

Ruolo dei linfociti CD4+CD25+Foxp3+ nelle patologie autoimmuni, allergiche ed infettive

Role of CD4+CD25+Foxp3+ lymphocytes in autoimmune, allergic and infectious diseases

P. ONORATO

Divisione di Medicina Interna e Immunoallergologia, Seconda Università di Napoli

Parole chiave

Linfociti T regolatori • Foxp3 • Autoimmunità • Allergia • Infezioni

Key words

Regulatory T lymphocytes • Foxp3 • Autoimmunity • Allergy • Infectious diseases

Riassunto

La recente scoperta nell'uomo dei linfociti T regolatori, cellule dotate di attività immunosoppressiva ed implicate nel mantenimento della tolleranza verso il *self*, ha ispirato numerosi studi volti a chiarirne un eventuale ruolo nella patogenesi di varie malattie in cui potrebbe essere implicata una perturbazione della normale funzione immunitaria. In questa breve trattazione, sono riassunte le attuali conoscenze riguardo il ruolo, nelle malattie autoimmuni, allergiche ed infettive, di una specifica popolazione di linfociti T regolatori, caratterizzata dall'elevata espressione di superficie della molecola CD25 e del fattore di trascrizione nucleare Foxp3.

Summary

The role of the recently discovered T regulatory cells, which are capable of exerting immunosuppressive effects and are involved in the maintenance of self-tolerance, is currently being investigated in the pathogenesis of several diseases characterized by an altered immune function. Here we briefly review the role of T regulatory in autoimmune, allergic and infectious diseases, with particular emphasis on the CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell subpopulation.

Introduzione

Il sistema immunitario rappresenta un complesso di molecole, cellule, tessuti e organi deputati a fornire protezione verso i diversi organismi estranei potenzialmente pericolosi per l'organismo.

Schematicamente, l'organizzazione funzionale del sistema immunitario prevede, da un lato, il mantenimento di uno stato di non responsività verso le molecole proprie dell'organismo (*self*), dall'altro la strutturazione di una risposta protettiva verso gli antigeni estranei (non *self*).

Ai già noti o supposti meccanismi di tolleranza periferica, quali l'anergia, il *network* idiotipico, la morte cellulare per apoptosi indotta dall'attivazione, la segregazione anatomica degli antigeni *self*, l'ignoranza clonale, si è aggiunta la scoperta, peraltro recente, dei linfociti T regolatori T (Treg), in grado di sopprimere attivamente le risposte immunitarie.

Il concetto di inibizione immunitaria mediata da cellule T risale a quasi 40 anni fa, quando Gershon e Kondo¹ descrissero l'induzione di tolleranza immunitaria antigene-specifica in animali *naïve* attraverso il trasferimento di cellule T già attivate dall'interazione con i rispettivi antigeni. Il concetto di immunosoppressione mediata da cellule T fu a lungo accantonato, a causa, principalmente, della mancanza di strumenti e metodi di caratterizzazione ed isolamento delle presunte cellule T immunoregolatrici. Risale, infatti, al 1995 la scoperta, da parte di Sakaguchi et al.², di una popolazione di linfociti T CD4+ caratterizzata da un'elevata espressione di superficie di CD25 e in grado di prevenire l'insorgenza di fenomeni autoimmuni in modelli murini. Da allora si sono succeduti numerosi studi volti ad una migliore caratterizzazione immunofenotipica e funzionale di questi linfociti T regolatori CD4+CD25+ (in breve Treg), sia in condizioni fisiologiche che patologiche.

Fisiologia dei linfociti T regolatori

IMMUNOFENOTIPO DEI T REGOLATORI

Sono state caratterizzate diverse popolazioni di T regolatori (Treg), distinguibili principalmente in CD4+CD25+ naturali ed inducibili.

I CD4+CD25+ naturali rappresentano l'1-10%³⁻⁵ delle cellule T CD4+ presenti in periferia ed esprimono costitutivamente recettori TCR policlonali, la catena α e β del recettore per l'IL-2 (CD25, CD122), bassi livelli dell'antigene 4 associato ai linfociti T citotossici (CTLA-4 o CD152, espresso anche sulla superficie di cellule T CD4+ già attivate allo scopo di "frenarne" l'attivazione) ed alti livelli della proteina appartenente alla famiglia dei recettori per il TNF indotta dai glucocorticoidi (GITR)⁶⁷. Numerosi studi hanno identificato, nel topo e/o nell'uomo, altri antigeni di membrana sui Treg, quali CD103, galectina-1, Ly6, OX-40, 4-IBB, TNFR2, TGF- β RI, PD1 (*programmed cell death 1*) e neuropilina 1⁸⁹. Inoltre, i Treg CD4+CD25+ esprimono anche un fattore di trascrizione, Foxp3, che gioca un ruolo chiave per il loro sviluppo e la loro funzione e che costituisce, ad oggi, il principale antigene intracellulare caratterizzante tali cellule¹⁰. Foxp3 è un fattore di trascrizione *forkhead-type* dotato di un dominio *winged helix* destinato all'interazione con il DNA, implicato, tra l'altro, nella soppressione dell'espressione genica di IL-2, IL-4, IFN- γ , TNF^{11 12} nei linfociti T effettori attivati.

ORIGINE, OMEOSTASI E SOTTOPOPOLAZIONI TREG

Lo sviluppo dei linfociti CD4+CD25+ naturali ha luogo presso il timo. Una conferma di ciò deriva dal fatto che la timectomia alla nascita è associata ad autoimmunità da deficit di cellule CD4+CD25+¹³. Secondo l'ipotesi oggi maggiormente condivisa, lo sviluppo dei Treg sarebbe legato ad un'interazione tra TCR e complessi MHC-peptide *self* esposti sulla superficie delle cellule epiteliali timiche, a livelli di avidità simili a quelli richiesti per l'instaurazione della tolleranza centrale^{14 15}. La sopravvivenza dei Treg in periferia dipende in maniera critica dall'interazione del TCR con antigeni *self*, di CD28 con i corrispettivi ligandi (CD80 e CD86) e soprattutto dall'azione dell'IL-2 e del TGF- β . Oltre ai Treg naturali, è possibile ottenere *in vitro* un altro gruppo di cellule T regolatorie, mediante esposizione dei linfociti T CD4+CD25- all'azione di particolari stimoli (es., anticorpi anti-CD28 e anti-TCR, TGF- β 1, vitamina D3, desametasone). Queste cellule CD4+CD25+ inducibili esprimono Foxp3 e potrebbero, *in vivo*, presentare le stesse proprietà regolatorie dei Treg naturali. Infine, esistono ulteriori sottopopolazioni di cellule regolatorie, quali i Tr1¹⁶⁻¹⁷, i Th3^{18 19}, i linfociti secernenti IL-10²⁰ ed i linfociti CD8+ Foxp3+^{21 22}. Queste sottopopolazioni non saranno oggetto di questa trattazione.

