

La tolerancia inmunológica a 50 años del Premio Nobel en Medicina y Fisiología: Una perspectiva como mecanismo de respuesta inmune frente a patógenos.

Lisbeth Berrueta y Siham Salmen.

Instituto de Inmunología Clínica, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Palabras clave: células T reguladoras, Treg, tolerancia inmune, VHB, VHC, VIH.

Resumen. El sistema inmune es responsable de proteger al organismo contra agentes extraños mediante el desarrollo de un repertorio de receptores, capaces de reconocer antígenos de toda etiología, diferenciando moléculas propias de extrañas, estableciendo además fundamentos para la identidad biológica del individuo. Para ello dispone de una red compleja de mecanismos celulares y moleculares que son los responsables de la llamada tolerancia inmune. La regulación de la interacción entre el sistema inmune y los antígenos que eventualmente puede conducir al desarrollo de tolerancia, es crítica tanto en condiciones fisiológicas como en diferentes estados de patología. Desde las primeras descripciones de Medawar, las cuales mostraron que el fenómeno de tolerancia es adquirido y central para la homeóstasis del sistema inmune, un número importante de mecanismos se han propuesto para explicar la tolerancia inmune. Sin embargo, un mecanismo único de autotolerancia ha surgido: la generación de linfocitos T reguladores antígeno específicos, también conocidos como células T reguladoras (Treg), de origen central o periférico. Esta subpoblación de linfocitos con funciones supresoras ha mostrado un papel muy importante no solo en el control de enfermedades autoinmunes, sino además en la inmunopatogenia de enfermedades infecciosas crónicas, ya sean inducidas por el patógeno como mecanismo de escape o por el hospedador para mitigar el daño tisular consecuencia de la activación de la respuesta inmune. Esta revisión tiene como propósito actualizar los conceptos modernos en tolerancia inmune, con especial énfasis en el papel de las células Treg en la tolerancia inducida durante el curso de infecciones crónicas.

Immune tolerance at 50 years from the Nobel Prize in Medicine and Physiology: A perspective as a mechanism of immune response against pathogens.

Invest Clin 2010; 51(2): 159 - 192

Key words: Regulatory T cells, Treg, immune tolerance, HBV, HVC, HIV.

Abstract. The immune system has the capability of protection against infectious disease which is accomplished by an enormous repertoire of receptors specifically reactive to foreign antigens, but it is tolerant to self-antigens, establishing biological identity. The ability to discriminate between self and non-self is a central property of the immune system, by using complex network of cellular and molecular mechanisms in order to prevent autoimmunity; this function is called immune tolerance. Thus, the Interaction between immune system and antigens is required for the generation of tolerance and it is critical in different physiological and pathological conditions in order to limit the damage to self tissues. Since Medawar description, who showed that the tolerance is an acquired property playing a central role in the homeostasis, several mechanism has been proposed to explain it. It is accepted today that an important group of antigen specific cells called regulatory T cell, both natural and induced, are critical as a unifying mechanism to maintain self-tolerance. These suppressor lymphocyte subpopulations had shown to play an important role not only by controlling autoimmune disease but also in the pathogenesis of many chronic infectious diseases, either manipulated by the microorganism to escape from the immune system, or induced by the host to reduce inflammatory damage. This review has the intention of updating about modern concepts in immune tolerance mechanisms, with special emphasis played by Treg cell in the tolerance which is unquestionable induced during the course of chronic infections diseases.

INTRODUCCIÓN

A principios del siglo XX, la capacidad de un organismo para reconocer sus propios tejidos y distinguirlos de agentes extraños tales como virus, bacterias o tejidos transplantados era un problema serio para las ciencias médicas. En 1949 el inmunólogo australiano Frank Macfarlane Burnet propuso una teoría totalmente diferente y muy exitosa de distinción inmunológica, la cual lo condujo junto al científico británico Peter Medawar, a compartir el premio No-

bel en fisiología y medicina en 1960. Esta idea fue concebida por Burnet después de muchos años de estudios teóricos, los cuales culminaron en su monografía "La producción de anticuerpos". De acuerdo con esta propuesta, lo que conocemos como "propio" es definido durante la embriogénesis, a través de interacciones muy complejas entre las células inmunes y el resto de las células y moléculas en el embrión. Durante este proceso aún la materia extraña y los microorganismos que accidentalmente invaden el cuerpo del embrión, pue-

den ser percibidas como propias. Por lo tanto Burnet argumentó que las bacterias, virus y células genéticamente distintas, que ingresan al organismo durante la vida embrionaria, pueden ser tolerados indefinidamente. Medawar y su equipo apoyaron este argumento mediante sus experimentos de trasplante, los cuales aportaron la primera demostración de que tejidos extraños diferentes a corneas, pueden ser tolerados exitosamente dentro de un individuo genéticamente diferente. Esta teoría contribuyó a redefinir la inmunología como la ciencia de reconocimiento entre lo propio y lo extraño y generó un concepto muy innovador que vinculó la ciencia básica con la clínica en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, cáncer, alergias y síndromes por inmunodeficiencias.

El mecanismo propuesto por Burnet para este proceso de tolerancia adquirida fue la delección clonal selectiva de los linfocitos específicos para los aloantígenos inoculados durante el desarrollo (1). Sin embargo, los experimentos realizados tratando de reconstituir animales tolerantes con poblaciones de nódulos linfáticos normales fueron mucho menos efectivos, sugiriendo que el fenómeno de tolerancia observado podría ser más complicado de lo que se pensó.

