécanismes d'action à l'œuvre lors de l'utilisation des épitopes T, ceux-ci ne sont pas encore totalement définis. Il semblerait cependant que ces thérapies induisent une expansion des LTrég et plus particulièrement LTr1, associée à une forte production d'IL-10, une inhibition de la prolifération des LTh1 et des LTh2, une inhibition de la dégranulation des cellules effectrices de l'inflammation et l'anergie des LT CD4+ naïfs et des LTh2 spécifiques de l'allergène.
L'induction d'antigènes bloquant IgG4 est démontrée dans certaines publications mais est encore sujet à débats. Egalement, on peut lire dans certaines études que ces thérapies sont responsables d'EI liés à la phase retardée de l'allergie, c'est-à-dire, liés à l'activation des cellules T (LTh1, LTh2 et LT CD8+) et non aux IgE. Ce mécanisme n'est encore pas bien expliqué. [127] [149] [152] Ces points restent donc à expliciter.

Le challenge de cette thérapie est qu'elle nécessite l'utilisation d'un grand nombre de peptides pour pallier à la diversité des CMH chez les patients. De plus, tous les peptides ne sont pas aisés à fabriquer et peuvent montrer des problèmes d'agrégation et de solubilité. Enfin, cette thérapie n'induit théoriquement pas d'IgE spécifiques (donc pas de sensibilisation), ce qui la rend intéressante en traitement préventif de l'allergie.[127]

4.3.2.3.5.2 Utilisation des épitopes B en immunothérapie

Les vaccins allergéniques basés sur les épitopes B contiennent des peptides qui vont se lier aux IgE sur les cellules effectrices, sans les activer. Ces peptides sont d'une taille de 20 à 40 acides aminés et dérivent des sites de fixation aux IgE sur l'allergène.
Ces épitopes B doivent être associés à une protéine de support comme la protéine virale VP1 du rhinovirus ou la protéine de capside Pre-S du virus de l'hépatite B, qui vont augmenter l'immunogénicité de la protéine (Fig. 15). Cette thérapie n'induit pas d'IgE spécifiques (donc pas de sensibilisation), ce qui la rend également intéressante en traitement préventif de l'allergie.[127] De plus, de manière intéressante, ces protéines de fusion pourraient induire une protection immunitaire anti-allergénique mais également anti-infectieuse. Cela ouvre la possibilité d'une création de vaccins combinés pour la thérapie et la prophylaxie allergénique et les maladies infectieuses.[140]

L'équipe du docteur Focke-Tejkl a ainsi développé un vaccin allergénique contre le pollen de la Fléole des prés désigné sous le nom de BM32. Il se compose de peptides se liant aux sites de fixation sur les IgE, issus de quatre allergènes majeurs de la Fléole des prés et fusionnés avec la protéine Pre-S. Cette protéine va interagir avec les LT pour induire la synthèse d'IgG bloquants. Des études précliniques ont montré que BM32 ne présente pas d'allergénicité et réduit la synthèse des cytokines pro-inflammatoires. Utilisé en traitement chez le lapin, il provoque également la synthèse d'IgG spécifiques. Ce traitement est aujourd'hui en cours d'étude de phase IIb et présente des résultats encourageants en termes d'efficacité et de sécurité.[153]

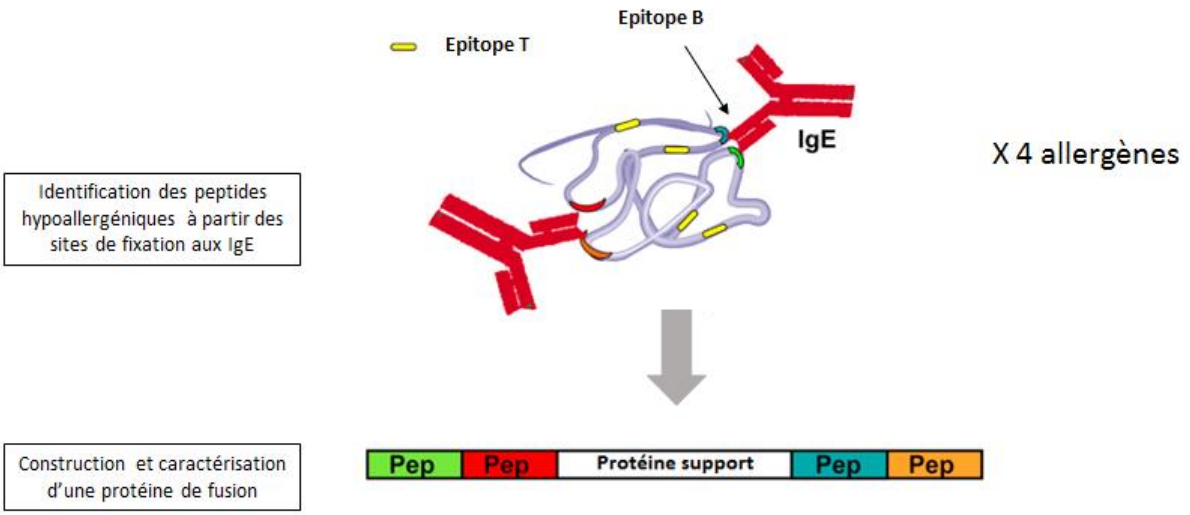


Figure 15. Schéma du développement d'une protéine de fusion basée sur les épitopes B de l'allergène (d'après [153]).

La conception de la protéine commence par l'identification des peptides dérivant des sites de fixation aux IgE et donc fixant les IgE sans les activer. Ces peptides sont choisis pour leur faible allergénicité et leur forte immunogénicité. Quatre peptides sont ainsi fusionnés à une protéine support.

4.4 Allergènes couplés à des adjuvants

Un adjuvant est une molécule capable de stimuler les réponses immunitaires et d'augmenter l'efficacité des traitements.[154] Dans le contexte des traitements ITA, il est attendu d'un bon adjuvant qu'il permette d'obtenir une efficacité clinique rapidement et de façon durable. Il doit augmenter l'immunogénicité du traitement, afin de réduire le nombre d'administrations et/ou la concentration en allergènes, tout en limitant des EI locaux au site d'administration.

Les dérivés recombinants d'allergènes possèdent une activité allergénique réduite mais peuvent aussi présenter une activité immunogène réduite. Cela peut être évité par l'utilisation de molécules adjuvantes couplés de manière chimique ou recombinante à la molécule allergénique. Cela permet un ensemble infini de combinaisons en raison de l'existence de très nombreux immunostimulants et de systèmes vectoriels pouvant même être associés entre eux.[134] Nous ne présenterons ici que quelques exemples d'adjuvants assez bien documentés dans la littérature.

On peut classer schématiquement les adjuvants utilisés ou en développement pour des traitements ITA en trois catégories dont nous verrons quelques exemples:

- Les immunostimulants biologiques ou de synthèse conjugués chimiquement aux allergènes et qui vont renforcer les réponses Th1 et Trég à l'allergène.
- Des systèmes vectoriels qui vont faciliter la prise en charge des allergènes par les CPA.
- Des protéines de fusion entre des allergènes et des agents modifiant la réponse immunitaire.[155]

4.4.1 Les adjuvants immunostimulants

Les traitements SCIT délivrés en Europe sont formulés avec des adjuvants minéraux comme le phosphate de calcium ou l'hydroxyde d'aluminium. Ils vont former un dépôt au niveau de site d'administration qui va permettre aux allergènes de rester plus longtemps dans les tissus et donc d'augmenter leur chance d'être pris en charge par les CPA. Ils vont également faciliter l'activation de la cascade inflammatoire et de la réponse immunitaire.[155]

Aujourd'hui, de très nombreux immunostimulants sont en cours d'étude. On peut citer en exemple les bactéries atténuées et les ligands des récepteurs homologues des Tolls (TLR).

Les bactéries atténuées sont sélectionnées pour leur capacité à induire une forte production d'IL-10 et d'IL-12 par les CD des muqueuses. *Lactobacillus plantarum* et *Bifidobacterium bifidum* ont montré leur capacité à induire des réponses Th1 et Trég chez un modèle murin.[155]

Les TLR sont une famille de récepteurs protéiques transmembranaires comprenant aujourd'hui 13 membres, chacun reconnaissant un motif moléculaire associé à un pathogène. Les motifs cytosine phosphorothionate guanosine (CpG) non méthylés sont des segments caractéristiques de l'ADN des virus et les bactéries. Ils sont reconnus par les TLR9, exprimés de manière prédominante chez les pCD.[6] L'activation des TLR9 sur les pCD par ces segments CpG va induire la synthèse d'IFNα par les pCD, connu pour inhiber la synthèse des IgE par les LB. Leur interaction avec les LT CD4+ naïfs va induire une réponse Th1/Trég, induire la synthèse d'IgG et réduire la réponse Th2.[156]
Dans la publication de Creticos *et al.*, l'allergène Amp a 1 du pollen de l'ambroisie est conjugué chimiquement[157] à un motif CpG. Dans cette étude de phase II, 25 adultes allergiques reçoivent six injections (une par semaine) en prévention de la saison pollinique, pendant trois ans. Les résultats de l'étude montrent une augmentation des taux d'IgG spécifiques chez les patients et une suppression des taux d'IgE spécifiques saisonniers, associées à une réduction des symptômes cliniques. Le traitement semble bien toléré, sans induction d'EI sévères.[158] Cette étude ne semble pourtant pas encore pouvoir être menée en phase III en raison d'une efficacité insuffisante par rapport au placebo.[159]

Un autre ligand de récepteur TLR est le lipide monophosphoryle A (LMPA). Le LMPA est un dérivé du lipopolysaccharide (LPS) de *Salmonella minnesota* se liant au TLR4 qui est exprimé par de nombreux leucocytes. L'activation de ce récepteur va induire l'activation de ces cellules.[160]
Lors d'un essai, le LMPA a été couplé à des allergènes de graminées et administré aux patients en pré-traitement de la saison pollinique, alors que les patients recevant le placebo étaient traités par un mélange d'allergènes majeurs recombinants de la Fléole des prés. Les résultats de l'étude montrent l'induction d'IgG4 et IgG1 spécifiques chez le groupe traité, associé à une amélioration des symptômes cliniques. Une réduction du relargage d'histamine par le basophile fut également observée dans le groupe traité.[161]

4.4.2 Les systèmes vectoriels

Des systèmes vectoriels variés sont aujourd'hui en cours d'étude pour formuler les allergènes. Ces systèmes incluent, par exemple, des liposomes, des microparticules ou des protéines virales.

Il est possible de coupler les protéines allergéniques à des protéines de capside virale recombinante appelées *Virus-like particles* (VLP). Ces protéines vont former spontanément une structure protéique et reformer la conformation structurale caractéristique du virus, afin de stimuler l'immunité en imitant la présence du virus. Il en existe beaucoup, de complexités structurales différentes, de sources virales différentes et associés à des applications différentes. Des épitopes hétérogènes peuvent être insérés de manière recombinante à la structure virale ou chimiquement conjugués à sa surface. Les VLP peuvent stimuler l'immunité humorale et cellulaire.[154]
Dans la publication de Kündig *et al.*, des peptides dérivés de l'allergène majeur Der p 1 sont couplés chimiquement par des liaisons covalentes à une protéine recombinante dérivée de la capside virale du bactériophage Qβ (Fig. 16). L'équipe avait démontré que la protéine de capside de Qβ induisait une réponse importante des LB chez la souris avec la synthèse d'IgG. Le vaccin fut administré sans aucun autre adjuvant. Les résultats de leur étude de phase I réalisée chez 32 volontaires sains ont montré une bonne tolérance au vaccin. Le vaccin a provoqué l'induction d'IgG spécifiques de l'allergène et de Qβ, dès la première injection et de manière dose dépendante (deux doses furent testées, 10 et 50 µg). Le vaccin n'induisait pas d'IgE spécifiques.[162]

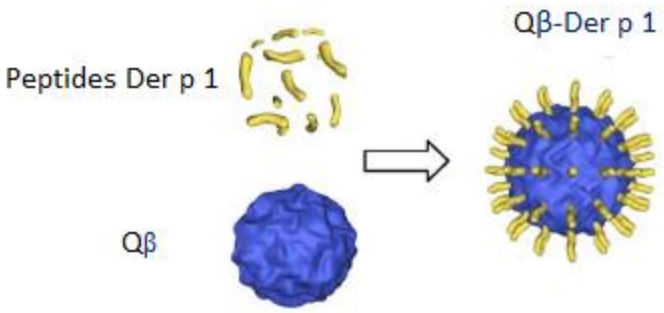


Figure 16. Couplage de l'allergène Der p 1 avec la protéine recombinante du bactériophage Qβ.
Les peptides allergéniques issus de l'allergène Der p 1 sont couplés chimiquement à la protéine.