MODALITÀ DI IMMUNOSOPPRESSIONE

Le modalità attraverso cui i Treg esplicano la loro azione sono numerose e non ancora pienamente definite; il risultato di tale attività resta comunque la promozione di tolleranza immunitaria nei confronti di antigeni *self* o non *self*.

In linea di massima, i linfociti iTreg (inducibili) agiscono *in vivo* tramite secrezione di IL-10 e TGF- β , mentre i nTreg (naturali) modulano l'immunosoppressione tramite le sole citochine e/o un meccanismo di inibizione che prevede il contatto diretto cellula-cellula. I bersagli dei Treg sono principalmente rappresentati dai linfociti effettori CD4+ e CD8+ ma la loro influenza si allarga anche alle cellule dendritiche (DCs) ed ai linfociti B.

Treg e autoimmunità

Attualmente, l'alterazione quantitativa e qualitativa della funzione T regolatoria viene indicata fra i principali fattori implicati nella genesi dei fenomeni autoimmuni. Il coinvolgimento dei linfociti Treg nell'instaurazione di manifestazioni autoimmuni è confermato dall'osservazione degli effetti sortiti nel topo dalla timectomia in epoca neonatale¹³. Il timo costituisce, infatti, la sede di sviluppo e maturazione dei linfociti Treg naturali e la loro deplezione indotta da timectomia produce manifestazioni simili a quelle osservate nella sindrome IPEX (*Immune dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked*)^{23 24}. In questa sindrome, le mutazioni del gene codificante per il fattore di trascrizione Foxp3 sono associate a scomparsa dei linfociti Treg e, pertanto, all'insorgenza, sin dall'età neonatale, di diabete mellito tipo I, anemia emolitica, malattie infiammatorie croniche autoimmuni dell'intestino e dermatite eczematosa, oltre al riscontro di intensa infiltrazione tissutale linfocitaria^{25 26}, elevati livelli sierici di IgE²⁷, eosinofilia ed evidente tendenza dei linfociti T CD4+ a manifestare una secrezione citochinica di tipo Th2²⁸. Da ciò si evince che l'attività dei linfociti Treg, sia naturali che indotti, si esplica mediante soppressione antigen-specifica dei cloni linfocitari autoreattivi eventualmente sfuggiti alla selezione centrale timica. Di conseguenza, alla funzione dei Treg può essere ricondotta l'apparente discrepanza fra l'elevata frequenza con la quale è possibile isolare linfociti T autoreattivi dal sangue periferico di soggetti sani e la bassa prevalenza delle patologie autoimmuni. Il ruolo putativo dei Treg nelle malattie autoimmuni è esemplificato dalle seguenti evidenze sperimentali.

Il numero di Treg nel sangue periferico dei soggetti con diabete tipo I è risultato sovrapponibile ai controlli sani ma la loro abilità inibitoria nei confronti dei linfociti T CD4+ effettori è risultata marcatamente ridotta²⁹. A tal proposito, Michalek et al.³⁰ hanno

dimostrato come il difetto dell'attività regolatoria aumenti in proporzione alla presenza di alleli MHC di classe II ritenuti fortemente a rischio per lo sviluppo di diabete. Infine, la depressa funzione T regolatoria favorirebbe, nei soggetti geneticamente predisposti, l'espansione dei cloni linfocitari T autoreattivi innescata da Cocksackie virus B4, agente implicato nella patogenesi del diabete mellito tipo I. Per converso, nei topi NOD, l'espansione dei Treg determina una riduzione del rischio di sviluppo del diabete ³¹.

La relazione tra artrite reumatoide e Treg è ancora oggi oggetto di studio. Sembra comunque che, nei soggetti affetti da artrite reumatoide, non siano presenti di per sé anomalie qualitative o quantitative a carico dei Treg. Infatti, la frequenza di questi ultimi nel sangue periferico è spesso sovrapponibile ai controlli sani ³²⁻³⁴ ma inferiore a quella rilevata a livello articolare, come conseguenza di una ridistribuzione indotta dagli stimoli chemiotattici liberati durante il processo infiammatorio. Inoltre, i Treg isolati dal liquido sinoviale differiscono dai Treg circolanti in quanto esprimono CD45RO+ ³² (fenotipo caratteristico delle cellule della memoria) e numerosi marcatori di attività ³²⁻³⁴⁻³⁶. I Treg che migrano dal sangue presso le sedi del processo infiammatorio cronico maturano e sviluppano un fenotipo maggiormente immunosoppressivo ³⁵⁻³⁷ *in vitro* ma insufficiente ad ottenere la remissione *in vivo*. Questo paradosso è frutto del microambiente citochinico che si instaura presso le articolazioni infiammate, in grado di proteggere i linfociti T autoreattivi dalle attività immunosoppressive dei Treg.