Hoy día se sabe que no todos los fenómenos de tolerancia observados pueden ser explicados por el modelo de delección clonal. En el caso de los linfocitos B autorreactivos, se trata de células que pueden sobrevivir aún después del proceso de selección negativa. Algunas parecen haber experimentado el fenómeno de re-edición del receptor (2); otras simplemente no responden muy bien al desafío antigénico inicial, proceso referido como anergia clonal (3), ambos procesos pueden ocurrir también en el timo.

Después de 50 años del reconocimiento público mundial del trabajo de Burnet y

Medawar y de los avances alcanzados en el conocimiento de los mecanismos de tolerancia inmune tanto central como periférica, un mecanismo único de autotolerancia ha surgido, y es la generación de linfocitos T reguladores antígeno específicos, también conocidos como células Treg. Los primeros experimentos que sugirieron la existencia de estas células fueron realizados por Nishizuka y Sakakura (4), quienes demostraron que ratones timectomizados entre el 2do y 3er día de edad, desarrollaban una enfermedad autoinmune órgano específica, la cual podía prevenirse reintroduciendo linfocitos T obtenidos de timo o bazo de ratones adultos singénicos. Posteriormente Sakaguchi caracterizó estas células Treg naturales que expresan el factor de transcripción Foxp3 (5, 6).

Cada microambiente requiere un grupo específico de elementos reguladores que son constantemente optimizados para mantener la homeostasis. Varias poblaciones de Treg contribuyen a mantener este equilibrio y a establecer el control de la respuesta inmune. Durante la infección por patógenos las células Treg reducen la magnitud de la respuesta efectora, lo cual puede limitar la respuesta inmune y por ende el control de la infección. Sin embargo, las células Treg pueden disminuir el daño tisular que se genera por una respuesta inmune vigorosa durante los procesos infecciosos. Estas dos particularidades de las células Treg pueden ser utilizadas por los agentes infecciosos para evadir la respuesta inmune, manteniéndose ocultos de los elementos efectores de la misma, creando condiciones de tolerancia que le permitan sobrevivir y replicarse dentro del hospedador por largos periodos de tiempo. Ciertamente, muchos patógenos han desarrollado mecanismos poderosos para manipular esta red reguladora en el hospedador, a su conveniencia, creando condiciones que aseguren su sobrevivencia.

En esta revisión, se destaca la importancia de la tolerancia inmune como un mecanismo vital para la homeostasis de los tejidos y en especial el papel que los elementos responsables de la tolerancia, principalmente las células Treg, juegan en la interacción patógeno-hospedador. Finalmente se hace una breve referencia a las perspectivas que existen en la actualidad y las posibilidades futuras de manipular estas subpoblaciones celulares en el control de las enfermedades infecciosas crónicas como estrategia terapéutica que re-establezca el delicado balance de la respuesta inmune, garantizando la eliminación del agente infeccioso, pero evitando el daño colateral producto de la activación de los elementos de la respuesta inflamatoria.

MECANISMOS DE INDUCCIÓN DE LA TOLERANCIA

La tolerancia se define como la ausencia de respuesta a un antígeno específico ante el cual ha ocurrido contacto previo, como resultado de uno o más mecanismos que suprimen la respuesta inmune (7). Los principales avances que permitieron el estudio de la tolerancia se lograron al inducir este fenómeno en animales mediante la exposición a antígenos definidos en diversas condiciones. Los primeros estudios de tolerancia mostraron que se podía inducir a través del reconocimiento de antígenos durante la vida neonatal, además se pudo determinar que el fenómeno de tolerancia es antígeno específico. Peter Medawar alrededor de los años 50 realizó estudios sobre el rechazo de injertos en ratones consanguíneos: un ratón adulto de la cepa A rechazará un injerto cutáneo de un ratón alógeno de la cepa B que difiere de la cepa A en el complejo principal de histocompatibilidad. Si al ratón de la cepa A se le inyectaron células sanguíneas de la cepa B durante la vida neonatal, las células inyectadas no se-

rán rechazadas y tampoco serán rechazadas si se le inyectan nuevamente en la vida adulta. Estos experimentos llevaron a la conclusión de que la exposición de los linfocitos en desarrollo a antígenos extraños induce tolerancia a estos antígenos (8).

El fenómeno de tolerancia se puede inducir en linfocitos inmaduros a nivel de los órganos linfoides primarios (tolerancia central) o en los linfocitos maduros a nivel de los órganos linfoides secundarios (tolerancia periférica).

Tolerancia central

Se induce en el sitio primario de desarrollo de los linfocitos: la médula ósea para los linfocitos B y el Timo para los linfocitos T. En general abarca todos aquellos mecanismos a través de los cuales el reconocimiento de antígenos propios mediado por receptores conduce a autotolerancia (9).

Aunque los mecanismos de tolerancia central son muy eficientes, estos no pueden eliminar a todos los linfocitos autorreactivos, en parte porque no todos los antígenos propios son expresados en el sitio primario de desarrollo de los linfocitos. Por lo tanto, existen mecanismos de tolerancia periférica y estos son responsables de inducir tolerancia en aquellos linfocitos que por primera vez se enfrentan a su antígeno propio fuera del órgano linfoide primario (8).

Tolerancia central de linfocitos T

El mecanismo principal de tolerancia central dependiente de linfocitos T lo constituye la delección clonal, (esto es el suicidio de los progenitores de T que tienen alta afinidad por antígenos propios). Se han descrito además otros procesos tales como la anergia y la re-edición de receptores, pero su papel es menos importante (9). Mediante estos 3 procesos se eliminan las células autorreactivas que tienen una alta afinidad por antígenos propios. Estos mecanismos son denominados como selección negativa.