Un autre système vectoriel intéressant consiste en la fabrication de nanoparticules de maltodextrine polymérisées ou de polymères de chitosane. Ces nanoparticules sont des polymères autoadhésifs qui vont se lier avec les cellules épithéliales et augmenter la durée de contact de l'allergène avec les tissus. Testées en administration sublinguale sur des modèles murins, elles ont montré qu'elles pouvaient augmenter la prise en charge des allergènes par les CD buccales Elles permettent également d'améliorer la prise en charge des allergènes lors de la phagocytose par les CPA en améliorant la présentation de l'allergène aux CPA. Les résultats ont montré une augmentation des réponses Th1 et Trég.[163]

4.4.3 Allergènes fusionnés avec des agents modifiant la réponse immunitaire

Deux protéines de fusion intéressantes sont aujourd'hui en cours de développement. La première est une protéine de fusion associant un allergène au fragment Fcγ des IgG et la seconde est une protéine de fusion associant un allergène à un agent modulant la présentation des antigènes par le CMH II.

Dans le premier cas, il s'agit d'une molécule de fusion associant le segment Fcγ des IgG et l'allergène majeur du chat Fel d 1. Cette molécule va se fixer sur le récepteur FcγRIIb des IgG *via* sa portion Fcγ et à la fois sur les IgE fixées sur le récepteur FcƐRI *via* sa portion allergénique.
Pour rappel, le récepteur FcγRIIb est un récepteur d'inhibition tyrosine kinase de la dégranulation cellulaire, activé par la fixation de la partie constante des IgG. Le récepteur FcƐRI est un récepteur d'activation tyrosine kinase, activé par la laison des allergènes naturels aux IgE préalablement fixées. Son activation provoque la phosphorylation du récepteur et une cascade intracellulaire qui aboutit à la dégranulation de médiateurs pro-inflammatoires. Ces deux récepteurs sont exprimés à la surface des LB, des basophiles et des mastocytes.
La fixation de la protéine de fusion au FcERI va induire un signal d'inhibition de l'activation cellulaire et de la libération des médiateurs pro-inflammatoires et sa fixation au FcgRIIb va bloquer l'activation.[164]

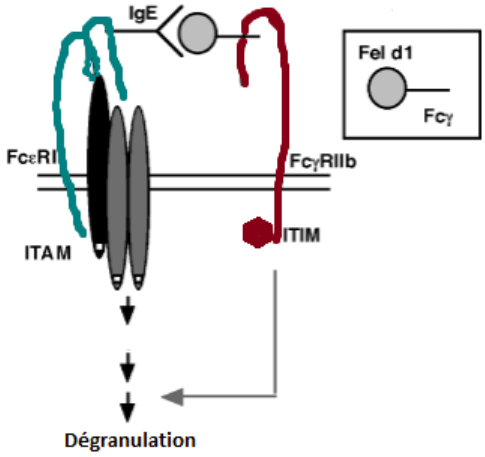


Figure 17. Mécanisme de la protéine de fusion couplée au fragment Fcγ humain (d'après [164]).
La protéine de fusion chimérique se lie à la fois à l'IgE liée au récepteur FcƐRI et au récepteur FcγRIIb, ce qui va bloquer la libération de médiateurs pro-inflammatoires.
ITIM : Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif
ITAM : immunoreceptor tyrosine-based activation motifs

Dans le second cas, le vaccin appelé vaccin MAT pour *Modular antigen translocation* consiste à fusionner en une seule protéine un peptide allergénique et une protéine transmembranaire qui va augmenter le taux de présentations des allergènes en ciblant les CMH II.
Habituellement, les allergènes sont endocytés par les CPA et sont associés au CMH II pour leur présentation aux LT CD4+. Dans le réticulum endoplasmique, les molécules du CMH II s'associent avec une protéine transmembranaire appelée Li. L'association avec Li empêche la fixation du CMH II avec

des peptides ou des protéines en cours de synthèses. Cette fixation ne peut donc se faire qu'après la dégradation protéolytique de Li. Il a été démontré que les protéines en cours de synthèse dans le reticulum endoplasmique ne pouvant pas se fixer au CMH II peuvent l'être si elles sont exprimées avec la protéine Li en tant que protéine de fusion.
Dans une étude *in vivo*, la protéine transmembranaire est fusionnée avec l'allergène Fel p 1 et semble induire des taux d'IgG1 et d'IgG2a alors que le traitement est administré à une dose en allergènes 100 fois moins importante qu'habituellement, sans induire de réponses IgE.[165] Dans une étude en double aveugle contre placebo, le vaccin MAT-Fel d 1, formulé avec de l'hydroxyde d'aluminium, fut administré à des patients allergiques, par voie intralymphatique. Les résultats montrèrent peu de réactions indésirables et l'induction d'une bonne tolérance clinique avec une augmentation importante du taux d'IgG4 spécifiques de l'allergène .[166]

4.5 Les nouvelles voies d'administration

Les traitements d'ITA induisent des modulations immunitaires conduisant à la synthèse de LTrég, de LTh1 et d'IgG. Ces effets sont initiés après présentation de l'allergène aux LT par les CPA et en particulier les CD. Les EI sont eux causés par les mastocytes, les basophiles et les éosinophiles locaux. La voie d''administration idéale pourrait donc être caractérisée par une grande densité de CPA et en particulier de CD et une densité faible de cellules effectrices sensibilisées.[167]

Ces dernières années, on a vu se développer de nombreuses alternatives à la voie d'administration historique de l'ITA, la SCIT. La SLIT est largement utilisée en Europe et de plus en plus aux EU. Elle est, aujourd'hui encore, la seule alternative non invasive à la SCIT. Bien que la SCIT soit toujours la référence en ITA, d'autres voies sont en cours d'investigation, avec parfois des résultats encourageants. Nous les diviserons ici en deux groupes. Les voies injectables avec la voie intralymphatique et les voies non injectables avec les voies épicutanées (ou transcutanée), orale et nasale.[168] [169]

4.5.1 Une voie injectable : l'immunothérapie intralymphatique

Comme nous l'avons vu, une réaction immunitaire requière l'interaction de 3 types de cellules : les CD, les LT et les LB. Une réaction immunitaire a donc plus de chances d'être déclenchée dans un lieu où ces cellules sont présentes en grand nombre, comme dans les organes lymphoïdes secondaires.[170] Ainsi, l'immunothérapie intralymphatique (ILIT), consiste en l'injection de la solution allergénique directement dans les ganglions lymphatiques. L'efficacité de cette technique fut démontrée en premier lieu en vaccination anti-virale et anti-tumorale avec l'administration de peptides, protéines, ADN, ARN, CD, etc.
L'administration d'allergènes (venins, allergènes alimentaires, pollens, acariens) par voie intralymphatique a tout d'abord démontré, dans des études réalisées chez la souris, qu'elle permettait de stimuler la réponse humorale ainsi que la production d'IgG2a, de manière supérieure à la SCIT. La

réponse en anticorps spécifiques IgG2a semble 10 à 20 fois supérieure à celle induite par la SCIT, avec une dose administrée représentant 0.1% de la dose d'allergène administrée au cours de la SCIT.[171]

Lors d'une étude clinique réalisée chez l'Homme, les traitements ILIT et SCIT furent comparés sur 165 patients atteints de rhinoconjonctivite allergique au pollen de graminées. Les patients recevaient trois injections intralymphatiques sur une période de deux mois ou un traitement SCIT conventionnel sur trois ans. Les injections étaient réalisées directement dans le ganglion lymphatique inguinal par guidage échographique. Les résultats montrèrent que les EI rapportés dans le groupe traité par ILIT étaient moins nombreux et de moindre intensité que dans le groupe traité par SCIT. De plus, une tolérance allergénique durable fut induite plus rapidement dans le groupe ILIT par rapport au groupe SCIT. La tolérance au long terme atteint dans le groupe ILIT, après quatre mois de traitement fut équivalente à celle atteint dans le groupe SCIT, après trois ans de traitement.[172]

Le traitement ILIT pourrait donc permettre de raccourcir la durée du traitement et d'utiliser des doses d'allergènes moins importantes (de 100 à 1000 fois, comparé à la SCIT), tout en maintenant une efficacité suffisante. L'ILIT semble donc aujourd'hui être une approche attractive et une bonne alternative à la SCIT. Cependant, des études supplémentaires de phase III en double aveugle contre placebo sont encore nécessaires afin d'optimiser cette voie et d'évaluer son efficacité et sa sécurité.[168] Les principaux désavantages de cette technique sont sa complexité de mise en œuvre avec un matériel médical approprié, ainsi qu'une formation spécifique des médecins à mettre en place.[173]

4.5.2 Les voies non injectables

4.5.2.1 L'immunothérapie épicutanée ou transcutanée

L'immunothérapie par voie épicutanée (EPIT) a été étudiée depuis le milieu du vingtième siècle. En effet, il s'agit d'une voie prometteuse, sûre, non invasive et facile à vivre pour le patient.

Les premières études ont prouvé l'efficacité de cette technique chez des patients allergiques au pollen de graminées. La technique d'alors consistait à appliquer quelques gouttes d'un liquide allergénique sur une peau scarifiée.[174]
Plus récemment, une nouvelle approche a été développée *via* l'utilisation de patchs contenant les allergènes, qui sont déposés sur la peau après un léger décapage de celle-ci. Les patchs sont laissés 48h sur la peau et appliqués toutes les semaines. Le décapage permet de réduire la couche cornée de l'épiderme, d'activer les kératinocytes producteurs de cytokines et d'augmenter la pénétration de l'antigène dans l'épiderme. Les allergènes sont alors délivrés aux nombreuses CPA présentes dans les tissus cutanés comme les CD épidermiques ou les cellules de Langerhans.[175] L'activation des kératinocytes, donne à l'EPIT un avantage par rapport à la SLIT car ceux-ci vont produire des cytokines comme l'IL-6 ou le TNFα qui vont stimuler la réponse Th1 et l'activation des CPA. La voie EPIT permet de réduire le risque d'EI et de réactions systémiques en minimisant le risque de pénétration de

l'allergène dans la circulation sanguine car l'épiderme est faiblement vascularisé.[174] [175] Il permet aussi de réduire la durée de traitement en augmentant l'immunogénicité. C'est également une voie intéressante de par le nombre important de cellules immunitaires présententes au niveau cutané.[125]

La première étude clinique randomisée en double aveugle contre placebo testant cette voie fut réalisée en 2009 par Senti *et al.*, sur des patients atteints de rhinite allergique aux pollens de graminées. Des patchs contenant les allergènes furent appliqués sur une peau décapée, toutes les semaines, durant 12 semaines avant et pendant la saison pollinique. Les résultats ont montré une amélioration de 70% des symptômes du rhume des foins au lieu de 20% pour le groupe traité par le placebo. Aucune RI systémique ne fut observée, mais des réactions locales d'eczéma furent fréquemment reportées au niveau du patch.[176]

Dans une autre étude randomisée en double aveugle, menée par le même groupe, la dose efficace, la sécurité du traitement, la tolérance et l'efficacité du traitement furent évaluées. Cette fois ci, les patchs furent laissés seulement 8h sur la peau et durant six semaines de traitement. Les patients furent divisés en quatre groupes : un groupe placebo et trois groupes recevant le traitement à trois concentrations différentes (une concentration par groupe). Parmi les résultats de cette étude, un effet de dose-réponse fut observé et le groupe recevant la plus haute dose d'allergènes a montré une meilleure réduction de symptômes (plus de 30% de symptômes en moins la première saison, 24% en moins la seconde). Ce groupe a expérimenté quelques EI locaux incluant prurit, érythème, eczéma ou urticaire.[177]

La société DBV Technology, actuellement résidente à Bagneux en France a développé un tout nouveau système d'EPIT nommé Viaskin®. Ce dispositif consiste en un patch sur lequel est pulvérisé une couche fine, sèche et homogène de protéines allergéniques chargées électriquement, par électrospray. Une fois sur la peau, le patch crée une chambre de condensation localement grâce à l'hydratation naturelle de la peau. Cela permet de solubiliser l'allergène, lui permettant de pénétrer les couches supérieures de l'épiderme. Ce patch permet donc une exposition prolongée à l'antigène.[178] Il est actuellement en cours d'essai clinique de phase III, chez des patients âgés de 4 à 11 ans, allergiques à la cacahuète,[179] en cours de d'essai clinique de phase II chez des patients allergiques au lait de vache[180] et en développement pré-clinique contre l'allergie aux œufs. Les résultats des études menées avec Viaskin® sont pour l'instant encourageants.

