

BIOLOGISK INGENJÖRS- KONST GER NY ASTMATERAPI

DNA-tekniken har banat väg för nya behandlingsformer vid astma och allergier. De första kliniska studierna med rekombinanta allergener visar uppmantrande resultat.



MARIANNE VAN HAGE, professor, överläkare, avdelningen för klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Karolinska Universitetssjukhuset Solna, enheten för klinisk immunologi och allergi, institutionen för medicin Solna, Karolinska institutet
marianne.van.hage@ki.se

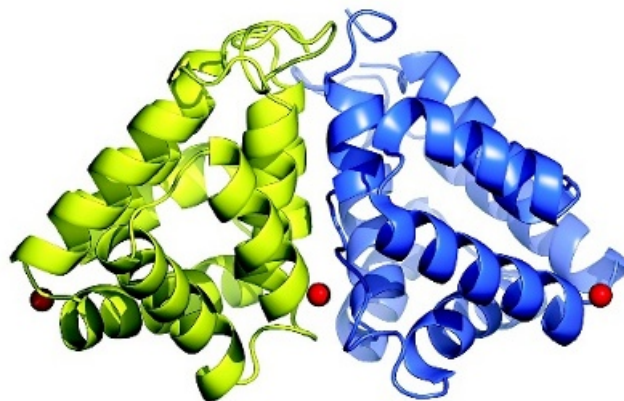
HANS GRÖNLUND, med dr, enheten för klinisk immunologi och allergi, institutionen för medicin Solna, Karolinska institutet
GURO GAFVELIN, docent, enheten för klinisk immunologi och allergi, institutionen för medicin Solna, Karolinska institutet

När man diagnostiserar allergi, vare sig man gör pricktest i huden eller mäter cirkulerande allergenspecifika IgE-antikroppar i serum, använder man sig av allergenextrakt, som är en blandning av många olika allergener och icke-allergener komponenter i varierande mängd.

Rekombinanta allergener

Med hjälp av molekylärbiologisk teknik kan man i dag framställa allergenerna komponenter som enskilda rekombinanta proteiner i obegränsad mängd med standardiserad kvalitet. Under de senaste åren har flera hundra allergener klonats och producerats som rekombinanta allergener, däribland huvudallergenerna för björk, gräs, katt och kvalster. Även kristallstrukturen för några av dessa är löst [1, 2] (Figur 1). De rekombinanta allergenerna har biologiska och immunologiska egenskaper som liknar de naturliga allergenernas. Diagnostik med rekombinanta allergener gör att man kan identifiera de allergiframkallande komponenterna, dvs patientens allergenprofil kan nu fastställas.

Målet med att använda rekombinanta allergener för immunterapi är att de ska vara effektivare och säkrare än konventionella allergenextrakt. Behandlingen riktas nu mot de allergenerna komponenter som patienten reagerar för [3]. Man kan antingen använda rekombinanta allergener som har samma struktur som naturliga allergener eller förändra dem med DNA-teknik så att de får kraftigt minskad IgE-reaktivitet utan att T-cellsreaktiviteten förändras (hypoallergener). Avsikten är att de ska minska risken för IgE-medierade biverkningar samtidigt som de ska inducera ett fördelaktigt T-cellsvar och ett skyddande allergenspecifikt IgG-svar. Dessutom ska man kunna ge höga



Figur 1. Strukturen hos Fel d 1, huvudallergen för katt, bestämd med röntgenkristallografi. Molekylen består av två identiska subenheter och innehåller tre kalciumjoner [2]. Med tillstånd av Adnane Achour.

doser av hypoallergen, vilket medför att det räcker med färre injektioner för att utveckla tolerans med denna behandling.

Nyligen har resultaten från de första immunterapistudierna med rekombinanta allergener och rekombinanta hypoallergener presenterats. Den första och största studien var en dubbelblindad, placebokontrollerad multicenterstudie, där Stockholm (Karolinska Universitetssjukhuset) ingick [4]. Totalt behandlades 124 björkpollenallergiska patienter med allergisk rinit och/eller lindrig astma med hypoallergener av huvudallergen för björk, Bet v 1. Patienterna fick injektioner med antingen en tredubblad Bet v 1-molekyl (trimer) eller en blandning av två delar av Bet v 1-molekylen (fragment) (Figur 2) eller placebo. De båda hypoallergenerna hade i kliniska förstudier visat sig ha starkt reducerad allergenicitet jämfört med rekombinant Bet v 1 motsvarande den naturliga molekylen [5-7].