Sin embargo, existen otros mecanismos que no están diseñados para la destrucción de células T autorreactivas y se refieren a mecanismos de selección positiva de poblaciones de células Treg, de las cuales se detallará más adelante. Estas poblaciones de Treg se inducen a partir de interacciones agonistas entre TCR/MHC y antígenos propios en el Timo (10).

Los dos factores principales que determinan si un antígeno propio en particular inducirá la selección negativa de los linfocitos T autorreactivos son: la concentración de ese antígeno en el timo y la afinidad de los receptores de linfocitos por ese antígeno. El control de la expresión de antígenos propios por las células del epitelio tímico se encuentra bajo el control del gen *AIRE*. La proteína *AIRE* puede actuar como factor de transcripción para favorecer la expresión de antígenos tisulares o para estimular la producción de proteínas que participan en la presentación de éstos antígenos (11). Existen poblaciones de linfocitos T inmaduros cuyos receptores reconocen complejos péptido propio/MHC con alta afinidad. Al entrar en contacto con los antígenos propios, estas poblaciones pueden ser eliminadas por apoptosis. Este proceso afecta tanto a las poblaciones linfocitarias restringidas por las moléculas de histocompatibilidad (MHC)- I como MHC-II y por tanto es un mecanismo de tolerancia importante tanto para CD4 como para CD8. La selección negativa de los timocitos es responsable de que el repertorio de los linfocitos T maduros que salen del timo y pueblan los tejidos linfáticos periféricos, no respondan a los antígenos propios que le son presentados a concentraciones elevadas en el timo.

El proceso de tolerancia central busca eliminar o al menos alterar los linfocitos T que expresen un receptor de alta afinidad para antígenos propios ya que estas células tienen el potencial de mediar reacciones autoinmunes. El fundamento de la toleran-

cia central es la delección clonal de células T autorreactivas y la selección positiva de células Treg con capacidad de controlar a las primeras. Para que la tolerancia central sea eficiente, los elementos del estroma que se encargan de la selección negativa, tendrán que expresar una cantidad elevada de antígenos restringidos por el tejido que representen cantidades equiparables de autoantígenos presentes fuera del timo, para poder establecer y mantener la autotolerancia (12).

Tolerancia central en linfocitos B

Si los linfocitos B reconocen antígenos propios que están presentes en una concentración elevada en la médula ósea, y especialmente si el antígeno es presentado en forma multivalente, los linfocitos B reactivan sus genes *RAG1* y *RAG2* y expresan una nueva cadena ligera de inmunoglobulina adquiriendo así una nueva especificidad (edición de receptor). Si la autorreactividad no es eliminada por esta vía los linfocitos B pueden ser eliminados por apoptosis (2).

Tolerancia periférica

En el timo el proceso de delección de clonas autorreactivas no puede ser exhaustivo so pena de reducir dramáticamente el repertorio de linfocitos T disponible para responder a los antígenos extraños, por lo que se mantienen en circulación clonas celulares capaces de reconocer antígenos propios de los tejidos “periféricos”. Se ha demostrado por ejemplo la existencia en animales normales de clones celulares capaces de reconocer colágeno tipo II y proteína básica de la mielina, así como receptores de acetil colina y antígenos de los islotes de Langerhans. Normalmente estas clonas autorreactivas no responden a los antígenos periféricos. Los mecanismos que subyacen a esta “respuesta inespecífica” son muy variados y entre ellos se incluyen ignorancia clonal, anergia, delección, inhibición y supresión (9).

Tolerancia periférica en los linfocitos T

Es el proceso mediante el cual los linfocitos T maduros que reconocen tejidos propios en tejidos periféricos dejan de responder a estos antígenos en forma específica. La tolerancia periférica se debe a anergia, eliminación o supresión de los linfocitos T, mecanismos que pueden actuar por separado o en conjunto. Uno de los fenómenos que explica la anergia es el que se refiere a la ausencia de señales coestimuladoras de los linfocitos o a la participación de señales inhibitorias durante la presentación antigénica, tales como las dependientes de miembros de la familia de CD28: las moléculas CTLA4 y PD-1 (13). Además la anergia de los linfocitos T puede también inducirse mediante la administración de antígenos extraños de forma que produzcan un reconocimiento del antígeno sin coestimulación ni inflamación.

Tolerancia periférica en linfocitos B

A nivel periférico, los linfocitos B que reconocen antígenos propios pueden ser eliminados por apoptosis. Estos linfocitos B autorreactivos tienen una menor capacidad de migrar hacia los nódulos linfáticos, probablemente porque expresan niveles bajos de CXCR5, lo que induce exclusión folicular y al no recibir señales de supervivencia mueren por apoptosis (14).

Finalmente, existen estrategias celulares utilizadas para regular el reconocimiento de antígenos propios a nivel de los receptores tanto de linfocitos B como de los linfocitos T: 1) mediante apoptosis inducida por inhibición de vías de supervivencia de BCL-2 (Ej: BIM) o mediante la activación de receptores de muerte (Fas). 2) mediante edición del receptor por recombinaciones V(D)J o hipermutaciones en el BCR que reducen la unión a antígenos propios. 3) regulación mediante disminución de la expresión del TCR o BCR, a través de: inducción de receptores inhibitorios (CTLA-4), fosfa-

tasas (SHP1), ubiquitin ligasas (CBL). 4) Limitación de señales de supervivencia (IL-7), limitación de señales de coestimulación (CD40L, moléculas B7) supresión activa y limitación de mecanismos inflamatorios de la inmunidad innata (12).