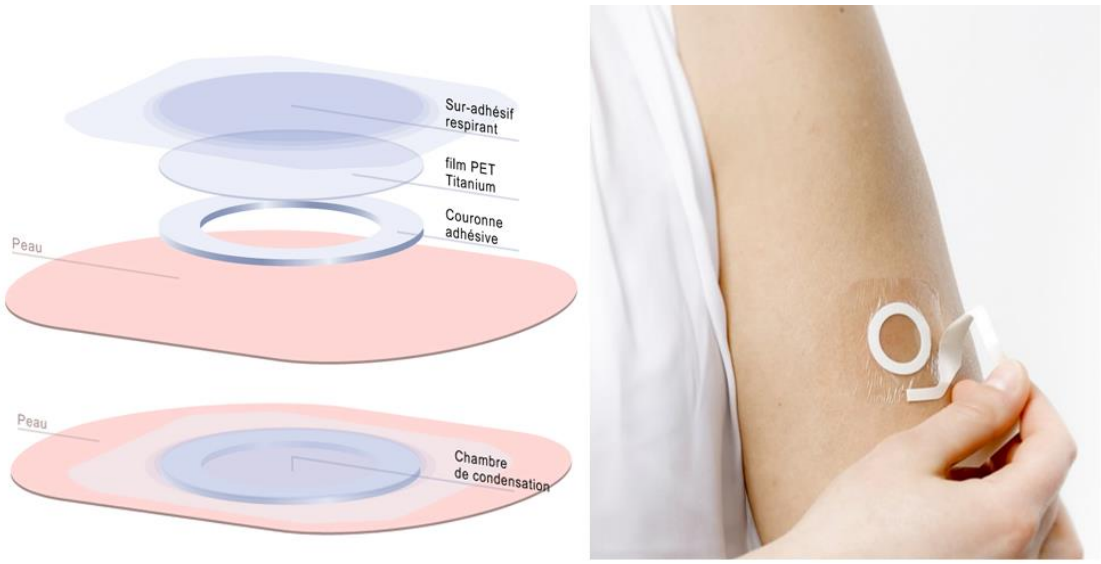


Figure 18. Les principaux composants du patch Viaskin®. [178]

Ces différents résultats tendent à suggérer que l'EPIT est une voie d'administration prometteuse et bien tolérée. Sa facilité d'administration la rend attractive pour les patients et elle est aujourd'hui investiguée en traitement des allergies respiratoires et alimentaires. Elle pourrait devenir une voie de traitement d'ITA idéale chez les enfants en traitement d'allergies particulièrement graves et handicapantes dans la vie quotidienne, comme les allergies alimentaires.[168]

4.5.2.2 L'immunothérapie orale

L'immunothérapie allergénique par voie orale (OIT) est étudiée en traitement des allergies alimentaires mais également respiratoires. Le traitement est administré sous forme d'une solution aqueuse, d'une poudre, d'une forme encapsulée ou d'une forme entérosoluble et est avalé immédiatement. Les allergènes sont alors absorbés au niveau de la muqueuse intestinale et pris en charge par les CPA au niveau du tractus gastro-intestinal.[181]

Il a été démontré que l'ITA orale permet d'atteindre une tolérance orale aux allergènes alimentaires en réduisant la réponse Th2 aux allergènes en faveur de la réponse Th1. Chez des patients atteints d'allergie respiratoire, l'OIT a démontré qu'il engendrait une augmentation des IgG4 dans le sérum mais aucune modification du taux d'IgE.[168]

Concernant les allergies respiratoires, les études menées sur l'OIT ont montré des résultats très hétérogènes. Les études ont démontré, soit une réduction significative des symptômes, soit des résultats uniquement lors de l'utilisation de hautes doses d'allergènes, soit aucune réduction significative des symptômes voir même, aucune modification immunologique par rapport au placebo ou par rapport à la SCIT.[168] [182]

Quelques études ont reporté des EI systémiques incluant de l'urticaire, de l'hypotension ou un angioedème, alors que plusieurs ont notifié des EI affectant le tractus gastro-intestinal tels que des nausées, des crampes, des douleurs abdominales ou des vomissements pouvant amener à l'arrêt du traitement.[181]

L'OIT est cependant aujourd'hui étudiée dans le traitement des allergies alimentaires. Dans ce domaine, de nombreuses études réalisées sur les enfants allergiques au lait de vache ou aux œufs montrent des résultats significatifs avec un profil de sécurité adéquat. De plus, les résultats suggérent que les effets perdurent quatre à cinq ans après l'arrêt du traitement. Les résultats des études portant sur l'OIT semblent donc encourageants en ce qui concerne le traitement des allergies alimentaires mais des études supplémentaires sur de larges cohortes de patients sont encore nécessaires pour établir avec certitude l'efficacité clinique.[168 183 184]

4.5.2.3 L'immunothérapie locale nasale ou intranasale

L'immunothérapie locale nasale (LNIT) est une voie étudiée depuis 1970 en parallèle de la SLIT. Elle consiste en l'administration d'allergènes sous la forme de pulvérisations nasales d'une solution aqueuse ou d'une poudre sèche contenue dans des capsules et associées à un dispositif de pulvérisation afin d'obtenir un dépôt uniforme sur les parois nasales. Elle peut être administrée directement par le patient, à son domicile. En 1998, des experts de la *World Health Organisation* (WHO) ont établi sur la base de revues que LNIT était une alternative viable à la SCIT. Cette position fut confirmée par l'*European Academy of Allergology and Clinical Immunology* (EAACI).[75]

De nombreuses études ont témoigné d'une efficacité clinique suffisante pour les symptômes de la rhinite d'origine allergique avec un profil de sécurité suffisant car il ne semble pas provoquer d'EI ou de manière très négligeable et limitée au site d'administration. Les quelques EI décrits de la LNIT sont des symptômes touchant les voies aériennes supérieures comme des démangeaisons nasales. Les études cliniques étudiées dans la méta-analyse de Hochfelder et Ponda, montrent une réduction significative des symptômes et de la prise de traitements concomitants durant la prise du traitement. Il semblerait que les formes galéniques sous forme de poudre sèche ou de bandes collantes imprégnées d'allergènes permettent d'augmenter l'efficacité et de réduire les EI locaux.[168 181 185]
L'efficacité de cette voie a été démontrée en traitement prophylactique pré-saisonnier contre l'allergie aux pollens de graminées et en traitement durant la saison pollinique. De plus, l'efficacité perdure quatre à cinq ans après l'arrêt du traitement.[186]

Cependant, il semblerait que la LNIT soit uniquement efficace sur les symptômes de la rhinite allergique et non sur ceux de l'asthme ou de la conjonctivite allergique. De plus, elle nécessite une technique d'administration particulière avec des précautions pour éviter une inhalation trop profonde du produit dans les voies aériennes, pouvant être à l'origine de bronchospasmes. L'inconfort provoqué par les réactions nasales engendre des problèmes de compliances. [168 181]

Des bandelettes nasales sur lesquelles sont déposées des allergènes d'acariens ont été développées et étudiées dans une étude clinique randomisée, en double aveugle contre placebo. Les bandelettes étaient appliquées au niveau de la muqueuse nasale durant 10 minutes, une fois par semaine pendant quatre mois. L'étude a montré une amélioration des symptômes (nez qui coule, éternuements, congestion nasale) après quatre mois de traitement.[185]

Les études s'intéressant à la LNIT sont très hétérogènes, avec des résultats contradictoires dus aux nombreux allergènes différents utilisés. L'utilisation de la LNIT a décliné et continue à décliner en faveur de la SLIT, plus facile à administrer et plus confortable pour le patient.

Bien que la SCIT reste la voie historique et la seule approuvée par la FDA aux Etats-Unis, la SLIT, utilisée couramment en Europe et de plus en plus aux Etats-Unis, paraît être la voie la plus sûre et la plus efficace. Cependant, l'OIT et la LNIT semblent également être des voies fiables mais les résultats obtenus au cours des études ne sont pas encore suffisants pour que leur utilisation se répande face à la SLIT ou à la SCIT. L'EPIT est une alternative très intéressante, en particulier pour les patients qui ne supportent pas les EI locaux des traitements SLIT, OIT ou LNIT. Enfin, L'ILIT est probablement la voie en développement la plus prometteuse au regard des résultats actuels.
D'autres voies d'administration ont également été étudiées sans réel succès. On peut citer, par exemple, la voie intramusculaire (la haute densité de vaisseaux sanguins au niveau des muscles augmente le risque de réactions systémiques) et la voie bronchiale estimée trop peu süre.

4.6 Vaccins à ADN

Le concept de vaccination génétique ou thérapie génique, dit vaccin ADN, est né dans les années 90. Le principe du vaccin ADN est simple,un gène codant pour un antigène d'intérêt est inséré dans un plasmide sous le contrôle d'un promoteur approprié.

Un plasmide est une molécule d'ADN circulaire, double brin, séparée de l'ADN chromosomique, capable de réplication autonome et non essentiel à la survie de la cellule. Les plasmides sont présents chez les bactéries. En biologie moléculaire, des plasmides sont construits de manière artificielle pour être utilisés comme vecteur en génie génétique.[187]

Le promoteur est une séquence d'ADN nécessaire à l'initiation et à la régulation de la transcription du gène. Le plasmide est ensuite produit dans des cellules, puis purifié. Le plasmide peut être injecté au patient « nu » ou dans un vecteur, par voie intramusculaire ou intradermique. Le vecteur peut être un vecteur vivant comme un virus ou une bactérie intracellulaire atténuée et génétiquement modifiée pour exprimer des antigènes hétérologues. Il peut aussi être un vecteur inerte comme des liposomes. Une fois intégré dans une cellule somatique, le vaccin ADN va utiliser la machinerie transcriptionnelle de la cellule pour être traduit en protéines. Ces protéines sont tout de même reconnues comme étrangères, ce qui déclenche le mécanisme de présentation de l'antigène par le CMH.[188]

Le rôle du promoteur dans cette stratégie thérapeutique a une grande importance. Par exemple, la transfection de cellules avec un vecteur plasmidique exprimant le gène du promoteur murin pFascin permettrait une prise en charge préférentielle du plasmide par les CD. Après la prise en chage du plasmide par les cellules, la protéine est exprimée, puis des peptides de cette protéine sont présentées par les molécules de CMH aux LT CD4+ naïfs. Ainsi, une plus grande quantité d'allergènes serait présentée aux LT CD4+ naïfs. L'utilisation de ce promoteur semble également générer prioritairement des LT cytotoxiques CD8+ et LTh1. Cette réponse serait également induite par la présence de séquences CpG non méthylées sur les plasmides.[189] Les résultats sur des modèles murins sont prometteurs, mais la difficulté reste de trouver les promoteurs adéquats pour une utilisation chez l'Homme.

Une technologie ciblant les CD a été développée par la société Immunomic Therapeutic. Cette société est basée à Washington aux Etats Unis et a développé un vaccin ADN innovant dirigé contre les allergies à la cacahuète et au pollen du Cèdre du Japon.[190]

Leur technologie appelée LAMP-VAX™ pour *Lysosomal Associated Membrane Protein,* est basée sur la fabrication d'un plasmide associant la séquence codante pour la protéine allergénique et une séquence codante pour une glycoprotéine de la membrane lysosomale. Les plasmides sont ainsi injectés dans le derme et sont pris en charge par les CD. Dans les cellules, les plasmides vont être traduits en protéines par la machinerie transcriptionnelle et traductionnelle de la cellule. Les protéines de fusion synthétisées sont intégrées à la membrane lysosomale avec la partie antigénique orientée à l'intérieur du lysosome. Dans le lysosome, le pH acide va cliver la protéine antigénique en fragments de quelques acides aminés qui vont aller se fixer aux CMH II placés à la face interne du lysosome. Lorsque

le lysosome fusionne avec la membrane extérieure de la cellule, l'intérieur du lysosome se retrouve orienté vers l'extérieur de la cellule.

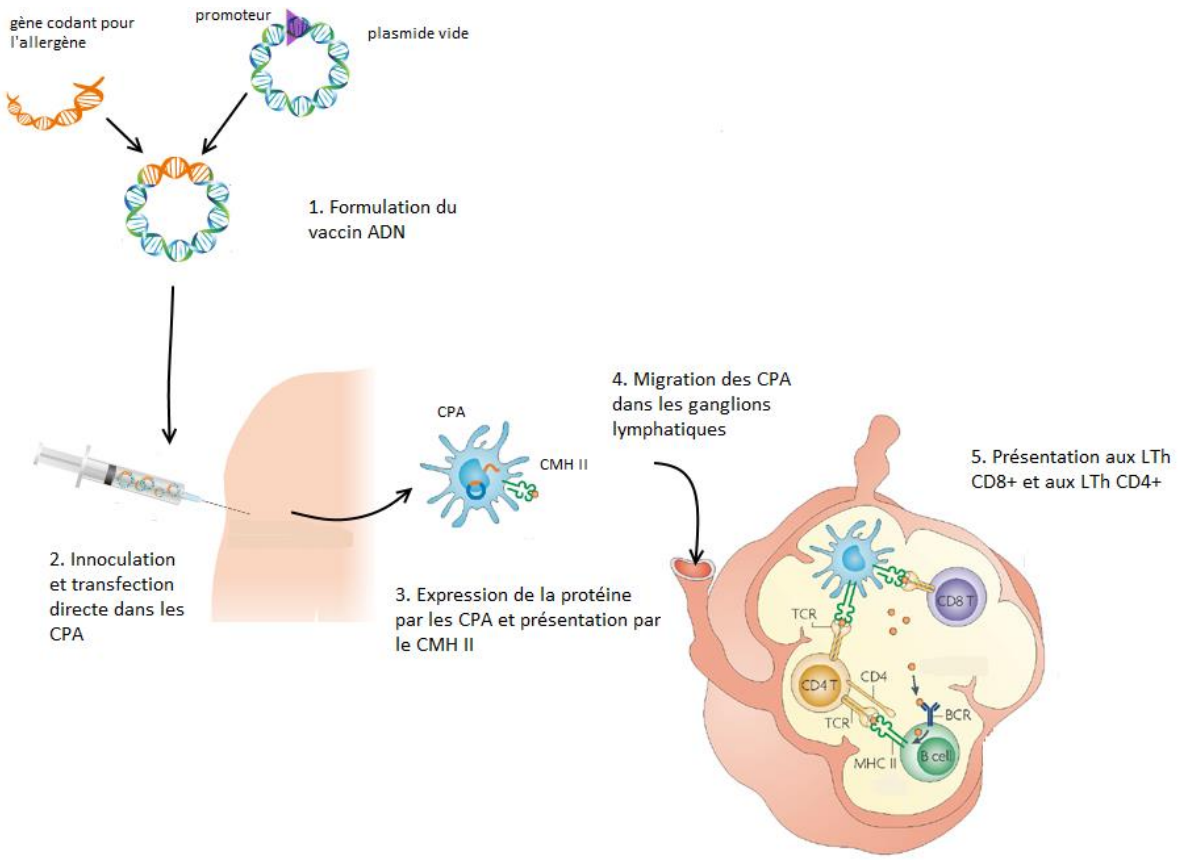


Figure 19. Principe général des vaccins ADN, cas du vaccin LAMP-VAX™ (d'après [190]).