De aktivt behandlade utvecklade ett starkt IgG-antikropssvar mot naturligt Bet v 1 och Bet v 1-relaterade pollen- och födoämnesallergener jämfört med placebogruppen. Dessa antikroppar detekterades i serum och nässekret [8] och var associerade med reducerad pricktestreaktivitet [4, 9] och sänkt nasal känslighet mot Bet v 1 [8]. Dessutom sjönk Bet v 1-specifikt IgE signifikant under björkpollensäsongen [4], och ett sänkt Bet v 1-specifikt Th2-svar noterades i trimergruppen [9].

Även om immunterapi gavs som en enda mycket kort försäsongsbehandling och behandlingsgrupperna var små uppnåddes en tendens till klinisk förbättring av björkpollenallergin [10] och den björkpollenrelaterade födoämnesallergin [11] i de aktivt behandlade grupperna. Biverkningarna var i de flesta fall lindriga (grad 1), men några fall med grad 2 noterades. Dessa uppkom flera timmar efter injektion och var troligtvis inte IgE-medierade.

Liknande resultat erhöles vid immunterapi med en annan variant av Bet v 1-hypoallergen, Bet v 1-FV (»folding variant«), där molekylen har veckats så att den blir mindre allergen [12].

SAMMANFATTAT

Nya former av immunmodulerande behandling för astma och allergier har utvecklats, och de första kliniska studierna med rekombinanta allergener har varit mycket uppmantrande.

Nya adjuvans och immunmodulerande molekyler kommer att kunna förfina och effektivisera behandlingen ytterligare.

Även denna behandling gavs som en försäsongsbehandling under två år till 24 individer. Referensgruppen (n=27) erhöll behandling med konventionellt björkpollenextrakt. Bägge behandlingsgrupperna utvecklade starka Bet v 1-specifika IgG1- och IgG4-svar. Efter den första behandlingssäsongen minskade såväl symtom som behov av medicineringsväsentligt i rBet v 1-FV-gruppen jämfört med referensgruppen, men efter den andra säsongen planade skillnaderna ut [13].

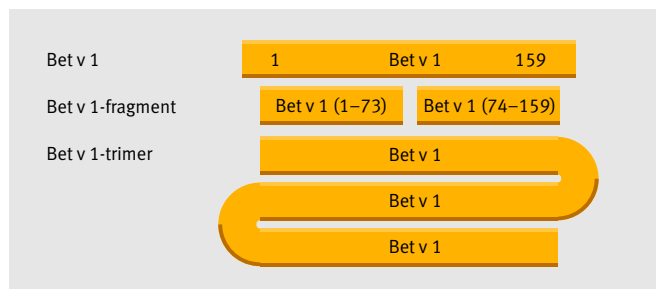
Två immunterapistudier med rekombinanta allergener som motsvarar naturliga allergener har genomförts. Den första var en dubbelblindad, placebokontrollerad studie, där gräspollenallergiska patienter med allergisk rinokonjunktivit med eller utan astma erhöll behandling med en blandning av fem rekombinanta timotejallergener [14]. 29 patienter fick aktiv behandling och 28 placebobehandling under omkring ett och ett halvt år. Såväl symtom som medicinförbrukning minskade signifikant i den aktiva behandlingsgruppen jämfört med placebo-gruppen. Patienter som erhöll injektioner med de rekombinanta gräspollenallergenerna utvecklade starka IgG1- och IgG4-svar och sänkt IgE-svar mot naturligt gräspollenallergen. Ca 10 procent av injektionerna med aktiv behandling och ca 6 procent av dem med placebo gav upphov till någon form av biverkan. Alla patienter kunde dock fullfölja behandlingen, vilket antyder att de rekombinanta allergenerna generellt tolererades väl.