Inducción de tolerancia periférica en linfocitos T dependiente de linfocitos B

Son varios los mecanismos que utilizan los linfocitos B para inducir células T tolerogénicas: las células B pueden inducir tolerancia en linfocitos CD8+ de manera directa o indirecta. Se desarrolla tolerancia directa cuando las células T CD8+ reconocen antígenos presentados por los linfocitos B en el contexto de MHC de clase I, lo que puede conducir a delección o anergia o también al desarrollo de linfocitos T CD8+ supresores. De manera indirecta, las células B pueden presentar antígenos a células T CD4+ e inducir una respuesta tolerogénica bloqueando su función cooperadora en la activación de otras células inmunes. Los linfocitos B pueden inhibir la proliferación y diferenciación de linfocitos CD4+. La persistencia de linfocitos B como presentadores de antígenos puede conducir a respuesta tolerogénica más que a activación de la respuesta inmune. Las células B pueden además regular la actividad de las células dendríticas condicionándolas a una respuesta supresora mediado en parte por IL-10. Finalmente los linfocitos B pueden secretar factores supresores con un efecto inhibitorio directo sobre Th o CTL (7).

Inducción de tolerancia periférica en linfocitos T dependiente de células dendríticas

Durante la activación de los linfocitos T se requiere de la combinación de tres señales, las provenientes del TCR, de las moléculas co-estimuladoras y de las citocinas del microambiente. La integración de estas señales ocurre durante la formación de la

sinapsis inmune, establecida entre las células presentadoras de antígeno (CPA) y los linfocitos T (15). Así, la capacidad para generar una respuesta pro-inflamatoria o supresora/reguladora depende de diversas características, entre ellas las inherentes a las CPA, que están demarcadas por su estado de maduración, subpoblación de CDs y el microambiente donde ocurre esta interacción (16). Las CDs son una subpoblación altamente especializada de CPA profesionales o convencionales, conocidas como las células centinelas del sistema inmune, encargadas de capturar antígenos provenientes de patógenos y células tumorales, para activar una respuesta efectora. Adicionalmente, estas células juegan un papel crítico en la vigilancia y mantenimiento de la tolerancia hacia los antígenos propios (17).

Las CDs se encuentran en dos diferentes estadios funcionales, CDs maduras e inmaduras, las CDs inmaduras se ubican predominantemente en los tejidos periféricos y son células fundamentalmente fagocíticas. Estas células están especializadas para capturar antígenos solubles proveniente de los tejidos donde residen y células apoptóticas (especialmente en microambientes con alta remodelación, por ejemplo el útero e intestino), pero son poco eficientes para procesarlos y presentarlos, lo que probablemente está asociado con la inducción de anergia y al desarrollo de células T reguladoras (Treg) (población de células que será descrita en profundidad más adelante), favoreciendo así el mantenimiento de la tolerancia periférica. Esto es explicado en parte por su baja expresión de MHC-II y moléculas co-estimuladoras (18). Adicionalmente, se ha evidenciado que la captura de células apoptóticas por los macrófagos y CDs, induce la producción de TGF- β , contribuyendo de esta manera al desarrollo de Treg para generar la tolerancia periférica (19). Existe además un estadio intermedio o CDs semi-inmaduras, que en condiciones fisiológicas

y en ausencia de respuesta inflamatoria migran de manera constante desde los tejidos periféricos hacia los nódulos linfáticos, con la finalidad de mediar la tolerancia hacia los antígenos propios (20). Estas CDs semi-inmaduras se han descrito además como residentes de los nódulos linfáticos y pueden capturar Ag solubles liberados en el conducto linfático y en ausencia de respuesta inflamatoria, median efecto tolerogénico sobre los linfocitos T CD4+ y CD8+ (21, 22).

Parte de la gran plasticidad de las CDs viene dada por la existencia de subpoblaciones específicas que se originan de diferentes linajes celulares, y son responsables de activar la tolerancia o la respuesta inflamatoria, ejemplo de ello es que las CDs de linaje mielóide (CDsm) inducen una fuerte respuesta proliferativa proinflamatoria de células T, mientras que las CDs de linaje linfóide o CDs plasmocitoides (CDsp), conducen a una respuesta proliferativa débil, y están implicadas en la polarización de la respuesta hacia un fenotipo de tipo regulador (17).

Varias moléculas presentes en las CDs han sido descritas que participan en la inducción de las Treg, una de ellas es ICOS-L expresado en las CDsp, que promueve la secreción de IL-10 por las Treg (21, 23). Otras moléculas descritas son las enzimas Indoleamina 2,3-dioxygenasa (IDO) e INDOL1, responsables del catabolismo del triptófano (un aminoácido esencial para la proliferación linfocitaria). La presencia de CDs IDO+ o INDOL1+ promueve la eliminación del triptófano de los microambientes en los que se encuentren, favoreciendo así que las células efectoras reclutadas sean eliminadas. Las células IDO+ han sido denominadas como CD reguladoras (CDsreg), y son capaces de inducir la activación de células T (evaluado a través de la expresión de CD69, CD25 y de la secreción de IL-2 e IFN- γ) en ausencia de proliferación celular,