L'ADN codant pour l'antigène est introduit dans un plasmide d'expression. Le vaccin contenant les ADN est formulé puis injecté dans le derme. Là, il est pris en charge par les CPA dans lequel il sera transcrit en protéines allergéniquee présentées par les CMH II de la CPA. Durant cette étape, les CPA migrent vers les ganglions lymphatiques où aura lieu la présentation de l'allergène aux LTh CD4+ et aux LTh CD8+.

Cette technologie permet une augmentation importante de la présentation de l'antigène et une augmentation de l'orientation en profil Th1 des LT CD4+ naïfs. On imagine également qu'un autre avantage offert par cette technologie est la possibilité de coder plusieurs allergènes dans le même plasmide. Le vaccin ADN anti-allergénique développé contre l'allergie au pollen du Cèdre du Japon développé par Immunomix Therapeutic est aujourd'hui en cours d'étude clinique de phase I. Les résultats suggèrent qu'il permettrait d'induire une désensibilisation efficace en quelques injections et d'obtenir une très forte réponse Th1 et la synthèse d'IgG, bien que les mécanismes de ces effets soient encore non explicités.[191]

Une autre stratégie consiste à cibler les LTrég. Des souris ont été sensibilisées à l'allergène Der p 2 et traitées avec des CD immatures transfectées par un rétrovirus dans lequel on a introduit l'ADN codant cet allergène. Les souris traitées ont montré une inhibition de la production d'IgE spécifiques, une suppression de leur réponse Th2 et une inhibition de l'inflammation des voies aériennes successives à l'induction de LTrég.[192]

De très nombreuses autres stratégies sont également possibles. Dans un autre article publié en 2016, Pagovich *et al*., ont proposé un traitement à l'allergie aux cacahuètes utilisant la thérapie génique. Dans cette étude, un virus associé aux adénovirus (*Adeno-associated virus*, AAV) est utilisé comme un vecteur d'expression d'un gène d'anticorps monoclonal anti-IgE de haute affinité, dérivé du fragment Fab de l'omalizumab, un anticorps monoclonal recombinant anti-IgE. Ils émettent la théorie qu'une seule administration de ce gène pourrait suffire pour induire la protection du patient contre une exposition répétée à l'allergène. Ils testèrent cette hypothèse sur des souris humanisées, allergiques à la cacahuète. Leurs résultats montrèrent qu'après exposition à l'allergène, les souris traitées ne présentaient plus le phénotype d'allergie sévère. Le traitement réduit le taux d'IgE induit au contact de l'allergène et réduit le taux de médiateurs intervenant dans la cascade allergique. Ils montrèrent que les souris traitées étaient protégées pour une durée de cinq semaines.[193] On peut imaginer que l'avantage de cette méthode est sa non spécification et donc son application possible à tous les allergènes.
Il est également possible d'utiliser la co-expression de gènes codants pour des cytokines anti-inflammatoires : IFNγ, IL-12, IL-4, etc.[194]

La principale crainte face à ces technologies pourrait être celle d'une synthèse incontrôlée de peptides allergéniques par le corps du patient vacciné provoquant des EI graves. C'est pourquoi les recherches se concentrent sur des stratégies permettant la dégradation de l'allergène synthétisé ou sur l'utilisation d'ADN codant pour des dérivés hypoallergéniques.[133]
Les vaccins ADN anti-allergéniques sont encore à des phases d'études très précoces et seulement deux études de phases I sont aujourd'hui en cours. Il s'agit cependant d'une voie prometteuse qui pourra porter ses fruits d'ici quelques années.

4.7 Les biomarqueurs de l'immunothérapie allergénique

4.7.1 Définition et généralités sur les biomarqueurs

4.7.1.1 Définition

Les marqueurs biologiques ou biomarqueurs sont définis par *The National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group* comme « des caractéristiques qui sont objectivement mesurables et évaluables comme des indicateurs de processus biologiques normaux ou pathologiques ou des réponses pharmacologiques à des interventions thérapeutiques ».[195] Les biomarqueurs sont donc divisés en deux groupes selon qu'ils permettent de suivre l'évolution d'une pathologie ou d'un traitement comme il est montré dans le Tableau 6.

Les biomarqueurs associés à une pathologie sont des marqueurs liés à une caractéristique biologique de la pathologie et indépendants d'une intervention thérapeutique. Ils vont permettre de prédire une prédisposition éventuelle à une pathologie, aider au diagnostic de celle-ci, aider à définir le stade d'avancement de la maladie ou aider à définir l'issue probable de la pathologie indépendamment d'un traitement.[195]

Les biomarqueurs liés à une thérapie vont apporter des informations sur la réponse du patient en prédiction ou suite à une intervention thérapeutique. L'utilisation des biomarqueurs associés à une thérapie pourra donc avoir à terme deux objectifs principaux : un objectif prédictif et un objectif de suivi.

- Un biomarqueur prédictif va permettre de cibler les patients pour lesquels le médicament sera le plus efficace (patients répondeurs) et d'orienter les autres (non répondeurs) vers d'autres solutions thérapeutiques. Il pourra permettre par exemple d'établir le statut immunologique d'un patient avant l'initiation du traitement ou de prédire avec précision ses effets secondaires. L'utilisation de biomarqueurs prédictifs permet la mise en place d'une médecine « personnalisée », adaptée au patient ou à une sous-population précise de patients.
- Un biomarqueur de suivi de l'efficacité d'un traitement d'ITA va permettre de suivre la désensibilisation à court terme et à long terme. A court terme, cela permettrait d'adapter les modalités thérapeutiques (durée du traitement, protocoles d'immunisation) ou d'anticiper les problèmes de tolérance en détectant une réponse thérapeutique précoce. A long terme, cela permettrait d'adapter les posologies en fonction de l'évolution du statut immunologique du patient et de suivre l'efficacité du traitement à long terme en détectant l'apparition et le maintien d'une tolérance et définir s'il est possible d'arrêter le traitement.[196]

	Types de biomarqueurs	Applications
Biomarqueurs associés à la pathologie	Biomarqueurs diagnostic	Prédire la gravité ou la progression de la maladie afin d'orienter le traitement.
	Biomarqueurs de risque	Associé au risque de développer une pathologie.
	Biomarqueurs du stade pathologique	Evaluation de la sévérité.
	Biomarqueurs pronostiques	Indicateur de l'issue probable d'une pathologie pour un individu non traité.
Biomarqueurs associés au traitement	Biomarqueurs prédictifs de l'efficacité et de la sécurité	- Améliorer l'efficacité en sélectionnant les patients les plus susceptibles de bénéficier de l'ITA. - Réduire la taille de la cohorte nécessaire au développement clinique. - Réduire le risque ou la sévérité des effets secondaires.
	Biomarqueurs de suivi de l'efficacité à court terme	- Confirmer ou non l'efficacité du traitement après quelques semaines. - Ajuster les modalités de traitement (dosage, schéma thérapeutique).
	Biomarqueurs de suivi de l'efficacité à long terme	- Documenter si la protection immunitaire a été atteinte (décider de la poursuite ou non du traitement). - Confirmer une protection durable après l'arrêt de l'ITA, (décider de la reprise ou non du traitement).

Tableau 6. Les différents types de biomarqueurs (d'après[197]).

4.7.1.2 Caractéristiques idéales d'un biomarqueur lié à une thérapie.

Un biomarqueur idéal lié à une thérapie devra idéalement remplir les critères suivants :

- Etre détectable par des méthodes peu invasives et par des techniques répétables et facilement réalisables en routine ou lors des essais cliniques. Il devra pouvoir être dosé dans les fluides biologiques tels que la salive, les crachats ou le sang.
- Persister quelques jours ou semaines dans les liquides biologiques pour pouvoir être dosé.
- Etre généralisable, c'est-à-dire, présenter une faible variabilité biologique.
- Etre sensible et spécifique.
- Etre lié à la réponse clinique, c'est-à-dire refléter les changements physiologiques induits par l'ITA dans les organes cibles.[197]

4.7.1.3 Sources et développement de biomarqueurs

Dans de nombreux cas, les candidats biomarqueurs sont identifiés empiriquement, par des méthodes de génomique, de transcriptomique, de protéomique ou de métabolomique, à partir d'échantillons issus d'une bio-banque spécifique de la pathologie. On nomme ces technologies les « omics ». Elles permettent de réaliser des caractérisations moléculaires et facilitent l'analyse comparative entre des échantillons biologiques provenant de patients différents (répondeurs/non répondeurs) ou à des temps différents du traitement pour un patient donné (pré-traitement/post--traitement). Une fois la pertinence du biomarqueur validée dans des études *ad hoc*, le développement d'un test commercial, permettant son dosage en routine, peut être envisagé.[197]
Un biomarqueur pourra donc être la présence de cellules dans les tissus, l'expression d'un gène, des produits d'expression géniques (ARN, protéines), des métabolites, des polysaccharides, etc.

4.7.1.4 Intérêt des biomarqueurs dans le développement d'un traitement

L'utilisation de biomarqueurs permet d'optimiser les étapes de développement du médicament et va servir des objectifs scientifiques, médicaux et économiques, avant et après la mise sur le marché du médicament. Ces différents objectifs sont résumés dans le Tableau 7. D'un point de vue pharmaco-économique, le développement de biomarqueurs pour l'ITA pourrait permettre une économie importante en proposant le bon traitement au bon patient.

	Phases avant la mise sur le marché	**Phases après la mise sur le marché**
Objectifs scientifiques et médicaux	<u>Réduire le taux d'attrition</u> - Eliminer rapidement les candidats médicaments les moins efficaces (phases I/II/III) - Anticiper les échecs en phases avancées du développement (phase III notamment) <u>Améliorer le ratio bénéfice/risque</u> - Améliorer l'efficacité thérapeutique en raison du ciblage des patients répondeurs - Diminuer la toxicité du médicament	<u>Améliorer le ratio bénéfice/risque</u> - Diminuer les effets secondaires - Eviter les rappels de produits - Améliorer la qualité et la durée de vie des patients
Objectifs économiques	<u>Identification de nouvelles populations cible</u> - Optimisation de la R&D - Réduire la taille des cohortes grâce à la stratification	<u>Dynamiser le cycle de vie du médicament</u> - Générer un retour sur investissement plus important - Avantage compétitif sur les concurrents

Tableau 7. Intérêts du développement de biomarqueurs dans le cycle de vie du médicament (d'après[198])

4.7.1.5 Contexte réglementaire

Les biomarqueurs s'inscrivent dans un contexte réglementaire et éthique précis. Ils entrent dans le cadre réglementaire des dispositifs médicaux et dans la sous-catégorie des tests de diagnostic *in vitro*. En Europe, ils sont régis par la directive 98/79/CE et régulés par la Commission Européenne (et non l'*European Medicines Agency*). Ils sont régulés par la FDA aux Etats-Unis.
D'un point de vue éthique, en France, la loi du 4 mars 2002, relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé, interdit aux assureurs d'exiger la réalisation de tests, de demander les résultats de ces tests et d'en tenir compte. Aux Etats-Unis, le 25 avril 2008, le Sénat a voté une loi pour interdire aux compagnies privées d'assurance maladie d'utiliser les données génétiques pour déterminer le montant des primes ou l'éligibilité au programme de remboursement ainsi qu'interdire aux employeurs d'utiliser ces informations dans le but d'embaucher, licencier ou promouvoir un salarié.[198]

4.7.1.6 Biomarqueurs de la réponse à l'ITA

4.7.1.6.1 Challenges pour l'identification de biomarqueurs pour l'ITA

La physiopathologie des maladies allergiques est très complexe et dépend de très nombreux facteurs comme les conditions d'exposition aux allergènes (saisonnier / perannuel, doses et voies d'administration), la monosensibilisation *vs* la polysensibilisation, la survenue d'infections, les prédispositions génétiques, etc. Par exemple, la plupart des patients développant une allergie aux pollens ou alimentaire auraient une réponse immunitaire essentiellement Th2 à une exposition, alors que ceux allergiques aux acariens développeraient une réponse Th2/Th1 ou même, Th1/Th17.[197] Dans ce contexte, le développement de biomarqueurs spécifiques à toutes les ITA, semble difficile.