Nyligen rapporterades resultaten från en stor dubbelblindad, placebokontrollerad multicenterstudie, där man bl a gav icke-modifierat rekombinant Bet v 1. Ett centrum var Göteborg (Sahlgrenska Universitetssjukhuset). 147 patienter med björkpollenallergisk rinokonjunktivit randomiserades i fyra grupper: en erhöll rekombinant Bet v 1, en renat naturligt Bet v 1, en björkpollenextrakt och en placebo [15]. Behandlingen pågick i två år. I samtliga aktiva behandlingsgrupper visade patienterna signifikant klinisk förbättring avseende symtom, t ex minskad medicinerings, jämfört med placebo-gruppen. Dessutom fick de kraftiga IgG1- och IgG4-svar och sänkt pricktestsreaktivitet mot Bet v 1. Ett fall med anafylaxi rapporterades i gruppen som fick naturligt Bet v 1. Denna studie visar att behandling med ett enda rekombinant allergen, rBet v 1, är lika effektivt som björkpollenextrakt för behandling av björkpollenallergi.

Allergener med immunmodulerande egenskaper

Molekylärbiologiska tekniker har även gett oss möjlighet att förfinas och effektivisera behandlingen av allergier. Målet med allergenspecifikt immunterapi är att patienten efter behandling inte ska reagera med allergiska symtom mot allergenet. Efter som allergiska symtom är förknippade med ett immunsvaret av Th2-typ är det angeläget att utveckla strategier för att effektivt styra bort från detta. En sådan är att aktivera det medfödda immunsystemet. Ett flertal immunmodulerande substanser aktiverar det medfödda immunsystemet genom Toll-likareceptorer (TLR) på antigenpresenterande celler. Beroende på vilka receptorer som aktiveras triggar de antigenpresenterande cellerna att stimulera en viss typ av immunsvaret.

Vid immunterapi av allergier är det intressant att koppla allergener till substanser som stimulerar ett annat immunsvaret än det allergiska Th2-svaret, t ex ett Th1- eller ett regulatoriskt immunsvaret. På så sätt kan immunsvaret mot specifika allergener förändras i önskad riktning. Bakteriellt DNA stimulerar TLR-9 på antigenpresenterande celler. Korta bitar av bakteriellt DNA som innehåller immunstimulerande element, s k CpG-motiv, är effektiva vad gäller att stimulera immunsvaret av Th1-typ. Om man kopplar CpG-innehållande DNA-oligonukleotider direkt till ett allergen får allergenet »hjälp« att styra bort immunsvaret från det allergiska Th2-svaret till ett Th1-



Figur 2. Schematisk illustration av hypoallergenet Bet v 1, motsvarande det naturliga allergenet med 159 aminosyror (överst). Bet v 1-fragmentet består av en mix av Bet v 1-aminosyror 1–73 respektive 74–159 (mitten). Bet v 1-trimer utgörs av tre Bet v 1-molekyler länkade efter varandra (nederst).

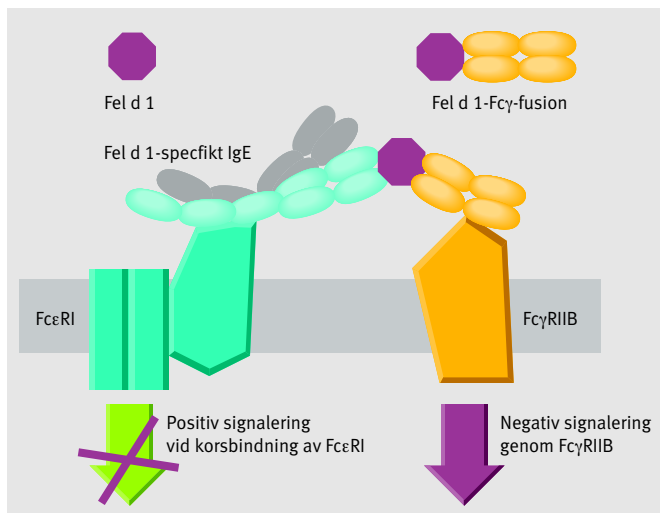
svar. Detta har tillämpats på ett allergen från ambrosiapollen, Amb a 1. Ett Amb a 1-CpG-konjugat har framställts och testats i ett par studier på patienter. I en första randomiserad, placebokontrollerad och blindad studie deltog 19 patienter med ambrosiapollenallergi. Amb a 1-CpG visade sig vara säkert och gav ett långvarigt skift av immunsvaret mot ambrosiaallergen från ett Th2- till ett Th1-svar [16]. En fas II-studie där 25 patienter behandlades med Amb a 1-CpG i ett sexveckorsprotokoll före pollenssäsongen gav positiva resultat på både symtom och livskvalitet under den påföljande pollenssäsongen och, intressant nog, även under pollenssäsongen ett år senare [17]. Ingen ökning av allergenspecifikt IgE uppmättes under pollenssäsongen. Trots de lovande resultaten från inledande kliniska studier har kliniska prövningar med Amb a 1-CpG inte fortsatt, då de uppnådda effekterna var begränsade.