È stato ipotizzato che un difetto dell'attività regolatoria sia coinvolto anche nella patogenesi della sclerosi multipla. Viglietta et al. ³⁸ hanno rilevato nei pazienti affetti da sclerosi multipla remittente una riduzione dei Treg nel sangue periferico, della loro attività *in vitro* e del grado di espressione di Foxp3. Tali risultati erano confermati da alcuni autori ³⁹ ma confutati da altri ⁴⁰. Anche il confronto del sangue periferico con il liquido cerebro-spinale fra soggetti sani e pazienti ha prodotto nei vari studi conclusioni contrastanti ³⁹⁻⁴¹⁻⁴². Diversi studi hanno evidenziato l'importanza del ruolo dei Treg presso la mucosa intestinale. Tale distretto è, infatti, continuamente esposto, dalla nascita in poi, ad antigeni non *self* derivanti dalla dieta e soprattutto dalla microflora batterica locale. Una riduzione della funzione T regolatoria potrebbe, pertanto, sottendere lo sviluppo delle malattie infiammatorie intestinali, caratterizzate da un'abnorme attivazione del sistema immunitario in senso Th1/Th17 nel morbo di Crohn e in senso Th2 nella rettocolite ulcerosa. Analisi condotte su biopsie di mucosa intestinale provenienti da soggetti affetti da malattie infiammatorie intestinali hanno mostrato un aumento locale del numero di Treg in contrasto con quanto rilevato nel sangue periferico ⁴³⁻⁴⁷. Inoltre, a differenza di quanto osservato

nell'artrite reumatoide, la capacità immunosoppressiva di queste cellule *in vitro* non appare ridotta ⁴⁷. Nonostante ciò, il processo infiammatorio non appare controllato dai Treg reclutati *in situ*, presumibilmente per l'interferenza di predominanti fattori pro-infiammatori.

Per quanto concerne il lupus eritematoso sistemico, la concentrazione periferica dei Treg appare ridotta (in uno scenario di globale espansione dei linfociti T CD4+ CD25- effettori) ⁴⁸⁻⁵³, aumentata (in associazione a trattamento terapeutico) ⁵⁴⁻⁵⁶ o paragonabile a quella dei soggetti sani ⁵⁷⁻⁵⁸, a fronte, comunque, di una funzione generalmente deteriorata ⁵¹⁻⁵³⁻⁵⁹. Ciò è in accordo con la sistemica riduzione della tolleranza immunitaria osservata in questi pazienti.

L'approccio opposto, ovvero l'utilizzo dei Treg per domare manifestazioni autoimmuni, è stato, al pari, oggetto di diversi studi. Tentativi terapeutici fondati sul trasferimento di cellule T CD4+ CD25+ Foxp3+ specifiche sono già stati realizzati in modelli animali di encefalite autoimmune allergica, diabete mellito tipo I e malattie infiammatorie croniche dell'intestino. In ognuno di questi modelli sperimentali, si è osservato un importante aumento della concentrazione tissutale specifica di citochine immunosoppressive (TGF-β ed IL-10), dell'infiltrazione Treg e un conseguente miglioramento del quadro clinico o la prevenzione delle manifestazioni autoimmuni. Un altro efficace approccio terapeutico consisterebbe nell'induzione diretta *in vivo* dei linfociti Treg a partire dai linfociti CD4+CD25- attraverso, per esempio, l'impiego di citochine quali IL-10 e TGF-β. Queste strategie chiaramente offrono a considerare come comune contraltare la teorica promozione di neoplasie e patologie infettive.

Treg e malattie allergiche

Le malattie allergiche sono accomunate dalla tendenza, da parte del sistema immunitario dei soggetti atopici, a sviluppare in differenti distretti corporei risposte di tipo Th2, con produzione di IgE verso antigeni di origine ambientale, innocui per la maggior parte della popolazione. Un coinvolgimento dei Treg nella strutturazione delle diverse entità cliniche dell'atopia è intuibile constatando, sia nel topo che nell'uomo, le conseguenze sopra citate delle mutazioni a carico del gene codificante per Foxp3 (sindrome IPEX): il quadro sindromico include, infatti, fra le sue manifestazioni, anche eczema, iperproduzione di IgE ed ipereosinofilia.

Alterazioni dell'attività immunosoppressoria dei Treg sembrano implicate non solo nell'insorgenza delle manifestazioni allergiche, ma anche nella modulazione della severità clinica delle malattie allergiche già instauratesi. Recentemente, si è dimostrato che

nei pazienti atopici la percentuale circolante dei Treg è inferiore a quella osservata nei controlli sani ^{60 61}; inoltre, i Treg isolati dai soggetti allergici risultano meno efficaci nel sopprimere la proliferazione dei linfociti CD4+CD25- effettori stimolata dagli allergeni ⁶². La deviazione dei linfociti *naïve* verso il pattern citochinico Th2 piuttosto che Th1, in seguito ad esposizione ad allergeni, potrebbe, pertanto, essere legato ad un difetto quantitativo e/o qualitativo dei linfociti CD4+CD25+Foxp3+.

I fattori che modulano l'equilibrio tra risposta T regolatoria ed attivazione Th2, sia durante il primo contatto con gli antigeni ambientali che dopo sensibilizzazione, restano ancora ignoti. Secondo l'*hygiene hypothesis*, l'attuale stile di vita occidentale, caratterizzato da una marcata riduzione del contatto con gli agenti microbici, contribuisce in età infantile a slatentizzare la predisposizione genetica del soggetto atopico a sviluppare malattie allergiche. In particolare, differenti concentrazioni di antigeni microbici, lipopolisaccaride (LPS) su tutti, influenzando lo stato funzionale delle cellule APC e dei Treg, possono indurre l'attivazione di una risposta piuttosto che un'altra (Th2 piuttosto che Th1 o viceversa) ⁶³⁻⁶⁷. Polimorfismi a carico delle sequenze di DNA codificanti per i TLR (*Toll-like receptors*, implicati nel riconoscimento di antigeni conservati tra agenti microbici) o per marcatori dei Treg, d'altro canto, potrebbero contribuire al substrato genetico dell'atopia.

L'asma bronchiale rappresenta un modello di malattia allergica in cui il ruolo dei Treg è attualmente oggetto di numerosi studi. È stato dimostrato che i soggetti asmatici ed i loro figli presentano un'attività T regolatoria inferiore rispetto ai controlli sani ^{68 69}. In merito ai fattori ambientali scatenanti gli accessi d'asma, si è constatato che i neonati residenti in ambienti urbani caratterizzati da intenso inquinamento ambientale, a prescindere dalla familiarità o meno per atopia, presentano nel sangue periferico Treg con fenotipo immaturo rispetto alle corrispettive madri ⁷⁰. Le infezioni virali (Rhinovirus in particolare, nonché virus respiratorio sinciziale) sembrano anch'esse influire sull'attività dei linfociti Treg, oltre che Th1 e Th2, nel favorire, in età infantile, *wheezing* nei pazienti asmatici ⁷¹.