4.7.1.6.2 Biomarqueurs prédictif de l'efficacité de l'ITA

Les biomarqueurs utiles pour prédire la réponse à un traitement biologique ou pharmacologique ont été identifiés pour l'asthme allergique. Par exemple, des patients avec un haut niveau de périastine dans leur sérum, une augmentation du taux d'éosinophiles dans leurs expectorations ou un taux important de biomarqueurs de l'inflammation tel que la fraction d'oxyde nitrique exhalé (FeNO) ont un asthme médié par des LTh2 et montrent une réponse positive aux corticoïdes et aux anticorps anti-IL-13.[199]
Des analyses transcriptomiques ont été utilisées pour comparer des enfants présentant un asthme contrôlé à des enfants présentant un asthme résistant et ont montré des profils d'expression de gènes différents. Par exemple, l'expression de la méthylation du gène Vanin-1 dans les cellules épithéliales nasales peut être utilisée pour discriminer les patients asthmatiques non répondeurs à ceux répondeurs aux corticoïdes.[197]

Concernant les allergies respiratoires et alimentaires, différentes valeurs biologiques ont été identifiées comme candidat biomarqueur prédictif de l'efficacité de l'ITA. Une étude rétrospective a été réalisée chez 174 patients monosensibilisés et traités par un traitement sublingual durant trois ans. L'étude a montré que la mesure du taux d'IgE spécifiques sériques avant le commencement du traitement pouvait aider à identifier les patients répondeurs.[200]

Le travail réalisé dans le cadre de la thèse doctorale de Madame Noémie Caillot[201] a permis d'identifier un variant sialylé de la protéine Fétuine-A comme un potentiel candidat biomarqueur. Cette protéine est exprimée différemment chez des groupes de patients recevant un traitement d'ITA et présentant une amélioration clinique et chez des patients traités mais pour lesquels le bénéfice clinique est moindre. Ces variations sont observées avant que les patients n'aient reçu le traitement, ce qui fait de la Fétuine-A un possible candidat biomarqueur prédictif de l'efficacité du traitement. Cependant, son rôle dans la mise en place ou la régulation de l'inflammation allergique est aujourd'hui encore inconnu.

4.7.1.6.1 Biomarqueurs de suivi de l'efficacité à court terme et à long terme

L'immunothérapie spécifique est un traitement qui permet de rééquilibrer la balance immune des patients allergiques (d'une réponse Th2 à une réponse de type Th1/Trég) de manière spécifique à l'allergène. Un biomarqueur adapté à l'ITA doit alors concerner plutôt la modification de paramètres immuns.[196] Ainsi, différents paramètres immunologiques sont à l'étude en tant que candidats biomarqueurs.

Les changements dans la polarisation des LT CD4+ ont été investigués. En effet, les traitements d'ITA SCIT, SLIT, OIT et EPIT ont montré qu'ils pouvaient induire une augmentation des taux de nLTrég (exprimant Foxp3), de LTr1 et de LTh3. Ces traitements ont également montré qu'ils permettaient d'induire une augmentation des taux de LTh1 et une réduction des taux de LTh2. Il est cependant difficile de connaître la cinétique exacte de ces changements. En effet, dans certaines publications, la réduction en LTh2 intervient quelques mois après le début du traitement et avant l'augmentation du taux de LTrég. Alors que c'est le contraire qui est démontré dans d'autres études où les LTrég sont induits dans les premiers mois du traitement, avant les LTh2. De plus, les changements dans la polarisation des LT CD4+ n'ont pas été corrélés avec une amélioration clinique des patients dans toutes les études et au contraire, certaines études n'ont pas trouvé de changement dans la polarisation des LT CD4+, malgré des améliorations cliniques.[197]

La réduction de la proportion d'IgE spécifiques de l'allergène par rapport à la proportion d'IgE totaux et l'augmentation de la proportion d'IgG1 et d'IgG4 dans le sang ont été étudiées pour renseigner la réponse à l'ITA. En effet, dans la plupart des études, l'augmentation de la fraction d'IgG spécifiques par rapport à la fraction d'IgE spécifiques est associée à l'amélioration clinique ou au succès du traitement. De même, une réduction du rapport IgE spécifique par rapport aux IgE totaux est associée à une amélioration clinique.[202] Cela n'est cependant pas toujours le cas. Certaines études, notamment

dirigées contre l'allergie aux acariens ont montré des résultats contradictoires avec des patients répondeurs cliniques qui ne présentaient pas de réponse humorale détectable. [203]

Une autre piste serait la mesure de l'activité inhibitrice des IgG pour l'activation des cellules effectrices sensibilisées par les IgE spécifiques de l'allergène. En effet, les IgG inhibent l'interaction entre les IgE et les allergènes et entre les IgE et leur récepteur FcƐRIIb par un phénomène de compétition. Dans une étude, l'activité bloquante des IgG est dosée dans le sérum de patients en analysant l'inhibition de l'activité du récepteur FcƐRIIb dépendante de la liaison au complexe IgE-allergène. Ainsi, l'augmentation de cette activité serait corrélée avec l'efficacité clinique du traitement.[120] Dans ce sens, le test IgE-FAB est un test basé sur la technologie de la cytométrie de flux, très reproductible, qui fut développée pour détecter la liaison du complexe IgE-allergène aux LB exprimant les récepteurs FcƐRIIb à leur surface. Une alternative moins complexe a également été développée, avec le test *Enzyme_linked Immunosorbent Facilitated Antigen Binding* (ELIFAB) qui utilise les principes de base du test ELISA. [204]

Les marqueurs des CD ont aussi été étudiés pour établir un lien entre leur modulation et l'efficacité du traitement. Ainsi, deux marqueurs protéiques ont été mis en évidence comme marqueurs de suivi de l'efficacité de l'ITA. Une étude a observé l'évolution de l'expression de différentes protéines dans le sérum de patients allergiques aux pollens de graminées. L'étude a ainsi conclu que l'expression du composant 1 du complément (C1q) et l'expression de la stabinile-1 (STAB1) augmentent dans les leucocytes des patients répondants au traitement par rapport aux non répondants et à ceux traités par le placebo, après quatre mois de traitement. L'expression de ces deux protéines constituerait donc un biomarqueur candidat de l'efficacité précoce de l'ITA.[205] Cependant, les procédés mis en place pour réaliser leur quantification sont lourds et le dosage de ces biomarqueurs en routine est encore difficile.

La mesure de l'activation des basophiles représente un paramètre d'étude intéressant pour le suivi de la réponse ITA. Il est possible de mesurer la libération d'histamine ou l'expression du marqueur d'activation des basophiles CD203c.[196] Cependant, ces résultats sont controversés, certaines études ne montrent pas de réduction significative de l'activation des basophiles.[206]

Actuellement, il n'y a aucun biomarqueur prédictif et de suivi de l'efficacité de l'ITA validé de manière consensuelle. Cependant, de nombreuses études tentent d'investiguer de nouveaux candidats biomarqueurs. La découverte de tels biomarqueurs est essentielle pour améliorer la sélection des patients les plus susceptibles de répondre au traitement et améliorer leur prise en charge au cours du traitement.

5 Conclusion

L'hypersensibilité de type I ou allergie est une maladie complexe, de par la multiplicité des facteurs d'origine et du phénotype des patients qui peuvent développer des symptômes de rhinite allergique, d'asthme allergique, d'allergie alimentaire, de dermatite atopique ou même des réactions anaphylactiques.
Cette pathologie s'explique par l'engagement du système immunitaire dans une réponse exagérée à un allergène, normalement sans danger pour l'organisme. Cette réponse va se caractériser par un déséquilibre de la balance Th2/Th1 en faveur des Th2.

Depuis plus d'un siècle, des traitements d'ITA spécifiques sont utilisés et continuellement améliorés. Ils sont aujourd'hui les seuls traitements capables d'améliorer durablement les symptômes cliniques de l'allergie et même d'en guérir en induisant un état de tolérance vis-à-vis de l'allergène, en inhibant les réponses Th2 et en réorientant les réponses du système immunitaire vers des réponses Th1/Trég.
Aujourd'hui, les traitements d'ITA commercialisés sont basés sur des extraits allergéniques naturels. Cependant, depuis une dizaine d'années, une attention toute particulière est portée sur l'utilisation d'allergènes recombinants, modifiés ou non. Les études cliniques menées sur ces traitements tendent à démontrer qu'ils sont plus efficaces, plus sûrs et mieux caractérisés que les traitements d'ITA conventionnels. Un autre avantage important est qu'ils permettent une fabrication standardisée.
Nous avons également vu que l'utilisation d'agents immunostimulants couplés chimiquement ou moléculairement aux protéines allergéniques, ainsi que l'utilisation de systèmes vectoriels permettent de cibler spécifiquement les CD et d'augmenter les réponses Th1/Trég. Ces méthodes sont aujourd'hui en cours d'investigation dans des études de phase I et II avec des résultats encourageants appelant à de futures investigations sur de plus grandes cohortes de patients.
Ainsi, l'utilisation d'allergènes recombinants plus ou moins modifiés, associés à des adjuvants ou à des systèmes vectoriels appropriés permettrait de développer des traitements d'ITA plus efficaces et plus sûrs dans un futur proche. L'association de plusieurs de ces stratégies pour un même extrait allergénique est courante dans la littérature.

L'utilisation de nouvelles voies d'administration permet également d'améliorer les traitements d'ITA de manière importante. Les voies épicutanées et intralymphatiques en particulier montrent des résultats très encourageants. La technique de vaccin ADN, bien qu'encore embryonnaire est une alternative intéressante et pourrait bien devenir l'avenir de la vaccination, anti-allergénique comme anti-infectieuse ou anti-cancéreuse.

Enfin, une meilleure utilisation de l'ITA doit également passer par l'identification de biomarqueurs prédictifs de l'efficacité de l'ITA, ainsi que de biomarqueurs de suivi de son efficacité à court terme et à long terme. En effet, ce type de marqueurs permettrait de sélectionner les patients répondeurs pour lesquels le traitement aura le meilleur bénéfice clinique et d'améliorer le suivi pour permettre d'adapter

les protocoles. L'utilisation de biomarqueurs permettrait donc d'optimiser les traitements d'ITA et indirectement d'accroître leur efficacité.

Références bibliographiques

1. Calderon MA, Demoly P, Wijk RG van, et al. EAACI: A European Declaration on Immunotherapy. Designing the future of allergen specific immunotherapy. *Clin Transl Allergy*. 2012;2(1):20.

2. WHO | Asthma. WHO. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/en/. Accessed March 23, 2017.

3. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008*. *Allergy*. 2008;63:8-160.

4. Bousquet P-J, Rance F, Deschildre A, de Blay F, Lefrant J-Y, Demoly P. Les conditions de sécurité pour la réalisation des tests de provocation en allergologie. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 2007;47(4):323-332.

5. Janeway CA. *Immunobiologie: le système immunitaire fondamental et pathologique*. De Boeck; 2003.

6. Chatenoud L., Bach JF. *Immunologie*. 6ème édition. Lavoisier Médecine Sciences; 2012. http://www.unitheque.com/Livre/lavoisier_medecine_sciences/De_la_biologie_a_la_clinique/Immunologie-58329.html. Accessed September 10, 2016.

7. Gell PGH, Coombs RRA. *Clinical Aspects of Immunology,*. Oxford: Blackwell; 1963.

8. Owen J, Punt J, Stranford S. *Immunologie - 7e édition: Le cours de Janis Kuby avec questions de révision*. Dunod; 2014.

9. Zimmer A. Caractérisation immunologique et protéomique des cellules dendritiques tolérogènes humaines. Application à la recherche de biomarqueurs de l'immunothérapie spécifique allergénique. September 2011. http://www.theses.fr/2011PA114818. Accessed September 10, 2016.

10. Dutau DG, Scheinmann PP. *Immunothérapie spécifique*. John Libbey Eurotext; 2004. http://www.jle.com/fr/ouvrages/e-docs/immunotherapie_specifique_262282/ouvrage.phtml. Accessed September 10, 2016.

11. D'Amato G, Pawankar R, Vitale C, et al. Climate Change and Air Pollution: Effects on Respiratory Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2016;8(5):391-395.

12. Salo PM, Arbes SJ, Crockett PW, Thorne PS, Cohn RD, Zeldin DC. Exposure to multiple indoor allergens in US homes and relationship to asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(3):678-684.e2.

13. Asthme et biodiversité environnementale. D'après la communication de T. Haahtela (Finlande) session "Biodiversité dans l'asthme".