además de liberar ligandos de CXCR3 y la proteína inducible de IFN- γ (IP-10), favoreciendo el reclutamiento, inhibición, arresto en el ciclo celular, apoptosis, disminución de la expresión de la cadena ζ del TCR y depleción de células T ayudadoras de tipo 1 (Th1) (17). La activación de ambas rutas enzimáticas se asocia además con la inducción de la expresión de IL-10 (24, 25) y maduración de Treg productoras de IL-10 (Tr1) (26). La inducción de IDO e INDOL1 en las CDs, está asociada con la presencia en el microambiente de maduración de TNF- α , prostaglandina E2 (PGE2) (27), y del acoplamiento entre B7 y CTLA-4, para activar su expresión. Otros receptores han sido implicados en favorecer la expresión de IDO, dentro de los cuales se destacan: los ligandos de TLR9 (28), CD200 (29), el ligando de 4-1BB (30), el ligando de CD40 (31) y GITR (25, 32). Finalmente, se ha descrito que un número importante de estas células (IDO+) han sido detectadas en nódulos linfáticos próximos a tumores sugiriendo un papel regulador para estas células presentadoras de antígenos (24).

Otra evidencia que apoya la existencia de células dendríticas reguladoras es la descripción de poblaciones de células dendríticas con capacidad de atraer linfocitos Th1 a través de la secreción de CXCR3 y cuyos efectos inhibitorios estarían mediados por la producción de óxido nítrico (NO), sin que esto involucre la diferenciación de T cooperadoras en T reguladoras (17).

Una vez generadas las Treg ellas pueden además controlar el desarrollo de CDs tolerogénicas, y uno de los elementos involucrados es Foxp3 que controla la transcripción de múltiples genes, dentro de los cuales se destaca Neuropilin-1 (Nrp-1), que se expresa predominantemente en las Treg (más del 80% de las células CD4+CD25+ son positivas para Nrp-1) y no en las células T vírgenes (33, 34) y al parecer una de sus principales funciones es prolongar la inte-

racción entre las Treg y las células CDs, lo que resulta en una alta sensibilidad a concentraciones limitadas de antígeno, y le ofrece más ventaja a las Treg sobre la T vírgenes (con la misma especificidad antigénica) para interactuar con DC que expresan antígenos propios, suprimiendo la respuesta inmune en ausencia de un ambiente pro-inflamatorio (35). La dinámica y composición molecular de la sinapsis entre las CDs y las Treg no ha sido caracterizada; sin embargo la expresión ectópica de Foxp3 conduce a cambios marcados en la interacción y comportamiento de las células T que expresan Nrp-1, y a un incremento del número de interacciones Treg/CDs durante la formación de la sinapsis inmune (33, 36). Las Treg además, expresan constitutivamente CTLA-4, cuya función durante la interacción con la CDs es la de promover la reducción de la expresión de moléculas co-estimuladoras convirtiéndolas de CDs funcionalmente maduras a CDs inmaduras (37). La subpoblación de Treg CD8+ CD28- también actúa sobre las CDs, disminuyendo la expresión de moléculas co-estimuladoras dependientes de NF- κ B, tales como CD40, CD80, CD86 y CD58 e incrementando la expresión de receptores inhibitorios como "immunoglobulin like transcript" 3 (ILT3) e ILT4, promoviendo que aquellas Th CD4+ que interactúen con estas CDs se conviertan en células anérgicas (16).

ILT3 e ILT4 juegan un papel importante en la maduración de células T CD4+ vírgenes hacia Treg. Ambas moléculas, pueden inducirse tanto en las CDs como en las células epiteliales intestinales (CEI), en presencia de IL-10 más IFN- α o IL-10 más Vitamina D3 (16). El ligando de ILT3 aún se desconoce, pero en el caso de ILT4 se ha demostrado que compite con la molécula CD8 por el sitio de unión al dominio α 3 del MHC-I de todas las isoformas. Las CPAs que expresan ILT3 tienen una capacidad reducida para expresar moléculas co-estimulado-

ras, mientras que las CDs deficientes de ILT3, muestran hiperfosforilación de p38 MAPK e I κ Ba, elevada capacidad aloestimuladora y favorecen significativamente el desarrollo de células T con fenotipo pro-inflamatorio de tipo Th17 y Th1 (38).

Otra molécula que se ha estudiado en los últimos años debido a su asociación con el mantenimiento de la tolerancia periférica es PD-L1, miembro de la familia B7 de las moléculas co-estimuladoras. PD-L1 es expresada a nivel de las células hematopoyéticas, tales como CDs, macrófagos, linfocitos T y B, así como también en las células del parénquima, como endotelio vascular, hígado, piel, musculo, ojo, corazón, páncreas y placenta (22). En ratones se ha descrito que la tolerancia sistémica antígeno específica, es generada por poblaciones residentes del bazo, caracterizadas por expresar además de CD8+ DEC-205+, CD8-dendritic cell inhibitory receptor-2 (DCIR-2)+ y TGF- β . La presencia de PDL-1 es esencial para la inducción de Treg específicas frente antígenos periféricos (39-41).

Existe otro grupo de CPAs, denominadas CPA no convencionales de origen diferente al hematopoyético, ubicadas en diferentes tejidos como el hígado, piel y nódulos linfáticos, que pueden actuar como CPAs para antígenos propios o exógenos, modulando de esta manera la activación de linfocitos T, jugando un papel importante en la regulación y mantenimiento de la tolerancia y constituyendo otro elemento de control sobre el desarrollo de fenómenos autoinmunes (22). Un grupo de CPA no convencionales, no hematopoyéticas involucradas en la inducción de tolerancia, son las células endoteliales de los sinusoides hepáticos (CESH), ellas pueden presentar de manera cruzada antígenos propios y exógenos provenientes de la dieta a los linfocitos T CD8+ (19). Los hepatocitos y las células de los islotes pancreáticos juegan también un papel importante en el mantenimiento

de la tolerancia periférica, mediante el contacto con las células T naive o la co-expresión de moléculas inhibitorias (22).