Anche nelle dermatiti allergiche è stato rilevato una minore concentrazione circolante di Treg, nonché un difetto della loro funzione immunosoppressiva. T. Fujimur et al. ⁷² hanno, inoltre, evidenziato una minore percentuale di linfociti Treg presso l'epidermide ed il derma, probabilmente secondaria a difettosa compartmentalizzazione. Specificamente, nel caso della dermatite allergica da contatto da sensibilizzazione al nickel, si è osservato che i linfociti CD4+CD25+ estratti dal sangue e dalla cute dei soggetti sani in seguito ad esposizione al metallo, presentano una maggiore espressione superficiale di CCR7 e CLA (*cutaneous lymphocyte-associated antigen*), indicati-

vi di una migliore compartmentalizzazione cutanea rispetto ai pazienti con dermatite ⁷³. Ou et al. ⁷⁴ hanno rilevato, sorprendentemente, nei pazienti affetti da dermatite atopica, una concentrazione sierica di linfociti Treg superiore ai pazienti asmatici ed ai controlli sani. Lo studio, tuttavia, ha indicato un nuovo meccanismo patogenetico, rappresentato dalla perdita della funzione immunosoppressiva dei Treg per effetto dell'enterotossina B stafilococcica.

Nell'ambito delle allergie alimentari, è interessante l'esperienza di Malijn R. Karlsson et al. ⁷⁵. Questi autori hanno misurato i Treg circolanti in soggetti con intolleranza alle proteine del latte vaccino, osservando un aumento delle cellule regolatorie in tutti quei piccoli pazienti divenuti successivamente tolleranti nei confronti della β -lattoglobulina bovina.

L'alterata risposta Treg agli allergeni e la conseguente attivazione Th2 che si osservano nell'atopico possono essere corrette con mezzi terapeutici. L'immunoterapia specifica, che determina una riduzione della risposta dei linfociti T agli allergeni, una riduzione della produzione di citochine Th2 indotta dall'allergene ed, eventualmente, lo spostamento della risposta immunitaria in senso Th1, sembra favorire un incremento delle cellule Treg e dei livelli di citochine da esse prodotte ^{76 77}. Anche i corticosteroidi, nell'ambito della loro azione anti-infiammatoria, sembrano capaci di promuovere la crescita e l'attivazione dei Treg attraverso l'aumento dell'espressione di Foxp3. Infatti, l'espressione di tale fattore è aumentata nelle cellule T CD4+ di pazienti asmatici sottoposti a somministrazione di glucocorticoidi per via inalatoria o endovena ^{78 79}, mentre ciò non si verifica in pazienti affetti da asma severo, non responsivi alla somministrazione di glucocorticoidi (resistenti ai glucocorticoidi) ⁸⁰.

Treg e malattie infettive

I Treg sembrano in grado di poter modificare positivamente o negativamente la storia naturale delle infezioni, a seconda se ci si trovi di fronte ad una patologia acuta e autolimitante o cronica e persistente e in relazione alla consistenza del danno tissutale mediato dal sistema immunitario. In linea di massima, i Treg contribuiscono, da un lato, alla cronicizzazione di infezioni sostenute da patogeni di difficile eradicazione, dall'altro, riducono l'entità dei danni tissutali collaterali di origine immunitaria che normalmente si realizzano nel corso di processi infettivi acuti o cronici e prevengono eventuali manifestazioni autoimmuni elicitate dalla liberazione di antigeni *self* normalmente avulsi dal contatto col sistema immunitario. Tali concetti sono ribaditi nei seguenti esempi di malattie infettive. Nell'ambito delle infezioni batteriche, Lundgren et al. ^{81 82} hanno studiato il rapporto che inter-

corre tra infezione cronica da *Helicobacter pylori* (Hp) e linfociti Treg. In particolare, dal confronto fra soggetti Hp+ e soggetti sani, è emerso che la colonizzazione cronica della mucosa gastrica e/o duodenale da parte del batterio appare favorita dai linfociti Treg, la cui concentrazione mucosale e sierica è risultata superiore nei pazienti infetti rispetto ai non infetti. Durante lo studio, all'interno del gruppo Hp+, non è stata rilevata una differenza statisticamente significativa tra i soggetti asintomatici e i pazienti con ulcera peptica o adenocarcinoma gastrico. Hamlet et al. e Stromberg et al.⁸³⁻⁸⁴ hanno, tuttavia, rilevato, nella mucosa di pazienti con ulcera duodenale, una minore concentrazione di citochine pro-infiammatorie, un maggior numero di cellule CTLA4+ ed una maggiore carica batterica rispetto ai pazienti infetti ma asintomatici. Questi dati suggeriscono, quindi, che l'aumento della risposta T regolatoria nei confronti di *Helicobacter pylori* possa costituire un momento patogenetico importante nell'evoluzione della semplice infezione verso l'ulcera o addirittura verso la neoplasia gastrica, passando per la gastrite cronica ed atrofica, la metaplasia intestinale e la displasia. Anche nell'infezione da *Micobacterium tuberculosis*, l'entità della risposta T regolatoria appare condizionare il fenotipo clinico. I soggetti con infezione tubercolare latente non sintomatici presentano un'intensa risposta di tipo Th1 nei confronti di HBHA (Antigen Heparin-Binding Hemagglutinin), a differenza dei pazienti con tubercolosi attiva. In quest'ultimi, si è anche constatata una maggiore concentrazione periferica di Treg⁸⁵. Le frequenze circolanti di Treg risultano aumentate in caso di SIRS (sindrome da risposta infiammatoria sistemica) e sepsi (infezione + SIRS). Nello specifico, i soggetti con sepsi presentano livelli di CD25 solubile in circolo e percentuali di linfociti Treg periferici superiori rispetto ai pazienti con SIRS. Pertanto, l'incremento di questi due parametri potrebbe essere sfruttata per smascherare precocemente lo stato settico in pazienti con SIRS⁸⁶.