14. Romagnani S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology*. 2004;112(3):352-363.

15. Faber C. Revisiter l'allergie pollinique à l'aube des changements environnementaux.June 2015.

16. Bouzigon E. Asthme : du phénotype aux génotypes. */data/revues/18770320/v50i3/S187703201000059X/*. April 2010. http://www.em-consulte.com/en/article/248332#N10088. Accessed November 22, 2016.

17. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(3):466-476.

18. Guiu G. Evaluation de la prise en charge de la rhinite allergique en médecine générale: Etat des lieux dans le Val de Marne. 2010.

19. Vervloet D. *Traité d'allergologie*. Flammarion médecine-sciences; 2003.

20. Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. *Immunobiology*. 5th ed. Garland Science; 2001.

21. Mukai K, Tsai M, Starkl P, Marichal T, Galli SJ. IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol*. 2016;38(5):581-603.

22. Bacharier LB, Geha RS. Molecular mechanisms of IgE regulation. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(2 Pt 2):S547-558.

23. Broide DH. Molecular and cellular mechanisms of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(2):S65-S71.

24. Teixeira LK, Fonseca BP, Barboza BA, Viola JP. The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100:137-144.

25. Meyer N, Zimmermann M, Bürgler S, et al. IL-32 is expressed by human primary keratinocytes and modulates keratinocyte apoptosis in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(4):858-865.e10.

26. Jutel M, Akdis M, Blaser K, Akdis CA. Mechanisms of allergen specific immunotherapy--T-cell tolerance and more. *Allergy*. 2006;61(7):796-807.

27. Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):621-631.

28. Akkoc T, Akdis M, Akdis CA. Update in the Mechanisms of Allergen-Specific Immunotheraphy. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2011;3(1):11-20.

29. Moingeon P, Batard T, Fadel R, Frati F, Sieber J, Van Overtvelt L. Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immunotherapy. *Allergy*. 2006;61(2):151-165.

30. Akkoc T, de Koning PJA, Rückert B, Barlan I, Akdis M, Akdis CA. Increased activation-induced cell death of high IFN-gamma-producing T(H)1 cells as a mechanism of T(H)2 predominance in atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(3):652-658.e1.

31. Akdis M, Verhagen J, Taylor A, 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(11):1567-1575.

32. Bonvalet M. Caractérisation et suivi chez l'Homme des réponses lymphocytaires T CD4 périphériques spécifiques d'allergènes, naturelles ou induites lors de traitements par immunothérapie allergénique.

33. Devillier P. Les leucotriènes. Des médiateurs de l'inflammation bronchique dans l'asthme. 1998;(n°2).

34. Matsuoka T, Hirata M, Tanaka H, et al. Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma. *Science*. 2000;287(5460):2013-2017.

35. Pearlman DS. Pathophysiology of the inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104(4 Pt 1):S132-137.

36. Larché M, Akdis CA, Valenta R. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(10):761-771.

37. Physiopathologie de l'hypersensibilité immédiate (HSI). http://www.assim.refer.org/colleges/colleges/styled/files/page80-l3.2.hypersensibilite0301-imme0301diate.pdf. Accessed September 2, 2016.

38. Shalit M, Campbell DE, Allmen C von, Atkins PC, Douglas SD, Zweiman B. Neutrophil activation in human inflammatory skin reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 1987;80(1):87-93.

39. Monteseirín J. Neutrophils and asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(5):340-354.

40. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27 Suppl 23:1-250.

41. Pomés A, Chruszcz M, Gustchina A, Wlodawer A. Interfaces Between Allergen Structure and Diagnosis: Know Your Epitopes. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(8):506.

42. Kauffman HF, Tamm M, Timmerman JAB, Borger P. House dust mite major allergens Der p 1 and Der p 5 activate human airway-derived epithelial cells by protease-dependent and protease-independent mechanisms. *Clin Mol Allergy CMA*. 2006;4:5.

43. Le UH, Burks AW. Oral and sublingual immunotherapy for food allergy. *World Allergy Organ J*. 2014;7:35.

44. Sicherer SH, Sampson HA. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: pathophysiology, epidemiology, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104(3 Pt 2):S114-122.

45. Sussman G, Sussman A, Sussman D. Oral allergy syndrome. *CMAJ Can Med Assoc J*. 2010;182(11):1210-1211.

46. Fontaine J-F, Pauli G. Allergies croisées : de la théorie à la pratique. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 2006;46(5):484-487.

47. Metz-Favre C, Rame J-M, Pauli G, de Blay F. La tropomyosine : un pan-allergène. *Rev Fr Allergol*. 2009;49(5):420-426.

48. Worm M, Jappe U, Kleine-Tebbe J, et al. Food allergies resulting from immunological cross-reactivity with inhalant allergens: Guidelines from the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI), the German Dermatology Society (DDG), the Association of German Allergologists (AeDA) and the Society for Pediatric Allergology and Environmental Medicine (GPA). *Allergo J Int*. 2014;23(1):1-16.

49. Minciullo PL, Paolino G, Vacca M, Gangemi S, Nettis E. Unmet diagnostic needs in contact oral mucosal allergies. *Clin Mol Allergy CMA*. 2016;14(1):10.

50. Nguyen M. Le syndrome d'allergie orale. *Médecin Qué*. 2009;44(5).

51. Demoly P, Hillaire-Buys D, Raison-Peyron N, Godard P, Michel F-B, Bousquet J. Identifier et comprendre les allergies médicamenteuses. *MS M233decine Sci*. 2003;19(3):327-336.

52. Larsen JN, Broge L, Jacobi H. Allergy immunotherapy: the future of allergy treatment. *Drug Discov Today*. 2016;21(1):26-37.

53. Morisset M, Morel-Codreanu F, Hilger C, Lehners C, Kuehn A, Hentges F. Les facteurs de risque d'allergie alimentaire chez l'adulte. *Rev Fr Allergol*. 2014;54(7):513-518.

54. Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Flabbee J, Beaudouin E, Kanny G. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy*. 2005;60(4):443-451.

55. Min Y-G. The pathophysiology, diagnosis and treatment of allergic rhinitis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2010;2(2):65-76.

56. Radulovic S, Calderon MA, Wilson D, Durham S. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(12):CD002893.

57. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J*. 2008;31(1):143-178.

58. Wollenberg A, Kraft S, Oppel T, Bieber T. Atopic dermatitis: pathogenetic mechanisms. *Clin Exp Dermatol*. 2000;25(7):530-534.

59. U.S. Département of health and human services. Food Allergy: An Overview. July 2012. www.niaid.nih.gov.

60. Keet CA, Wood RA. Emerging therapies for food allergy. *J Clin Invest*. 2014;124(5):1880-1886.

61. Dossier du Collège des Enseignants en Dermatologie de France. Tests cutanés allergologiques.May 2011:10.

62. Antunes J, Borrego L, Romeira A, Pinto P. Skin prick tests and allergy diagnosis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2009;37(3):155-164.

63. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(6):S1-S58.

64. Masson H. L'allergologie moléculaire : Intérêt et limites. *Rev Fr Allergol*. 2011;51:S24-S28.

65. Bousquet J, Schünemann HJ, Samolinski B, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA): Achievements in 10 years and future needs. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(5):1049-1062.

66. Larsen JN, Broge L, Jacobi H. Allergy immunotherapy: the future of allergy treatment. *Drug Discov Today*. 2016;21(1):26-37.

67. Freeman J. Further observations on the treatment of hay fever by hypodermic inoculations of pollen vaccine. *The Lancet*. 1911;178(4594):814-817.

68. Scadding GK, Brostoff J. Low dose sublingual therapy in patients with allergic rhinitis due to house dust mite. *Clin Allergy*. 1986;16(5):483-491.

69. Canonica GW, Passalacqua G. Noninjection routes for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(3):437-448; quiz 449.

70. Incorvaia C, Frati F. One century of allergen-specific immunotherapy for respiratory allergy. *Immunotherapy*. 2011;3(5):629-635.

71. Burks AW, Calderon MA, Casale T, et al. Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(5):1288-1296.e3.

72. Jutel M, Agache I, Bonini S, et al. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(3):556-568..

73. Subcutaneous immunotherapy. *Allergy*. 2006;61:5-13.

74. Noninjective immunotherapy. *Allergy*. 2006;61:14-20.

75. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102(4 Pt 1):558-562.

76. Lin SY, Erekosima N, Suarez-Cuervo C, et al. *Allergen-Specific Immunotherapy for the Treatment of Allergic Rhinoconjunctivitis And/Or Asthma: Comparative Effectiveness Review*.

Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2013. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK133240/. Accessed October 8, 2016.

77. Cox LS, Larenas Linnemann D, Nolte H, Weldon D, Finegold I, Nelson HS. Sublingual immunotherapy: a comprehensive review. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(5):1021-1035.

78. Leduc V. Production et standardisation des extraits allergéniques en 2011. *Rev Fr Allergol*. 2011;51(3):278-281.

79. Cox L, Jacobsen L. Comparison of allergen immunotherapy practice patterns in the United States and Europe. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. 2009;103(6):451-459-461, 495.

80. Casset A. Méthodes d'obtention d'un allergène recombinant. */data/revues/18770320/v51i3/S1877032011000649/*. April 2011. http://www.em-consulte.com/en/article/285747. Accessed February 20, 2017.

81. EMEA/CHMP/BWP/304831/2007. Guideline on allergen products: production and quality issues.May2007.http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/includes/document/document_detail.jsp?webContentId=WC500003327&mid=WC0b01ac058009a3dc. Accessed October 2, 2016.

82. *Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use.* http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol1/dir_2001_83_cons2009/2001_83_cons2009_en.pdf.

83. Blay F de, Doyen V, Bloch-Morot E, et al. Amélioration du processus décisionnel pour l'application du décret APSI : l'expérience française. */data/revues/18770320/v50i3/S1877032010000783/*. April 2010. http://www.em-consulte.com/en/article/248324. Accessed December 4, 2016.

84. Kyewski B, Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:571-606.

85. Lemoine F, Lebranchu Y, Boyer O, Béné M-C, Yacine Taoufik. Immunité adaptative : Lymphocytes T régulateurs et notion de tolérance. Association des collèges des enseignants d'immunologie des universités de langues françaises. October 2011. http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-13.-t-regulateurs-et-tolerance.pdf.

86. Taams LS, Akbar AN. Peripheral Generation and Function of CD4+CD25+ Regulatory T Cells. In: Compans RW, Cooper MD, Honjo T, et al., eds. *CD4+CD25+ Regulatory T Cells: Origin, Function and Therapeutic Potential*. Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer Berlin Heidelberg; 2005:115-131.

87. Zheng Y, Zha Y, Gajewski TF. Molecular regulation of T-cell anergy. *EMBO Rep*. 2008;9(1):50-55.

88. Mueller DL. Mechanisms maintaining peripheral tolerance. *Nat Immunol*. 2010;11(1):21-27.

89. Gorelik M, Frischmeyer-Guerrerio PA. Innate and adaptive dendritic cell responses to immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2015;15(6):575-580.

90. Lambrecht BN, Hammad H. The role of dendritic and epithelial cells as master regulators of allergic airway inflammation. *Lancet Lond Engl*. 2010;376(9743):835-843.

91. Tuettenberg A, Huter E, Hubo M, et al. The Role of ICOS in Directing T Cell Responses: ICOS-Dependent Induction of T Cell Anergy by Tolerogenic Dendritic Cells. *J Immunol*. 2009;182(6):3349-3356.

92. 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 Baltim Md 1950*. 1998;160(8):4090-4097.

93. Froidure A, Pilette C. [Human dendritic cells in allergic asthma and rhinitis]. *Med Sci MS*. 2015;31(2):151-158.

94. Tversky JR, Bieneman AP, Chichester KL, Hamilton RG, Schroeder JT. Subcutaneous allergen immunotherapy restores human dendritic cell innate immune function. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2010;40(1):94-102.

95. Botturi K, Pipet A, Birnbaum J, Lacoeuille Y, Vervloet D, Magnan A. Immunothérapie spécifique des allergènes : un modèle unique d'induction de tolérance chez l'homme. *Rev Fr Allergol*. 2009;49(3):206-210.

96. Leech MD, Benson RA, De Vries A, Fitch PM, Howie SEM. Resolution of Der p1-induced allergic airway inflammation is dependent on CD4+CD25+Foxp3+ regulatory cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2007;179(10):7050-7058.

97. 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(6):1467-1472, 1472.e1.

98. Weiner HL. Induction and mechanism of action of transforming growth factor-β-secreting Th3 regulatory cells. *Immunol Rev*. 2001;182(1):207-214.

99. Arnaboldi PM, Roth-Walter F, Mayer L. Suppression of Th1 and Th17, but not Th2, responses in a CD8+ T cell mediated model of oral tolerance. *Mucosal Immunol*. 2009;2(5):427-438.

100. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(4):735-746-748.

101. Fecteau S, Basadonna GP, Freitas A, Ariyan C, Sayegh MH, Rothstein DM. CTLA-4 up-regulation plays a role in tolerance mediated by CD45. *Nat Immunol*. 2001;2(1):58-63.