Ett annat potent ämne som stimulerar Th1-svar genom att aktivera det medfödda immunsystemet är lipopolysackarider (LPS), en viktig komponent i cellväggen hos gramnegativa bakterier. I en studie på 81 gräspollenallergiska patienter användes ett icke-toxiskt derivat av LPS, monofosforyllipid A (MPL), som adjuvans i immunterapi med gräspollenextrakt. Efter endast fyra injektioner påvisades positiv klinisk effekt, som kunde kopplas till ökning av allergenspecifikt IgG [18, 19]. I in vitro-studier på mononukleära celler från perifert blod från allergiska patienter kunde det också visas att MPL har en starkt Th1-stimulerande effekt [20].

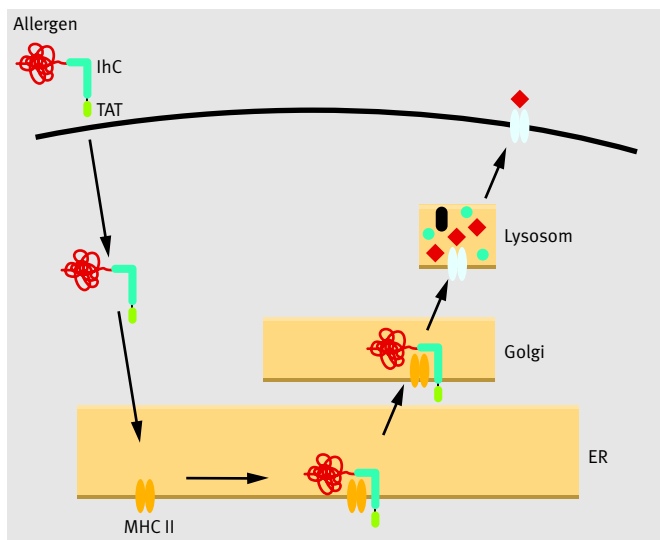
Immunmodulerande substanser kan utnyttjas för att påverka olika komponenter i immunsystemet. Repeterade strukturer hos antigener ger starka antikroppssvar. Virus innehåller sådana repeterade strukturer, och detta har utnyttjats då en allergenpeptid kopplats till viruslika partiklar. När konstruktionen gavs till friska försökspersoner kunde man påvisa höga titrar av IgG mot allergenet [21]. Detta konjugat, en allergenpeptid kopplad till viruslika partiklar, kan alltså vara en lovande kandidat för användning i immunterapi, men ett problem som måste beaktas är att behandlingen också leder till immunreaktioner mot viruspartiklarna.

Mastcellerna är centrala i den allergiska reaktionen. Därför är de också en attraktiv måltavla för att modulera allergiska reaktioner. Nyligen har ett nytt koncept presenterats, där syftet

»Denna studie visar att behandling med ett enda rekombinant allergen, rBet v 1, är lika effektivt som björkpollenextrakt för behandling av björkpollenallergi.«



Figur 3. Fusionsproteinet Fcγ-Fel d 1. Receptorer för IgE (FcεRI) och IgG (FcγRIIB) uttrycks på mastceller. När ett allergen, t ex Fel d 1, binder till IgE korsbinds FcεRI-receptorer, och mastcellen aktiveras. Då IgG binds till FcγRIIB ges i stället inhiberande signaler till mastcellen. Ett fusionsprotein, bestående av Fel d 1 och en del av IgG (Fcγ), korsbinder FcεRI via IgE mot Fel d 1 med den inhiberande FcγRIIB-receptorn och förhindrar på så sätt Fel d 1-medierad mastcellsaktivering.