Los hepatocitos, tienen función de CPA no-convencionales, ellas participan de manera activa en la inducción de tolerancia sistémica hacia los antígenos solubles que ingresan por la vía portal. Esta tolerancia sistémica se lleva a cabo en acción sinérgica con CDs residentes del hígado y las células de Kupffer y median la generación de Treg CD8+. Los hepatocitos bajo condiciones basales expresan MHC-I, CD1, e ICAM-1, pero no moléculas co-estimuladoras (MCH-II, CD80/86 y CD40), las cuales pueden inducirse en condiciones pro-inflamatorias (42). Adicionalmente, se ha descrito que los hepatocitos están involucrados en la eliminación de células T CD8+ activadas, mediante muerte prematura, a través de la expresión de PD-L1 (22, 43, 44). Apparently, la presencia de PD-L1 sobre estas CPAs no convencionales, protege del desarrollo de autoinmunidad hacia los tejidos periféricos (22).

TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO AL TRACTO GASTROINTESTINAL (TLAG) Y SU PAPEL EN LA INDUCCIÓN DE TOLERANCIA

El TLAG se encuentra conformado por sitios inductores (placas de Peyer (PPs), folículos linfoides aislados y nódulos linfáticos mesentéricos (NLM)) y sitios efectores de la respuesta inmune (la lámina propia del intestino delgado y grueso y epitelio intestinal). No existe otro tejido en el cuerpo humano con mayor desafío antigénico que el tejido gastrointestinal, ejemplo de ello es que el intestino humano adulto alberga aproximadamente 10^{14} microorganismos, por lo que debe ser altamente regulado y deben establecerse claramente los límites entre el desarrollo de una respuesta tolerogénica versus una respuesta pro-inflamato-

ria (19). En el intestino la tolerancia es inducida contra los antígenos de la dieta y agentes comensales, las CDs residentes de este tejido están especializadas para capturar antígenos directamente de la luz intestinal, a través de protrusiones dendríticas emitidas desde la cara basal del epitelio intestinal, y una vez procesados y presentados, ellas le imparten instrucciones de alojamiento y localización intestinal a los linfocitos que allí maduran, favoreciendo así el desarrollo de Treg y el cambio de isotipo hacia IgA, que media la exclusión de microorganismos tanto patógenos como comensales (20).

Las CDs a nivel del TLAG se encuentran distribuidas de manera estratégica a lo largo de este tejido: en la lámina propia, PPs, folículos linfoides aislados y nódulos linfáticos mesentéricos (NLM), y se ha reportado que estas CDs son funcionalmente tolerogénicas. Se han descrito varios factores responsables de la función inmunoreguladora de las CDs intestinales, dentro de los que podemos destacar: 1) Señales derivadas de las células del epitelio intestinal (CEI), a través de la liberación constitutiva de la linfopoyetina del estroma tímico (LET) y TGF- β , que actúan de manera sinérgica e inhiben la producción de IL-12 por las CDs y promueven la liberación de TGF- β , bien sea endógeno o procedente de células adyacentes y de ácido retinoico (AR), ambos responsables de promover el desarrollo de las CDs CD103+. Las CDs CD103+ se localizan predominantemente en los NLM y han sido identificadas tanto en el humano como en el ratón. Estas células fallan en secretar IL-12 y generar linfocitos T con fenotipo Th1 *in vitro* (20), esta subpoblación de CDs 103+, expresa además la integrina $\alpha\text{E}\beta 7$ y utilizan al AR captado del microambiente o generado por ellas mismas, para mediar la tolerancia oral (39). 2) Señales derivadas de las células del estroma, su función moduladora es a través de la liberación de

COX2 y prostaglandina E2 (PGE2), que inhiben la liberación de IFNs por las CDsp; 3) Señales derivadas de las células del sistema inmune, a través de la participación de los macrófagos intestinales, que expresan aldehído deshidrogenasa tipo 1 (ALDH1), lo que sugiere que podrían ser otra fuente importante de AR (19, 20) y 4) Señales controladas por la flora intestinal, que participan en este delicado balance Treg /células efectoras (Th17), de esta manera bacterias comensales intestinales como *Faecalibacterium prausnitzii*, inducen la producción de IL-10 (45) y el incremento de la frecuencia y polarización de Treg Tr1-IL-10+ y de células Tr1-like (46).

El AR producido por las CDs, macrófagos y CEI (19), media un incremento en la expresión del receptor para TGF- β y de esta manera incrementa la susceptibilidad de las células al TGF- β , liberado en este microambiente, potenciando las señales a través de su receptor (19). El AR además, bloquea por mecanismos no del todo conocido el desarrollo de linfocitos con fenotipo Th17 (20, 39) y actúa como un co-factor de TGF- β para inducir las Treg (47). Las Treg generadas por esta vía son más estables y eficientes para inducir respuesta supresora, que aquellas generadas solo en presencia de TGF- β (48). La importancia del AR, viene dada por observaciones de que su ausencia condiciona la alteración de la integridad de la barrera epitelial, afecta la recirculación, el alojamiento en el tejido gastrointestinal, la producción de IgA secretada y el desarrollo de Treg Foxp3+ inducida TGF- β + (Th3) (19, 47, 48).