Si registra un incremento dei Treg, sia nel sangue periferico che a livello epatico, anche nel corso di infezione cronica da HCV. Tra le cause di cronicizzazione, alla già nota variabilità genetica del virus con insorgenza in ciascun paziente di "quasi specie", va aggiunto il ruolo della risposta T immunoregolatoria. Diversi studi hanno confermato che la popolazione Treg si espande durante l'infezione acuta⁸⁷⁻⁸⁹ e si mantiene stabilmente alta nel corso dell'infezione cronica⁸⁷⁻⁹⁰⁻⁹², diminuendo, viceversa, fino a raggiungere i livelli tipici dei soggetti sani, nei pazienti che vanno incontro ad eradicazione spontanea o indotta da terapia⁸⁷⁻⁹⁰. Va, tuttavia, sottolineato che una più bassa concentrazione di Treg non si associa né ad un potenziamento della risposta immunitaria anti-HCV, né ad un rallentamento della progressione dell'epatopatia cronica. Si può quindi ipotizzare che i Treg ricoprano

un ruolo nella patogenesi dell'infezione cronica da HCV, per quanto sia necessario un giusto equilibrio tra risposta immunitaria pro- ed anti- infiammatoria ai fini della clearance del virus.

In corso di infezione da HBV, l'attività immunosoppressiva dei Treg appare relazionata alla prognosi⁹³. In particolare, il numero dei Treg circolanti nei soggetti con epatite acuta aumenta gradualmente sino a tornare ai livelli iniziali con la remissione, mentre nei soggetti con epatopatia cronica risulta strettamente relazionata alla viremia.

Nel corso dell'infezione cronica da HIV, la distribuzione dei Treg nell'organismo è variabile. Esiste un rapporto di proporzionalità diretta fra la viremia e la concentrazione dei Treg presso gli organi linfoidi, sede preferenziale di replicazione del virus; inoltre, è possibile osservarne una mobilitazione in circolo durante terapia antivirale (HAART). Il sequestro dei Treg presso gli organi linfoidi nel corso della fase di attiva replicazione del virus contribuirebbe al mantenimento di un microambiente ad esso favorevole proprio in virtù della loro azione immunosoppressiva⁹⁴. Inoltre, è stato evidenziato che i Treg sono essi stessi suscettibili di infezione da HIV, con conseguente riduzione della loro presenza in circolo nel corso della malattia. Ne consegue l'incontrollata proliferazione e attivazione dei linfociti CD4+ effettori, con la progressione verso la fase di immunodeficienza⁹⁵.

La funzione T regolatoria è stata analizzata anche in corso di infezioni da parte di miceti, protozoi e parassiti. Nel caso dell'infezione da *Aspergillus fumigatus*, si è constatata, in modelli murini, la riduzione, mediata dai linfociti Treg, dell'entità della tipica risposta infiammatoria ed immunitaria di tipo Th2, con conseguente contenimento dei danni collaterali associati⁹⁶. *Candida albicans* appare in grado di promuovere la proliferazione e l'attivazione dei Treg a scopo immunoevasivo⁹⁷. In merito alle malattie da leishmania, vi sono evidenze riguardo al ruolo delle cellule T regolatorie a promuovere, accumulandosi presso le lesioni determinate dal protozoo, la polarizzazione Th2 della risposta immunitaria, la riduzione della secrezione di IFN- γ a favore dell'IL-4, l'aumento dell'attività dell'enzima immunosoppressivo IDO (2,3-indoleamina deossigenasi) ed infine la cronicizzazione dell'infezione⁹⁸⁻¹⁰⁰. Un altro interessante modello di malattia infettiva cronica è rappresentato dalla tripanosomiasi¹⁰¹: nel corso della fase iniziale ed asintomatica dell'infezione da *Trypanosoma Cruzi*, l'attivazione dei Treg è di lieve entità, aumentando, per converso, durante la fase tardiva corrispondente al morbo di Chagas. Si instaura, in tal modo, una condizione di equilibrio tra protozoo ed organismo, che esita nella limitazione degli effetti nocivi di una risposta immunitaria eccessiva.

Durante l'infezione da *Plasmodium falciparum*, l'attivazione dei Treg sembra si determini in maniera

aspecifica, a seguito di esposizione a TGF- β , IL-10 ed IL-2 secreti da varie cellule immunitarie in seguito a contatto col protozoo. Ciò potrebbe spiegare perché, nel corso della malattia, si osserva un regime di immunosoppressione generale, non limitato al solo plasmodio, responsabile della cronicizzazione dell'infezione¹⁰². Non è ancora ben chiaro cosa influenzi il fenotipo clinico in corso di malaria, in particolare il grado di attivazione dei Treg. Si è, tuttavia, osservato che le frequenze periferiche dei Treg nei soggetti con malaria è direttamente proporzionale alla carica parassitaria ed alla gravità della malattia¹⁰³. Attualmente, la conoscenza dei rapporti che si strutturano tra sistema immunitario ed agenti infettivi merita ancora ulteriori approfondimenti. In chiave terapeutica, la comprensione dei meccanismi attraverso cui i patogeni inducono la risposta T regolatoria può aprire le porte a nuove strategie volte,

a seconda dei casi, a incrementare o ridurre l'azione dei Treg, rispettivamente per potenziare la risposta immunitaria (vaccinazione, eradicazione di patogeni "difficili") o ridurne le conseguenze negative (tubercolosi, controllo di infezioni croniche in caso di fallita eradicazione).

Conclusioni

Il progressivo discernimento della fisiologia dei linfociti T regolatori CD4+CD25+Foxp3+ e la migliore comprensione del loro ruolo nelle malattie sottese da una patogenesi immunitaria consentirà, verosimilmente nel prossimo futuro, lo sviluppo di specifiche terapie biologiche atte a modulare, in base alle necessità, la funzione di queste cellule come innovativo approccio terapeutico.