Figur 4. MAT-konstruktionen består av huvudallergenet för katt, Fel d 1 (röd), en del för effektiv antigenpresentation (IhC, blå) och en peptid som för komplexet in i celler (TAT, grön). IhC transporterar allergenet via det endoplasmatiska rektiklet (ER) till Golgi, varefter det spjälkas till peptider och förs till cellytan för att presenteras för T-celler [38].

är att inaktivera mastceller på ett allergenspecifikt sätt. IgG-receptorn FcγRIIB uttrycks på mastceller och basofiler. När IgG binder till receptorn har den inhiberande effekt på cellen. Därför konstruerades ett rekombinant protein, där en del av IgG (Fcγ) kopplades ihop med huvudallergenet hos katt, Fel d 1 [22]. I det skapade fusionsproteinet binder Fcγ-delen till FcγRIIB, vilket leder till inhiberande signalering i mastcellen. Allergendelen kommer att binda till Fel d 1-specifikt IgE på mastceller och basofiler och på så sätt koppla allergen-IgE-bindning till en negativ signalering i stället för till den normala aktiveringen via IgE (Figur 3). Effekten av behandling med

denna typ av fusionsprotein, som hittills endast prövats i en djurmodell, uppnås genom att allergeninducerad degranulering av mastceller och basofiler förhindras. Det är alltså fråga om en allergenspecifikt symptomatisk behandling, där verkningsmekanismen skiljer sig från den mer varaktiga immunmodulering som nås vid immunterapi.

Peptidbaserad immunterapi

Som alternativ till intakta allergener eller hypoallergener har man gjort försök att utföra immunterapi med allergen uppdelat i kortare bitar, allergenpeptider. Hittills har preparationer bestående av peptider från kattallergen (Fel d 1) och bigift (fosfolipas A2, PLA2) framställts [23]. Det tilltalande med denna strategi är att peptiderna, till skillnad från det intakta allergenet, inte kan aktivera mastceller genom korsbindning av allergenspecifikt IgE, vilket minskar risken för systemiska IgE-medierade biverkningar.

De peptidpreparationer som hittills testats består av peptider av varierande längd, som tillsammans innehåller de delar av allergenet som känns igen av T-celler och sålunda är kapabla att aktivera det cellulära svaret mot allergenet. Den allergenpeptidbaserade immunterapin går ut på att inducera immunologisk tolerans via stimulering av allergen-specifika T-celler [23]. Ett par studier utfördes i USA i slutet av 1990-talet med två T-cellsreaktiva kattallergenpeptider kallade ALLERVAX CAT [24-26]. I den största av dessa deltog 133 kattallergiska patienter [26], men liten effekt uppnåddes, samtidigt som ett flertal negativa reaktioner rapporterades [24-26]. I en placebokontrollerad studie i England, där 24 kattallergiska patienter deltog, gavs aktiv behandling med en annan peptidpreparation, där tolv kortare peptider, som motsvarar större delen av Fel d 1, ingick [27-28]. Behandlingen resulterade i en förbättring av den kutana senfasreaktionen mot kattextrakt och nässymtom vid kattexponering.

Vad beträffar bigift har två mindre studier omfattande fem respektive tolv patienter genomförts med olika preparationer av PLA2-peptider [29, 30]. En fas I-studie, där 16 patienter deltog, har senare utförts med tre långa PLA2-peptider i ett dubbelblindat, placebokontrollerat protokoll [31]. Resultaten från dessa studier visar att immunterapi med allergenpeptider har effekt [27-31], men jämförelser med konventionell immunterapi och studier som undersöker långtidseffekten saknas. Dessutom har det även i dessa studier rapporterats om biverkningar. Då peptidvaccinerna verkar genom att aktivera allergenspecifika T-celler innebär denna typ av behandling ökad risk för senfasreaktioner – ett uppenbart kliniskt problem. Om immunterapi med allergenpeptider ska kunna användas i större utsträckning måste man kunna inducera regulatoriska mekanismer utan att stimulera för starka cellulära reaktioner mot allergenet. Detta kan förhoppningsvis uppnås genom att optimera doser, dosintervall och administrationsvägar.