102. Hwu P, Du MX, Lapointe R, Do M, Taylor MW, Young HA. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Production by Human Dendritic Cells Results in the Inhibition of T Cell Proliferation. *J Immunol*. 2000;164(7):3596-3599.

103. Mamessier E, Botturi K, Vervloet D, Magnan A. [T regulatory lymphocytes, atopy and asthma: a new concept in three dimensions]. *Rev Mal Respir*. 2005;22(2 Pt 1):305-311.

104. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci*. 2010;107(9):4275-4280.

105. Botturi K, Lacoeuille Y, Cavaillès A, Vervloet D, Magnan A. Differences in allergen-induced T cell activation between allergic asthma and rhinitis: Role of CD28, ICOS and CTLA-4. *Respir Res*. 2011;12(1):25.

106. Taylor A, Verhagen J, Blaser K, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor-beta: the role of T regulatory cells. *Immunology*. 2006;117(4):433-442.

107. Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, Marshall J, Umetsu DT. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. *J Exp Med*. 1993;178(6):2123-2130.

108. Blaser K, Akdis CA. Interleukin-10, T regulatory cells and specific allergy treatment. *Clin Exp Allergy*. 2004;34(3):328-331.

109. Jutel M, Akdis M, Budak F, 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(5):1205-1214.

110. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wüthrich B, Blaser K. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest*. 1998;102(1):98-106.

111. Fujita H, Soyka MB, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Clin Transl Allergy*. 2012;2:2.

112. Hoarau C, Bérard F. Mécanismes d'action de l'immunothérapie spécifique de l'allergène.

113. Håkansson L, Heinrich C, Rak S, Venge P. Activation of B-lymphocytes during pollen season. Effect of immunotherapy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 1998;28(7):791-798.

114. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1):18-27.

115. Sugimoto M, Kamemura N, Nagao M, et al. Differential response in allergen-specific IgE, IgGs, and IgA levels for predicting outcome of oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27(3):276-282.

116. Milovanovic M, Heine G, Zuberbier T, Worm M. Allergen extract-induced interleukin-10 in human memory B cells inhibits immunoglobulin E production. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2009;39(5):671-678.

117. Flicker S, Valenta R. Renaissance of the blocking antibody concept in type I allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003;132(1):13-24.

118. Burton OT, Logsdon SL, Zhou JS, et al. Oral immunotherapy induces IgG antibodies that act through FcγRIIb to suppress IgE-mediated hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(6):1310-1317.e6.

119. Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, et al. Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2004;172(5):3252-3259.

120. Shamji MH, Ljørring C, Francis JN, et al. Functional rather than immunoreactive levels of IgG4 correlate closely with clinical response to grass pollen immunotherapy. *Allergy*. 2012;67(2):217-226.

121. Jutel M, Agache I, Bonini S, et al. International Consensus on Allergen Immunotherapy II: Mechanisms, standardization, and pharmacoeconomics. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(2):358-368.

122. Magnan A, Marin V, Mély L, et al. Venom immunotherapy induces monocyte activation. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2001;31(8):1303-1309.

123. Nelson HS. Allergen immunotherapy: where is it now? *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(4):769-779.

124. Sledge R. Treatment of hay fever with alum-precipitated pollen extract. *J Allergy*. 1938;9(4):424.

125. Senti G, Kündig TM. Novel Delivery Routes for Allergy Immunotherapy: Intralymphatic, Epicutaneous, and Intradermal. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016;36(1):25-37.

126. Immunotherapy for Allergies: Background, Indications, Contraindications. September 2016. http://emedicine.medscape.com/article/1588289-overview#a6. Accessed March 24, 2017.

127. Valenta R, Campana R, Focke-Tejkl M, Niederberger V. Vaccine development for allergen-specific immunotherapy based on recombinant allergens and synthetic allergen peptides: Lessons from the past and novel mechanisms of action for the future. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(2):351-357.

128. Casset A, Mari A, Purohit A, et al. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial Dermatophagoides pteronyssinus extracts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(3):253-262.

129. Casset A, Valenta R, Vrtala S. Allergen content and in vivo allergenic activity of house dust mite extracts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161(3):287-288.

130. Valovirta E. Effect of AIT in children including potential to prevent the development of asthma. *Allergy*. 2011;66 Suppl 95:53-54.

131. Bousquet J, Anto J, Sunyer J, et al. Pooling birth cohorts in allergy and asthma: European Union-funded initiatives - a MeDALL, CHICOS, ENRIECO, and GA^{2}LEN joint paper. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161(1):1-10.

132. Valenta R, Campana R, Marth K, van Hage M. Allergen-specific immunotherapy: from therapeutic vaccines to prophylactic approaches. *J Intern Med*. 2012;272(2):144-157.

133. Valenta R, Ferreira F, Focke-Tejkl M, et al. From Allergen Genes to Allergy Vaccines. *Httpdxdoiorg101146annurev-Immunol-030409-101218*. March 2010. http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-030409-101218. Accessed March 14, 2017.

134. Akdis M. New treatments for allergen immunotherapy. *World Allergy Organ J*. 2014;7:23.

135. Jutel M, Solarewicz-Madejek K, Smolinska S. Recombinant allergens. *Hum Vaccines Immunother*. 2012;8(10):1534-1543.

136. Mösges R, Ritter B, Kayoko G, Allekotte S. Carbamylated monomeric allergoids as a therapeutic option for sublingual immunotherapy of dust mite- and grass pollen-induced allergic rhinoconjunctivitis: a systematic review of published trials with a meta-analysis of treatment using Lais® tablets. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2010;19(3):3-10.

137. Nguyen NT, Raskopf E, Shah-Hosseini K, Zadoyan G, Mösges R. A review of allergoid immunotherapy: is cat allergy a suitable target? *Immunotherapy*. 2016;8(3):331-349.

138. Pauli G, Larsen TH, Rak S, et al. Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(5):951-960.

139. Jutel M, Jaeger L, Suck R, Meyer H, Fiebig H, Cromwell O. Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(3):608-613.

140. Marth K, Focke-Tejkl M, Lupinek C, Valenta R, Niederberger V. Allergen Peptides, Recombinant Allergens and Hypoallergens for Allergen-Specific Immunotherapy. *Curr Treat Options Allergy*. 2014;1(1):91-106.

141. 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):775-783.

142. Vrtala S, Hirtenlehner K, Vangelista L, et al. Division of the major birch pollen allergen, Bet v 1, into two non-anaphylactic fragments. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;113(1-3):246-248.

143. Linhart B, Valenta R. Mechanisms underlying allergy vaccination with recombinant hypoallergenic allergen derivatives. *Vaccine*. 2012;30(29):4328-4335.

144. Vrtala S, Fohr M, Campana R, Baumgartner C, Valent P, Valenta R. Genetic engineering of trimers of hypoallergenic fragments of the major birch pollen allergen, Bet v 1, for allergy vaccination. *Vaccine*. 2011;29(11):2140-2148.

145. Kahlert H, Suck R, Weber B, et al. Characterization of a hypoallergenic recombinant Bet v 1 variant as a candidate for allergen-specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;145(3):193-206.

146. Fujimura T, Fujinami K, Ishikawa R, et al. Recombinant Fusion Allergens, Cry j 1 and Cry j 2 from Japanese Cedar Pollen, Conjugated with Polyethylene Glycol Potentiate the Attenuation of Cry j 1-Specific IgE Production in Cry j 1-Sensitized Mice and Japanese Cedar Pollen Allergen-Sensitized Monkeys. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168(1):32-43.

147. Moingeon P. Will Allergen Fusion Bring New Energy to Immunotherapy? *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168(2):107-109.

148. Valenta R, Hayek B, Seiberler S, et al. Calcium-binding allergens: from plants to man. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998;117(3):160-166.

149. Larché M. Update on the current status of peptide immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(4):906-909.

150. Müller U, Akdis CA, Fricker M, 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):747-754.

151. Worm M, Patel D, Creticos PS. Cat peptide antigen desensitisation for treating cat allergic rhinoconjunctivitis. *Expert Opin Investig Drugs*. 2013;22(10):1347-1357.

152. Prickett SR, Rolland JM, O'Hehir RE. Immunoregulatory T cell epitope peptides: the new frontier in allergy therapy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2015;45(6):1015-1026.

153. Focke-Tejkl M, Weber M, Niespodziana K, et al. Development and characterization of a recombinant, hypoallergenic, peptide-based vaccine for grass pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(5):1207-1217.e11.

154. Al-Barwani F, Donaldson B, Pelham SJ, Young SL, Ward VK. Antigen delivery by virus-like particles for immunotherapeutic vaccination. *Ther Deliv*. 2014;5(11):1223-1240.

155. Moingeon P. Adjuvants for allergy vaccines. *Hum Vaccines Immunother*. 2012;8(10):1492-1498.

156. Gupta GK, Agrawal DK. CpG oligodeoxynucleotides as TLR9 agonists: therapeutic application in allergy and asthma. *BioDrugs Clin Immunother Biopharm Gene Ther*. 2010;24(4):225-235.

157. Tighe H, Takabayashi K, Schwartz D, 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*. 106:124-134.

158. Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, et al. Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med*. 2006;355(14):1445-1455.

159. Kündig TM, Klimek L, Schendzielorz P, Renner WA, Senti G, Bachmann MF. Is The Allergen Really Needed in Allergy Immunotherapy? *Curr Treat Options Allergy*. 2015;2(1):72-82.

160. Aryan Z, Rezaei N. Toll-like receptors as targets for allergen immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2015;15(6):568-574.

161. Mothes N, Heinzkill M, Drachenberg KJ, et al. Allergen-specific immunotherapy with a monophosphoryl lipid A-adjuvanted vaccine: reduced seasonally boosted immunoglobulin E

production and inhibition of basophil histamine release by therapy-induced blocking antibodies. *Clin Exp Allergy*. 2003;33(9):1198-1208.

162. Kündig TM, Senti G, Schnetzler G, et al. Der p 1 peptide on virus-like particles is safe and highly immunogenic in healthy adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(6):1470-1476.

163. De Souza Rebouças J, Esparza I, Ferrer M, et al. Nanoparticulate Adjuvants and Delivery Systems for Allergen Immunotherapy. *BioMed Res Int*. 2012;2012:e474605.

164. Terada T. [New therapeutic strategies, a chimeric fusion protein inhibits allergic reactivity]. *Nihon Rinsho Jpn J Clin Med*. 2009;67(11):2178-2182.

165. Rhyner C, Kündig T, Akdis CA, Crameri R. Targeting the MHC II presentation pathway in allergy vaccine development. *Biochem Soc Trans*. 2007;35(4):833-834.

166. Crameri R, Kündig TM, Akdis CA. Modular antigen-translocation as a novel vaccine strategy for allergen-specific immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009;9(6):568-573.

167. Cox L, Compalati E, Kundig T, Larche M. New directions in immunotherapy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(2):178-195.

168. Moingeon P, Mascarell L. Novel routes for allergen immunotherapy: safety, efficacy and mode of action. *Immunotherapy*. 2012;4(2):201-212.

169. Casale TB, Stokes JR. Future forms of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1):8-15-17.

170. Zinkernagel RM, Ehl S, Aichele P, Oehen S, Kündig T, Hengartner H. Antigen localisation regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity. *Immunol Rev*. 1997;156:199-209.

171. Martínez-Gómez JM, Johansen P, Erdmann I, Senti G, Crameri R, Kündig TM. Intralymphatic injections as a new administration route for allergen-specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;150(1):59-65.

172. Senti G, Prinz Vavricka BM, Erdmann I, et al. Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: a randomized controlled trial. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(46):17908-17912.

173. Moingeon P, Floch VB-L, Airouche S, Baron-Bodo V, Nony E, Mascarell L. Allergen immunotherapy for birch pollen-allergic patients: recent advances. *Immunotherapy*. 2016;8(5):555-567.

174. Johansen P, von Moos S, Mohanan D, Kündig TM, Senti G. New routes for allergen immunotherapy. *Hum Vaccines Immunother*. 2012;8(10):1525-1533.

175. Senti G, von Moos S, Kündig TM. Epicutaneous allergen administration: is this the future of allergen-specific immunotherapy? *Allergy*. 2011;66(6):798-809.

176. Senti G, Graf N, Haug S, et al. Epicutaneous allergen administration as a novel method of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(5):997-1002.

177. Senti G, Freiburghaus AU, Kundig TM. Epicutaneous/transcutaneous allergen-specific immunotherapy: rationale and clinical trials. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010;10(6):582-586.

178. DBV Technologies. https://www.dbv-technologies.com/fr. Accessed March 9, 2017.

179. Safety Study of Viaskin Peanut to Treat Peanut Allergy - Full Text View - ClinicalTrials.gov. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02916446?term=realise&rank=4. Accessed March 9, 2017.

180. Efficacy and Safety of Viaskin Milk in Children With IgE-Mediated Cow's Milk Allergy - Full Text View - ClinicalTrials.gov. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02223182?term=viaskin+milk&rank=1. Accessed March 9, 2017.

181. Hochfelder JL, Ponda P. Allergen immunotherapy: routes, safety, efficacy, and mode of action. *ImmunoTargets Ther*. 2013;2:61-71.