Bibliografia

- ¹ Gershon RK, Kondo K. *Infectious immunological tolerance*. Immunology 1971;21:903-14.
- ² Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. *Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25): breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases*. J Immunol 1995;155:1151-64.
- ³ Shevach EM. *CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers*. Nat Rev Immunol 2002;2:389-400.
- ⁴ Maloy KJ, Powrie F. *Regulatory T cells in the control of immune pathology*. Nat Immunol 2001;2:816-22.
- ⁵ Sakaguchi S. *Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and nonself*. Nat Immunol 2005;6:345-52.
- ⁶ Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, et al. *Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*. J Exp Med 2000;192:303-10.
- ⁷ McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, et al. *CD4+CD25+ immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor*. Immunity 2002;16:311-23.
- ⁸ Garin MI, Chu CC, Golshayan D, et al. *Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells*. Blood 2007;109:2058-65.
- ⁹ Bruder D, Probst-Kepper M, Westendorf AM et al. *Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells*. Eur J Immunol 2004;34:623-30.
- ¹⁰ Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. *Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3*. Science 2003;299:1057-61.
- ¹¹ Schubert LA, Jeffery E, Zhang Y, et al. *Scurfin (FOXP3) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation*. J Biol Chem 2001;276:37672-9.
- ¹² Bettelli E, Dastrange M, Oukka M. *Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells*. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102:5138-43.
- ¹³ Asano M, Toda M, Sakaguchi N, et al. *Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation*. J Exp Med 1996;184:387-96.
- ¹⁴ Jordan MS, Boesteanu A, Reed AJ, et al. *Thymic selection of CD4+CD25+ regulatory T cells induced by antagonist self-peptide*. Nat Immunol 2001;2:301-6.
- ¹⁵ Kawahata K, Misaki Y, Yamauchi M, et al. *Generation of CD4+CD25+ regulatory T cells from autoreactive T cells simultaneously with their negative selection in the thymus and from non autoreactive T cells by endogenous TCR expression*. J Immunol 2002;168:4399-405.
- ¹⁶ Bacchetta R, Bigler M, Touraine JL, et al. *High levels of interleukin 10 production in vivo are associated with tolerance in SCID patients transplanted with HLA mismatched hematopoietic stem cells*. J Exp Med 1994;179:493-502.
- ¹⁷ Levings MK, Sangregorio R, Galbiati F, et al. *IFN- γ and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells*. J Immunol 2001;166:5530-9.
- ¹⁸ Chen Y, Kuchroo VK, Inobe J, et al. *Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis*. Science 1994;265:1237-40.
- ¹⁹ Weiner HL. *Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells*. Immunol Rev 2001;182:207-14.
- ²⁰ Vieira PL, Christensen JR, Minaee S, et al. *IL-10-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells*. J Immunol 2004;172:5986-93.
- ²¹ Cosmi L, Liotta F, Lazzeri E, et al. *Human CD8+CD25+ thymocytes share phenotypic and functional features with CD4+CD25+ regulatory thymocytes*. Blood 2003;102:4107-14.
- ²² Xystrakis E, Dejean AS, Bernard I, et al. *Identification of a novel natural regulatory CD8 T-cell subset and analysis of its mechanism of regulation*. Blood 2004;104:3294-301.
- ²³ Godfrey VL, Wilkinson JE, Russell LB. *X-linked lympho-*

- reticular disease in the scurfy (sf) mutant mouse. *J Pathol* 1991;138:1379-87.
- 24 Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. *Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse.* *Nat Genet* 2001;27:68-73.
 - 25 Wildin RS, Ramsdell F, Peake J, et al. *X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy.* *Nat Genet* 2001;27:18-20.
 - 26 Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, et al. *The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3.* *Nat Genet* 2001;27:20-1.
 - 27 Lin W, Truong N, Grossman WJ, et al. *Allergic dysregulation and hyperimmunoglobulinemia in Foxp3 mutant mice.* *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1106-15.
 - 28 Nieves DS, Phipps RP, Pollock SJ, et al. *Dermatologic and immunologic findings in the immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome.* *Arch Dermatol* 2004;140:466-72.
 - 29 Lindley S, Dayan CM, Bishop A, et al. *Defective suppressor function in CD4+CD25+ T-cells from patients with type 1 diabetes.* *Diabetes* 2005;54:92-9.
 - 30 Michalek J, Vrabelova Z, Hrotekova Z, et al. *Immune regulatory T cells in siblings of children suffering from type 1 diabetes mellitus.* *Scand J Immunol* 2006;64:531-5.
 - 31 Richer MJ, Straka N, Fang D, et al. *Regulatory T-cells protect from type 1 diabetes after induction by coxsackievirus infection in the context of transforming growth factor-beta.* *Diabetes* 2008;57:1302-11.
 - 32 Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, et al. *Isolation and functional characterization of regulatory CD25 bright CD4+ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis.* *Eur J Immunol* 2003;33:215-23.
 - 33 Liu MF, Wang CR, Fung LL, et al. *The presence of cytokine-suppressive CD4+ CD25+ T cells in the peripheral blood and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis.* *Scand J Immunol* 2005;62:312-7.
 - 34 Mottonen M, Heikkinen J, Mustonen L, et al. *CD4+ CD25+ T cells with the phenotypic and functional characteristics of regulatory T cells are enriched in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis.* *Clin Exp Immunol* 2005;140:360-7.
 - 35 de Kleer IM, Wedderburn LR, Taams LS, et al. *CD4+CD25^{bright} regulatory T cells actively regulate inflammation in the joints of patients with the remitting form of juvenile idiopathic arthritis.* *J Immunol* 2004;172:6435-43.
 - 36 van Amelsfort JM, Jacobs KM, Bijlsma JW, et al. *CD4+CD25+ regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype and function between peripheral blood and synovial fluid.* *Arthritis Rheum* 2004;50:2775-85.
 - 37 Ruprecht CR, Gattorno M, Ferlito F, et al. *Coexpression of CD25 and CD27 identifies FoxP3+ regulatory T cells in inflamed synovia.* *J Exp Med* 2005;201:1793-803.
 - 38 Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, et al. *Loss of functional suppression by CD4+ CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis.* *J Exp Med* 2004;199:971-9.
 - 39 Huan J, Culbertson N, Spencer L, et al. *Decreased FOXP3 levels in multiple sclerosis patients.* *J Neurosci Res* 2005;81:45-52.
 - 40 Kumar M, Putzki N, Limmroth V, et al. *CD4+CD25+FoxP3+ T lymphocytes fail to suppress myelin basic protein-induced proliferation in patients with multiple sclerosis.* *J Neuroimmunol* 2006;180:178-84.
 - 41 Venken K, Hellings N, Thewissen M, et al. *Compromised CD4+ CD25^{high} regulatory T cell function in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is correlated with a reduced frequency of FOXP3 positive cells and a reduced FOXP3 expression at the single-cell level.* *Immunology* 2007;123:79-89.
 - 42 Feger U, Luther C, Poeschel S, et al. *Increased frequency of CD4+ CD25+ regulatory T cells in the cerebrospinal fluid but not in the blood of multiple sclerosis patients.* *Clin Exp Immunol* 2007;147:412-418.
 - 43 Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, et al. *Peripheral and intestinal regulatory CD4+CD25^{high} T cells in inflammatory bowel disease.* *Gastroenterology* 2005;128:1868-78.
 - 44 Takahashi M, Nakamura K, Honda K, et al. *An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis.* *Dig Dis Sci* 2006;51:677-86.
 - 45 Saruta M, Yu QT, Fleshner PR, et al. *Characterization of FOXP3+CD4+ regulatory T cells in Crohn's disease.* *Clin Immunol* 2007;125:281-90.
 - 46 Yu QT, Saruta M, Avanesyan A, et al. *Expression and functional characterization of FOXP3+CD4+ regulatory T cells in ulcerative colitis.* *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:191-9.
 - 47 Holmen N, Lundgren A, Lundin S, et al. *Functional CD4+CD25^{high} regulatory T cells are enriched in the colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis and increase with disease activity.* *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:447-56.
 - 48 Lee JH, Wang LC, Lin YT, et al. *Inverse correlation between CD4+ regulatory T-cell population and autoantibody levels in paediatric patients with systemic lupus erythematosus.* *Immunology* 2006;117:280-6.
 - 49 Barath S, Aleksza M, Tarr T, et al. *Measurement of natural (CD4+CD25^{high}) and inducible (CD4+IL-10+) regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus.* *Lupus* 2007;16:489-96.
 - 50 Mellor-Pita S, Citores MJ, Castejon R, et al. *Decrease of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus.* *Ann Rheum Dis* 2006;65:553-4.
 - 51 Bonelli M, von Dalwigk K, Savitskaya A, et al. *Foxp3 expression in CD4+ T cells of patients with systemic lupus erythematosus: a comparative phenotypic analysis.* *Ann Rheum Dis* 2008;67:664-71.
 - 52 Lee HY, Hong YK, Yun HJ, et al. *Altered frequency and migration capacity of CD4+CD25+ regulatory T cells in systemic lupus erythematosus.* *Rheumatology* 2008;47:789-94.
 - 53 Lyssuk EY, Torgashina AV, Soloviev SK, et al. *Reduced number and function of CD4+CD25^{high}FoxP3+ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus.* *Adv Exp Med Biol* 2007;601:113-9.
 - 54 Suarez A, Lopez P, Gomez J, et al. *Enrichment of CD4+CD25^{high} T cell population in patients with systemic lupus erythematosus treated with glucocorticoids.* *Ann Rheum Dis* 2006;65:1512-7.
 - 55 Barath S, Soltesz P, Kiss E, et al. *The severity of systemic lu-*