Adjuvans

För att vaccination ska vara effektiv behöver immunsystemet, framför allt de antigenpresenterande cellerna, i de flesta fall hjälp med att stimuleras på ett effektivt sätt. Denna hjälp kan ges tillsammans med allergenet, och den stimulerande substansen kallas adjuvans (av adjuvare, hjälpa). Adjuvanset bör vara fritt från biverkningar och helst aktivera både det cellulära och det humoral immunsvaret. Det vanligaste adjuvanset bygger på adsorption av vaccinet på partiklar baserade på aluminiumhydroxid (Alum) [32]. Denna typ av partiklar kom först till användning på 1920-talet men är förknippade med några svagheter. De kan ge lokala knutor vid injektionsstället, granulom, och allergi- och antikroppsassocierat Th2-svar. Beroende

på beskaffenheten hos det eller de allergener som adsorberas kan Alum ge en i allergisammanhang riskfylld systemisk spridning.

Som ersättning för Alum har vi prövat en ny kolhydratbase-rad partikel (CBP) [33]. Denna sfäriska partikel är 2 µm i diameter, vilket är optimal storlek för fagocytos av antigenpresenterande celler [34]. Ytterligare en fördel är att protein kan kopplas kovalent i hög densitet till partikeln, vilket minskar risken för systemisk spridning av allergenet vid vaccinering. Detta möjliggör ökning av allergendosen, med bibehållen säkerhet för patienten, vilket i sin tur ger kortare behandlingstider [35]. De resultat som hittills har presenterats visar att CBP har snabbare antikroppskinetik än Alum [36] och ger önskvärd balans mellan Th1- och Th2-svar i cellkultur [33]. CBP har nyligen testats i en musmodell för kattallergi [36]. Resultatet pekar på att Fel d 1, huvudallergenet för katt, kopplat till CBP förändrar immunsvaret så att den allergiska inflammationen i luftvägarna minskar signifikant. Resultaten tyder på att CBP kan betraktas som en lovande kandidat för behandling av allergiska patienter.

Effektiv antigenpresentation är önskvärd vid vaccination. Detta kan ske på flera sätt. Ett sätt som nyligen lanserats är att administrera allergenet direkt i lymfkörteln, centrum för immunförsvaret. Preliminärt har goda resultat erhållits genom att behandla gräspollenallergiska patienter med endast tre injektioner inom en period av två månader och med låga doser av allergenextraktet (0,5–1 µg). Detta visade sig ge ett lika varaktigt skydd mot gräspollen som traditionell immunterapi, som omfattar 54 injektioner över en treårsperiod [37].

För att ytterligare öka effektiviteten och säkerheten med denna behandlingsmetod har MAT-konceptet utvecklats. MAT (»modular antigen transporter«) består av tre delar: ett utvalt rekombinant allergen, en kort peptid som ger snabb cellpene-

»Det finns i dag flera rekombinanta allergener, som in vitro visat sig ha lovande egenskaper för behandling av pollen-, katt- och kvalsterallergi.«

tration och en enhet som presenterar allergenet i ytterst låga doser för immunsystemet via MHC II [38] (Figur 4). Fel d 1 är den första allergenkandidat som kommer att prövas i en fas I/IIA-studie bland kattallergiska patienter i Schweiz. Fördelen med behandlingen, få injektioner och kort behandlingstid, förutsägs öka viljan hos patienten att genomföra vaccinationsprogrammet jämfört med konventionell allergenspecifik immunterapi.