Las Treg residentes de este tejido, expresan un repertorio de TCR particular, dirigido a reconocer antígenos de la dieta y de agentes comensales, los mecanismos involucrados en su generación son similares al resto de las poblaciones de células T, sin embargo un evento que aparentemente es crucial para su generación es la autofagia,

mediada por las células epiteliales tímicas (46, 49). La frecuencia de Treg es mayor en los nódulos linfáticos mesentéricos (8%) y del colon (40%) que en los nódulos linfáticos periféricos (4%). Su importancia en la homeostasis intestinal, ha sido evidenciada por la elevada susceptibilidad a desarrollar enfermedad inflamatoria intestinal en ratones deficientes de Treg, particularmente Tr1, indicando que la IL-10 tiene un papel fundamental en el mantenimiento de la integridad del epitelio intestinal, por limitar la respuesta de estrés en el retículo endoplasmático (50). Estas Treg además controlan la respuesta pro-inflamatoria, a través de la formación de conglomerados alrededor de las CDs y de esta manera compiten con las células "naïve" evitando así su activación y generación de respuesta efectora. Las señales que controlan la expresión de IL-10 no son del todo conocidas, en modelos de ratones, se ha puesto en evidencia que la IL-21, Blimp1 y c-maf, constituyen factores importantes en su regulación. El factor de transcripción c-maf es inducido en presencia de IL-27 e IL-21 y a través de la coestimulación vía ICOS/ICOS-L. La importancia de esta última interacción se evidencia por la ausencia de Treg productoras de IL-10, en animales deficientes de ICOS (46).

CÉLULAS T REGULADORAS Y TOLERANCIA INMUNE

Se ha progresado mucho en el entendimiento de cómo se regula el sistema inmune, y con gran interés en las llamadas células Treg, cuya función es el mantenimiento de la tolerancia a lo propio y la homeostasis del sistema inmune. Estas poblaciones linfoides se especializan en suprimir la respuesta inmune cuando esta represente una amenaza para el organismo, tal es el caso de la autoinmunidad, en enfermedades alérgicas y otras enfermedades inflamatorias (51). Por otro lado una actuación exagera-

da de esta subpoblación celular puede bloquear la respuesta inmune protectora en enfermedades infecciosas y en el cáncer (52). Las llamadas células Treg naturales que constituyen el 10% de las células CD4+ periféricas, expresan el marcador CD25 (cadena alfa del receptor de IL-2) y el factor de transcripción Foxp3 en el timo, mientras que las llamadas Treg periféricas son inducidas a expresar Foxp3 en la periferia (53). La población de Treg inducidas en la periferia incluye a) Treg secretoras de IL-10 (Tr1), b) Treg que secretan TGF- β y c) Treg inducibles que expresan Foxp-3 (46).

La importancia de estas células es ilustrada por su compromiso en el mantenimiento de la tolerancia a lo propio y cuya depleción conduce al desarrollo espontáneo de enfermedades autoinmunes en roedores normales, y también por la descripción de alergia, inmunopatología y enfermedades autoinmunes severas en humanos y roedores con mutaciones en los genes de Foxp3 (54, 55).

Los mecanismos moleculares de la acción supresora de las Treg representan un área de intenso estudio. Los siguientes hallazgos sustentan los últimos avances al respecto: 1) Las células CD4+CD25+Foxp3+ pueden inhibir el desarrollo de enfermedades autoinmunes y de enfermedad inflamatoria intestinal, 2) Las Treg son capaces de suprimir la activación de células T *in vitro*, 3) La inducción de la expresión de Foxp3 en células T normales puede transformarlas en células parecidas a Treg con efectos supresores *in vivo* e *in vitro* sugiriendo que este factor de transcripción es fundamental en el control de moléculas clave mediadoras de supresión (5, 56).

MECANISMOS DE SUPRESIÓN DEPENDIENTES DE TREG

Como mediadores de supresión se han propuesto mecanismos de contacto célu-

la-célula y mecanismos secundarios a la secreción de mediadores solubles. La contribución de los mecanismos dependientes del contacto célula-célula fueron sugeridos por la incapacidad de Treg de inhibir la proliferación de células T respondedoras cuando las dos poblaciones se separaron mediante una membrana semi-permeable *in vitro*. Una vez establecido el contacto, las Tregs pueden destruir las células respondedoras incrementando el AMPc intracelular, lo que conduce a la inhibición de la producción de IL-2 y de la proliferación celular (57); generando adenosina intracelular dependiente de CD39 y CD73 (58). Las Treg pueden disminuir la expresión de B7 en las APC, e incrementar la producción deIDO. IDO cataliza la conversión de triptófano en kinurenina, el cual es tóxico para las células T circundantes a las células dendríticas. Estas vías parecen ser dependientes de la expresión de CTLA-4 (53).

Como factores solubles de supresión se han propuesto principalmente la IL-10 y el TGF- β . Sin embargo, la neutralización de cualquiera de estas citocinas no bloquea el fenómeno de supresión *in vitro*. En contraste, se ha descrito que ambas contribuyen a la supresión de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) inducida en ratones (59). El bloqueo de receptores de IL-10 puede neutralizar el efecto regulador de las Treg en esta condición patológica (60). Por otra parte, TGF- β puede actuar como un mediador de supresión en su forma unida a la membrana (61). Esta citocina puede condicionar a las células T a ser sensibles a la supresión, a mantener la expresión de Foxp3 y a contribuir con la diferenciación de otras células T en Treg. Se ha demostrado más recientemente que las células Treg Foxp3+ producen IL-35 una citocina supresora de la familia de IL-12. Las Tregs deficientes en IL-35 tienen una capacidad supresora reducida tanto *in vivo* como *in vitro* (62).