- pus erythematosus negatively correlates with the increasing number of CD4+CD25^{high}FoxP3+ regulatory T cells during repeated plasmapheresis treatments of patients. *Autoimmunity* 2007;40:521-8.
- 56 Sfrikakis PP, Souliotis VL, Fragiadaki KG, et al. Increased expression of the FoxP3 functional marker of regulatory T cells following B cell depletion with rituximab in patients with lupus nephritis. *Clin Immunol* 2007;123:66-73.
 - 57 Yates J, Whittington A, Mitchell P, et al. Natural regulatory T cells: number and function are normal in the majority of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2008;153:44-55.
 - 58 Zhao SS, Li XM, Li XP, et al. Expression of CD4+CD25+CD127^(low/-) T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2008;88:453-6.
 - 59 Venigalla RK, Tretter T, Krienke S. Reduced CD4+CD25- T cell sensitivity to the suppressive function of CD4+CD25^{high}CD127^{low} regulatory T cells in patients with active systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2008;58:2120-30.
 - 60 Tiemessen MM, Van Hoffen E, Knulst AC, et al. CD4 CD25 regulatory T cells are not functionally impaired in adult patients with IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:934-6.
 - 61 Bellinghausen I, Klostermann B, Knop J, et al. Human CD4+CD25+ T cells derived from the majority of atopic donors are able to suppress TH1 and TH2 cytokine production. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:862-8.
 - 62 Ling EM, Smith T, Nguyen XD, et al. Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004;363:608-15.
 - 63 Bellinghausen I, Konig B, Bottcher I, et al. Regulatory activity of human CD4+ CD25+ T cells depends on allergen concentration, type of allergen and atopy status of the donor. *Immunology* 2005;116:103-11.
 - 64 Eder W, Klimecki W, Yu L, et al. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:482-8.
 - 65 Eisenbarth SC, Piggott DA, Huleatt JW, et al. Lipopolysaccharide enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 2002;196:164-51.
 - 66 Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: balancing host resistance with immune tolerance. *Curr Opin Immunol* 2003;15:677-82.
 - 67 Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science* 2003;299:1033-6.
 - 68 Haddeland U, Karstensen AB, Farkas L, et al. Putative regulatory T cells are impaired in cord blood from neonates with hereditary allergy risk. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:104-12.
 - 69 Schaub B, Liu J, Hoppler S, et al. Impairment of T-regulatory cells in cord blood of atopic mothers. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1491-9.
 - 70 Ly NP, Ruiz-Perez B, McLoughlin RM, et al. Characterization of regulatory T cells in urban newborns. *Clin Mol Allergy* 2009;7:8.
 - 71 Jartti T, Paul-Anttila M, Lehtinen P, et al. Systemic T-helper and T-regulatory cell type cytokine responses in rhinovirus vs. respiratory syncytial virus induced early wheezing: an observational study. *Resp Res* 2009;10:85.
 - 72 Fujimura T, Okuyama R, Ito Y, et al. Profiles of Foxp3+ regulatory T cells in eczematous dermatitis, psoriasis vulgaris and mycosis fungoides. *Br J Dermatol* 2008;158:1256-63.
 - 73 Cavani A, Nasorri F, Ottaviani C, et al. Human CD25+ regulatory T cells maintain immune tolerance to nickel in healthy, nonallergic individuals. *J Immunol* 2003;171:5760-8.
 - 74 Ou LS, Goleva E, Hall C, et al. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:756-63.
 - 75 Karlsson MR, Rugtveit J, Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J Exp Med* 2004;199:1679-88.
 - 76 Francis JN, Till SJ, Durham SR. Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1255-61.
 - 77 Jutel M, Akdis M, Budak F, et al. IL-10 and TGF- β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003;33:1205-14.
 - 78 Karagiannidis C, Akdis M, Holopainen P, et al. Glucocorticoids upregulate FOXP3 expression and regulatory T cells in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1425-33.
 - 79 Dao Nguyen X, Robinson DS. Fluticasone propionate increases CD4+CD25+ T regulatory cell suppression of allergen-stimulated CD4+CD25+ T cells by an IL-10-dependent mechanism. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:296-301.
 - 80 Hawrylowicz C, Richards D, Loke TK, et al. A defect in corticosteroid-induced IL-10 production in T lymphocytes from corticosteroid-resistant asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:369-70.
 - 81 Lundgren A, Stromberg E, Sjoling A. Mucosal FOXP3-expressing CD4+ CD25^{high} regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Infect Immun* 2005;73:523-31.
 - 82 Lundgren A, Suri-Payer E, Enarsson K. *Helicobacter pylori*-specific CD4+ CD25^{high} regulatory T cells suppress memory T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals. *Infect Immun* 2003;71:1755-62.
 - 83 Hamlet A, Thoreson AC, Nilsson O, et al. Duodenal *Helicobacter pylori* infection differs in cagA genotype between asymptomatic subjects and patients with duodenal ulcers. *Gastroenterology* 1999;116:259-68.
 - 84 Stromberg E, Lundgren A, Edeboet A, et al. Increased frequency of activated T-cells in the *Helicobacter pylori*-infected antrum and duodenum. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;36:159-68.
 - 85 Hougardy J-M, Place S, Hildebrand M, et al. Regulatory T cells depress immune responses to protective antigens in active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:409-16.
 - 86 Soito K, Wagatsuma T, Toyama H, et al. Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating CD4+CD25+ T regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. *Tohoku J Exp Med* 2008;216:61-8.
 - 87 Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, et al. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. *Hepatology* 2003;38:1437-48.