Konklusion

Sammantaget har DNA-tekniken öppnat möjligheter för en generation av immunmodulerande behandlingsformer vid astma och allergier. De första kliniska studierna med rekombinanta allergener har varit mycket uppmuntrande. Det finns i dag flera rekombinanta allergener, som in vitro visat sig ha lovande egenskaper för behandling av pollen-, katt- och kvalsterallergi. Dessutom kan kombinationen med nya adjuvans och immunmodulerande molekyler komma att förfinas och effektivisera terapin ytterligare. Huruvida dessa nya koncept kommer att leda till förbättrad immunterapi får framtida studier utvisa, men vi har redan nu redskapen för att göra morgondagens immunterapi mer specifik, effektiv och sofistikerad än dagens.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Kaiser L, Cirkovic Velickovic T, Badiá-Martínez D, Adedoyin J, Thunberg S, Hallén D, et al. Structural characterization of the tetrameric form of the major cat allergen Fel d 1. *J Mol Biol.* 2007;370:714-27.
- Valenta R, Niederberger V. Recombinant allergens for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 119:826-30.
- Niederberger V, Horak F, Vrtala S, Spitzauer S, Krauth MT, Valent P, et al. Vaccination with genetically engineered allergens prevents progression of allergic disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101 Suppl 2:14677-82.
- van Hage-Hamsten M, Kronqvist M, Zetterström O, Johansson E, Niederberger V, Vrtala S, et al. Skin test evaluation of genetically engineered hypoallergenic derivatives of the major birch pollen allergen, Bet v 1: Results obtained with a mix of recombinant Bet v 1 fragments and recombinant Bet v 1 trimer in a Swedish population before the birch pollen season. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104:969-77.
- Gafvelin G, Thunberg S, Kronqvist M, Grönlund H, Grönneberg R, Troye-Blomberg M, et al. Cytokine and antibody responses in birch-pollen-allergic patients treated with genetically modified derivatives of the major birch pollen allergen Bet v 1. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005;138:59-66.
- Purohit A, Niederberger V, Kronqvist M, Horak F, Grönneberg R, Frank E, et al. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. *Clin Exp Allergy.* In press; 2008.
- Kahlert H, Suck R, Weber B, Nandy A, Wald M, Keller W, et al. Characterization of a hypoallergenic recombinant Bet v 1 variant as a candidate for allergen-specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;145:193-206.
- 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: 608-13.
- Pauli G, Malling J, Rak S, Horak F, Pastorello E, Purohit A, et al. Subcutaneous immunotherapy with recombinant Bet v 1 in birch allergy: clinical and immunological effects. *Allergy.* 2007;62(Suppl 83):256.
- Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, Balcer-Whaley SL, Khattig-navong AP, Lindblad R, et al. Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med.* 2006; 355:1445-55.
- Puggioni F, Durham SR, Francis JN. Monophosphoryl lipid A (MPL) promotes allergen-induced immune deviation in favour of Th1 responses. *Allergy.* 2005;60:678-84.
- Kündig TM, Senti G, Schnetzler G, Wolf C, Prinz Vavricka BM, Fularija A, et al. Der p 1 peptide on virus-like particles is safe and highly immunogenic in healthy adults. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:1470-6.
- Zhu D, Kepley CL, Zhang K, Terada T, Yamada T, Saxon A. A chimeric human-cat fusion protein blocks cat-induced allergy. *Nat Med.* 2005; 11:446-9.
- Maguire P, Nicodemus C, Robinson D, Aaronson D, Umetsu DT. The safety and efficacy of ALLERGVAX CAT in cat allergic patients. *Clin Immunol.* 1999;93:222-31.
- Alexander C, Tarzi M, Larche M, Kay AB. The effect of Fel d 1-derived T-cell peptides on upper and lower airway outcome measurements in cat-allergic subjects. *Allergy.* 2005; 60:1269-74.
- Fellrath JM, Kettner A, Dufour N, Frigerio C, Schneeberger D, Leimgruber A, et al. Allergen-specific T-cell tolerance induction with allergen-derived long synthetic peptides: results of a phase I trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111: 854-61.
- Grönlund H, Vrtala S, Wiedermann U, Dekan G, Kraft D, Valenta R, et al. Carbohydrate-based particles: a new adjuvant for allergen-specific immunotherapy. *Immunology.* 2002;107:523-9.
- Andersson TN, Ekman GJ, Grönlund H, Buentke E, Eriksson TL, Scheynius A, et al. A novel adjuvant-allergen complex, CBP-rFel d 1, induces up-regulation of CD86 expression and enhances cytokine release by human dendritic cells in vitro. *Immunology.* 2004;113:253-9.
- Neimert-Andersson T, Thunberg S, Swedin L, Wiedermann U, Jacobsson-Ekman G, Dahlén SE, et al. Carbohydrate-based particles reduce allergic inflammation in a mouse model for cat allergy. *Allergy.* 2008; 63:518-26.
- Senti G, Prinz Vavricka BM, Erdmann I, Diaz M, Markus R, McCormack S, et al. Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy shorter and safer. *Allergy.* 2007;62(Suppl 83):34.
- Cramer R, Fluckiger S, Daigle I, Kündig T, Rhyner C. Design, engineering and in vitro evaluation of MHC class-II targeting allergy vaccines. *Allergy.* 2007;62:197-206.