182. Urbanek R, Bürgelin KH, Kahle S, Kuhn W, Wahn U. Oral immunotherapy with grass pollen in enterosoluble capsules. A prospective study of the clinical and immunological response. *Eur J Pediatr*. 1990;149(8):545-550.

183. Meglio P, Giampietro PG, Gianni S, Galli E. Oral desensitization in children with immunoglobulin E-mediated cow's milk allergy--follow-up at 4 yr and 8 months. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. 2008;19(5):412-419.

184. Varshney P, Jones SM, Scurlock AM, et al. A randomized controlled study of peanut oral immunotherapy: clinical desensitization and modulation of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(3):654-660.

185. Tsai J-J, Liao E-C, Tsai F-H, Hsieh C-C, Lee M-F. The effect of local nasal immunotherapy in allergic rhinitis: using strips of the allergen dermatophagoides pteronyssinus. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. 2009;46(2):165-170.

186. Andri L, Falagiani P. Symptomatic relief after grass nasal immunotherapy: lasting efficacy after 4-5 years. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2003;13(4):228-231.

187. Schumann W. Chapter 1 - Escherichia coli Cloning and Expression Vectors. In: *Plasmids: Current Research and Future Trends*. Caister Academic Press. ; 2008:1-2.

188. Leclerc C. New Technologies for Vaccine Development. *Med Sci MS*. 2007;23(4):386-390.

189. Sudowe S, Ludwig-Portugall I, Montermann E, Ross R, Reske-Kunz AB. Transcriptional targeting of dendritic cells in gene gun-mediated DNA immunization favors the induction of type 1 immune responses. *Mol Ther*. 2003;8(4):567-575.

190. LAMP-Vax Technology. *Immunomic Ther Inc*. http://www.immunomix.com/lamp-vax-technology/. Accessed March 4, 2017.

191. A Safety and Immunogenicity Phase I Study of CryJ2-DNA-Lysosomal Associated Membrane Protein (CryJ2 -DNA-LAMP) Plasmid - Full Text View - ClinicalTrials.gov. https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01707069?term=%22DNA+vaccine%22+AND+%22allergen%22&rank=2. Accessed March 4, 2017.

192. Wu K, Bi Y, Sun K, Xia J, Wang Y, Wang C. Suppression of allergic inflammation by allergen-DNA-modified dendritic cells depends on the induction of Foxp3+ Regulatory T cells. *Scand J Immunol*. 2008;67(2):140-151.

193. Pagovich OE, Wang B, Chiuchiolo MJ, et al. Anti-hIgE gene therapy of peanut-induced anaphylaxis in a humanized murine model of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(6):1652-1662.e7.

194. Chua KY, Kuo I-C, Huang C-H. DNA vaccines for the prevention and treatment of allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009;9(1):50-54.

195. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89-95.

196. Baron-Bodo V, Tourdot S. Marqueurs biologiques et immunothérapie spécifique. *Doss Sci*. December 2009:9.

197. Moingeon P. Biomarkers for Allergen Immunotherapy: A “Panoromic” View. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016;36(1):161-179.

198. Analyse Bionet Partners. Biomarkers : The expanding global market. *Nat Rev*. March 2009.

199. Cowan DC, Taylor DR, Peterson LE, et al. Biomarker-based asthma phenotypes of corticosteroid response. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(4):877-883.e1.

200. Ciprandi G, Silvestri M, Sivestri M. Serum specific IgE: a biomarker of response to allergen immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014;24(1):35-39.

201. Caillot N. Identification, caractérisation et validation de biomarqueurs liés à l’immunothérapie allergénique. January 2015. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01249572/document. Accessed March 10, 2017.

202. Ciprandi G, Silvestri M, Sivestri M. Serum specific IgE: a biomarker of response to allergen immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014;24(1):35-39.

203. Eifan AO, Akkoc T, Yildiz A, et al. Clinical efficacy and immunological mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy in asthmatic/rhinitis children sensitized to house dust mite: an open randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2010;40(6):922-932.

204. Shamji M h., Kappen J h., Akdis M, et al. Biomarkers for Monitoring Clinical Efficacy of Allergen Immunotherapy for Allergic Rhinoconjunctivitis and Allergic Asthma: an EAACI Position Paper. *Allergy*. February 2017:n/a-n/a.

205. Zimmer A, Bouley J, Le Mignon M, et al. A regulatory dendritic cell signature correlates with the clinical efficacy of allergen-specific sublingual immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(4):1020-1030.

206. Van Overtvelt L, Baron-Bodo V, Horiot S, et al. Changes in basophil activation during grass-pollen sublingual immunotherapy do not correlate with clinical efficacy. *Allergy*. 2011;66(12):1530-1537.

207. Kaul S, May S, Lüttkopf D, Vieths S. Regulatory environment for allergen-specific immunotherapy. *Allergy*. 2011;66(6):753-764.

Annexes

Annexe 1. *Sélection de documents européens pertinents pour l'autorisation de mise sur le marché et de mise sur le marché de produits pour SIT (d'après[207]).*

Tableau 1 : Documents juridiquement contraignants
- Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the community code relating to medicinal products for human Use.
- Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to the implementation of good clinical practice (GCP) in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use.
- Commission Directive 2003/63/EC amending Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use.
- Commission Directive 2003/94/EC laying down the principles and guidelines of good manufacturing practice in respect of medicinal products for human use and investigational medicinal products for human use.
- Regulation (EC) No 726/2004 laying down Community procedures for the authorisation and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a EMA.
- Regulation 1901/2006/EC on medicinal products for paediatric use and amending Regulation (EEC) No 1768/92, Directive 2001/20/EC.
- Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004
- European Pharmacopoeia, in particular: Monograph on Allergen Products

Tableau 2 : Non juridiquement contraignants mais fortement recommandés	
Conseils sur	**Documents**
Qualité	- EMA Guideline on Allergen Products: Production and Quality Issues (CHMP/BWP/304831/2007)
	- ICH Topic Q 5 B. Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cell Lines Used for Production of r-DNA Derived Protein Products (CPMP/ICH/139/95)
	- ICH Topic Q 5 C. Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products. 1996;CPMP/ICH/138/95
	- ICH Topic Q 5 D. Note for Guidance on quality of biotechnological products: derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products (CPMP/ICH/294/95)
	- ICH Topic Q 5 E. Note for Guidance on Quality of Biotechnological/Biological Products subject to Changes in Their Manufacturing Process (CPMP/ICH/5721/03)
	- ICH Topic Q 6 B. Note for Guidance on specifications: test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products (CPMP/ICH/365/96)

	- ICH Topic Q 7. Note for Guidance on Good Manufacturing Practice for active pharmaceutical Ingredients (CPMP/ICH/4106/00)
	- ICH Topic S 6 C. Note for Guidance on quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological/biological products (CPMP/ICH/138/95)
	- EMA Guideline on comparability of medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues. (CPMP/BWP/ 3207/00/Rev1)
Développement non clinique	- ICH Topic M 3 (R2). Note for Guidance on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (CPMP/ICH/286/95)
	- ICH Topic S2 (R1). Note for Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. (EMEA/CHMP/ICH/126642/2008)
	- ICH Topic S2A. Note for Guidance on Genotoxicity: Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals. (CPMP/ICH/141/95)
	- ICH Topic 2B. Note for Guidance on Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals (CPMP/ICH/174/95)
	- ICH Topic S4. Note for Guidance on Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non-Rodent Toxicity Testing (CPMP/ICH/300/95)
	- ICH Topic S5 (R2). Note for Guidance on the Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility (CPMP/ICH/386/95)
	- ICH Topic S6. Note for Guidance on preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals (CPMP/ICH/302/95)
	- EMA Note for Guidance on Preclinical Pharmacological and Toxicological Testing of Vaccines (CPMP/SWP/465/95)
	- Questions and answers on the withdrawal of the ‘Note for guidance on single dose toxicity (EMA/CHMP/SWP/81714/2010)
	- EMA Guideline on repeated dose toxicity (CPMP/SWP/1042/99 Rev 1 Corr)
	- EMA Guideline on the Need for Non-Clinical Testing in Juvenile Animals of Pharmaceuticals for Paediatric Indications (EMEA/CHMP/SWP/169215/2005)
	- EMA Note for Guidance on Non-Clinical Local Tolerance Testing of Medicinal Products (CPMP/SWP/2145/00)
Développement clinique	- ICH Topic E 1. Note for Guidance on Population Exposure: The Extent of Population Exposure to Assess Clinical Safety (CPMP/ICH/375/95)
	- ICH Topic E 6 (R1). Note for Guidance on GCP (CPMP/ICH/135/95)
	- ICH Topic E 9. Note for Guidance on Statistical Principles for Clinical Trials (CPMP/ICH/363/96
	- ICH Topic E 11/Note for Guidance on Clinical Investigation of Medicinal Products in the Paediatric Population (CPMP/ICH/2711/99)
	- EMA Guideline on the Clinical Development of Products for SIT for the Treatment of Allergic Diseases (CHMP/EWP/18504/2006)
	- Points to Consider on Application with 1. Meta-Analyses; 2. One Pivotal Study (CPMP/EWP/2330/99)
	- EMA Standard Paediatric Investigation Plan (EMA/PDCO/737605/2009) (Revision 2)
	- EMA Guideline on Risk Assessment of Medicinal Products on Human Reproduction and Lactation: From Data to Labelling (EMEA/CHMP/203927/2005)

Tableau 3 : Documents contribuant à l'état de l'art
- WHO Position paper. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases
- EAACI Immunotherapy position paper
- WAO taskforce statement. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen SIT for respiratory
- WAO Position Paper. Sub-Lingual Immunotherapy

CHMP, Committee for Medicinal Products for Human Use; EAACI, European Academy of Allergy and Clinical Immunology; EMA, European Medicines Agency; ICH, International Conference on Harmonization; SIT, specific immunotherapy.

L'immunothérapie allergénique : vers de nouvelles approches thérapeutiques.

L'immunothérapie allergénique (ITA) spécifique est aujourd'hui le seul traitement connu des maladies allergiques dépendantes des IgE. Cette thèse explore une vision d'ensemble de l'ITA, de ses mécanismes d'action au développement de nouveaux traitements innovants. Dans une première partie, nous traitons des mécanismes immunologiques de l'allergie, des allergènes, des symptômes cliniques et du diagnostic de l'allergie. Puis, dans une seconde partie, nous etudions l'immunothérapie allergénique : voies d'administration, indications, efficacité et sécurité, production et réglementation. Nous nous concentrons en particulier sur les mécanismes d'action connus de l'ITA. La balance entre les bénéfices et les risques de l'ITA n'a pas encore atteint un parfait équilibre. La plupart des stratégies de développement des traitements d'ITA ont pour but d'augmenter l'immunogénicité (efficacité) et de réduire l'allergénicité (toxicité) afin d'obtenir des traitements plus sûrs et plus efficaces. Ainsi, dans une troisième partie, nous abordons ces différentes stratégies, basées sur la modification des extraits allergéniques (allergènes recombinants, hypoallergènes, peptides contenant des épitopes T et B), sur l'utilisation d'adjuvants et sur l'utilisation de nouvelles voies d'administration. Nous traitons également des vaccins ADN appliqués au traitement des allergies. L'ITA est une médecine personnalisée et doit pouvoir compter sur des biomarqueurs prédictifs et de suivi de son efficacité à court et long terme. Ici, nous abordons les caractéristiques et les fonctions des biomarqueurs et donnons un aperçu des biomarqueurs candidats de l'ITA actuellement en développement.

Allergen immunotherapy : towards new therapeutic approaches

Allergen specific immunotherapy (AIT) is currently the only known treatment of allergic diseases IgE-dependent. This thesis explores a broad range of topics regarding AIT from mechanisms of action to the development of recent innovative treatments. In a first part, we give an up to date overview of immunological mechanisms of allergy, allergens, clinical symptoms and diagnosis of allergy. In a second part we propose a summary of current allergen immunotherapies: administration routes, indications, efficacy and security, production and reglementation, includinga focus on known AIT mechanisms of action. The balance between benefits and risks for AIT has not yet reached a perfect equilibrium. Most of development strategies aim to enhance immunogenicity (efficacy) and reduce allergenicity (toxicity) in order to make AIT more safe and effective. Thus, in a third part, we review these strategies based on the modification of allergenic extracts (recombinant allergens, hypoallergens, T- and B-cell-epitope-containing peptides), the use of adjuvants and the choice of new administration routes. We also focus on DNA vaccination for allergy treatment. AIT is a personalized medicine and would benefit from biomarkers that can predict AIT efficacy and give an early and a long term onset of AIT efficacy. Here we review the characteristics and the purpose of biomarkers, including an overview of biomarkers for AIT under development.

DISCIPLINE : Immunologie

MOTS-CLES : Immunothérapie allergénique, allergie, vaccin allergénique, allergènes recombinants, hypoallergènes, vaccin ADN, biomarqueurs

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R.:
U.F.R. des sciences pharmaceutiques
146 rue Léo Saignat, 33000 BORDEAUX