- 88 Perrella A, Vitiello L, Atripaldi, et al. *Elevated CD4+/CD25+ T cell frequency and function during acute hepatitis C presage chronic evolution*. Gut 2006;55:1370-1.
- 89 Ulsenheimer A, Gerlach JT, Gruener NH, et al. *Detection of functionally altered hepatitis C virus-specific CD4 T cells in acute and chronic hepatitis C*. Hepatology 2003;37:1189-98.
- 90 Boettler T, Spangenberg HC, Neumann-Haefelin, et al. *T cells with a CD4+CD25+ regulatory phenotype suppress in vitro proliferation of virus-specific CD8+ T cells during chronic hepatitis C virus infection*. J Virol 2005;79:7860-7.
- 91 Bolacchi F, Sinistro A, Ciaprin, et al. *Increased hepatitis C virus (HCV)-specific CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes and reduced HCV-specific CD4+T cell response in HCV-infected patients with normal versus abnormal alanine aminotransferase levels*. Clin Exp Immunol 2006;144:188-96.
- 92 Cabrera R, Tu Z, Xu Y, et al. *An immunomodulatory role for CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection*. Hepatology 2004;40:1062-71.
- 93 Xu D, Fu J, Jin L, et al. *Circulating and liver resident CD4+CD25+ regulatory T cells actively influence the anti-viral immune response and disease progression in patients with hepatitis B*. J Immunol 2006;177:739-47.
- 94 Andersson J, Boasso A, Nilsson J, et al. *Cutting edge: the prevalence of regulatory T cells in lymphoid tissue is correlated with viral load in HIV-infected patients*. J Immunol 2005;174:3143-7.
- 95 Eggena MP, Barugahare B, Jones N, et al. *Depletion of regulatory T cells in HIV infection is associated with immune activation*. J Immunol 2005;174:4407-14.
- 96 Montagnoli C, Fallarino F, Gaziano R, et al. *Immunity and tolerance to Aspergillus involve functionally distinct regulatory T cells and tryptophan catabolism*. J Immunol 2006;176:1712-23.
- 97 Netea MG, Sutmoller R, Hermann C, et al. *Toll-like receptor 2 suppresses immunity against Candida albicans through induction of IL-10 and regulatory T cells*. J Immunol 2004;172:3712-8.
- 98 Bourreau E, Ronet C, Darcissac E, et al. *Intralesional regulatory T-cell suppressive function during human acute and chronic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania guyanensis*. Infect Immun 2009;77:1465-74.
- 99 Ji J, Masterson J, Sun J, et al. *CD4+CD25+ regulatory T cells restrain pathogenic responses during Leishmania amazonensis infection*. J Immunol 2005;174:7147-53.
- 100 Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, et al. *CD4+CD25+ regulatory T cells control Leishmania major persistence and immunity*. Nature 2002;420:502-7.
- 101 Williams M, Oldenhove G, Noel W, et al. *African trypanosomiasis: naturally occurring regulatory T cells favor trypanotolerance by limiting pathology associated with sustained type 1 inflammation*. J Immunol 2007;179:2748-57.
- 102 Scholzen A, Mittag D, Rogerson SJ, et al. *Plasmodium falciparum-mediated induction of human CD25^{hi}Foxp-3^{hi}CD4 T cells is independent of direct TCR stimulation and requires IL-2, IL-10 and TGFβ*. PLoS Pathog 2009;5:e1000543.
- 103 Minigo G, Woodberry T, Piera KA, et al. *Parasite-dependent expansion of TNF receptor II-positive regulatory T cells with enhanced suppressive activity in adults with severe malaria*. PLoS Pathog 2009;5:e1000402.