¿Que mecanismo de supresión es fundamental para la función de las Treg? Aunque el papel de TGF- β es controversial, este no es un mediador directo de supresión (53), y la deficiencia de IL-10 produce EII pero no enfermedad autoinmune, sugiriendo que el mecanismo dependiente de IL-10 es importante para la homeostasis en el sistema inmune de las mucosas, pero no es indispensable para la autotolerancia sistémica. Las deficiencias de IDO, IL-35, LAG-3, granzima y perforina, no son causas de autoinmunidad. Dos candidatos se han propuesto como mecanismos centrales de supresión para mantener la autotolerancia: Uno dependiente de CTLA-4 y el otro de IL-2.

El papel de CTLA-4 en la función de las Treg ha sido siempre controversial. Los siguientes hallazgos apoyan un papel esencial para CTLA-4 en la función supresora de las Treg: 1) El bloqueo de CTLA-4 mediante un anticuerpo monoclonal induce enfermedad autoinmune órgano específica, 2) Foxp3 en conjunto con otros factores de transcripción incrementa la expresión de CTLA-4 al unirse a la región promotora de su gen (63-65), y 3) finalmente, ratones con deficiencia de CTLA-4 Treg específica, padecen linfocitopenia y desarrollan hiperproducción de IgE. Sin embargo no debe descartarse la función de CTLA-4 al expresarse en células T efectoras activadas para modular su activación.

Además de CTLA-4, moléculas relacionadas con IL-2 (incluyendo a CD25) pueden contribuir a la función supresora de Treg debido a que la deficiencia de cada una de las moléculas relacionadas con IL-2 produce enfermedad autoinmune fatal; IL-2 es requerida para la sobrevivencia de las Treg naturales y Foxp3 se une a los promotores de los genes de IL-2 y CD25. Estos hallazgos sugieren que IL-2 puede requerirse para el mantenimiento y activación de las Treg

naturales y para la supresión dependiente de Treg (66).

El modelo de supresión dependiente del contacto célula-célula lleva implícito la formación de agregados de Treg alrededor de las células dendríticas, a manera de bloquear el acceso de las células T efectoras a las células dendríticas (67). Este proceso de agregación es dependiente del antígeno, dependiente de LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1), pero independiente de CTLA-4. Mediante la formación de agregados, las Tregs inhiben el incremento de CD80 y CD86 en células dendríticas inmaduras y promueven la disminución de la expresión de estas mismas moléculas en células dendríticas maduras. Esta modificación en la expresión de CD80 y CD86 es dependiente de CTLA-4 (67).

El mecanismo de supresión dependiente de CTLA-4 no es del todo conocido. La ocupación de las moléculas CD80 y CD86 puede resultar en disminución de la expresión de las mismas y en producción de IDO en células dendríticas, conduciendo a la producción de kynurenina. Adicionalmente, las Tregs que expresan niveles elevados de CD25 en su membrana, pueden atraer la IL-2 presente en el medio disminuyendo su disponibilidad para otras células efectoras desencadenando apoptosis de las mismas (68).

PAPEL DE LAS CÉLULAS TREG EN EL CONTROL DE LA INTERACCIÓN PATÓGENO-HOSPEDADOR

Los seres humanos han co-evolucionado con los microorganismos en interacciones que en su mayoría son positivas o neutras (ej: flora bacteriana en mucosas). Sin embargo esta interacción entre microorganismos y hospedador puede ser negativa para el segundo, ocasionando patología. Muchas de las estrategias que se han desarrollado para las relaciones de simbiosis en-

tre microorganismos y hospedador pueden ser manipuladas por patógenos para garantizar su propia supervivencia. La generación de poblaciones de Treg es una estrategia ampliamente utilizada por los microorganismos para permanecer en el hospedador por largos periodos de tiempo (69). Por otro lado, esta misma estrategia es utilizada por el hospedador para generar el menor daño posible en el transcurso de la enfermedad.

Aunque las células Treg representan un mecanismo importante para preservar la homeostasis, una consecuencia de este control es el incremento en la sobrevivencia de los patógenos y en algunos casos de la persistencia crónica de agentes infecciosos. Las Treg pueden acumularse en el sitio de infección, regulando la función de las células efectoras locales, previniendo la eliminación eficiente del parásito (70). Las Treg pueden favorecer la persistencia de patógenos (71), tales como *Mycobacterium tuberculosis* (72, 73) y el virus de la hepatitis B (VHB) (74-76).

En algunos casos las Tregs pueden controlar el balance fino establecido entre el patógeno y su hospedador mediando un equilibrio que puede resultar mutuamente beneficioso. En otros casos el control regulatorio es excesivo, permitiendo la replicación del patógeno en forma incontrolada, comprometiendo la sobrevivencia del hospedador. Después de la infección experimental con una cepa hipervirulenta de *Mycobacterium tuberculosis*, se evidenció reducción de la respuesta Th1 en correlación con aparición de células Foxp3 productoras de IL-10 (77). En el caso de la filarisis se ha observado una supresión sistémica profunda del sistema inmune del hospedador (78).

En asociación con este balance entre respuesta inmune protectora versus un mecanismo patogénico inducido por el agente infeccioso, se encuentra el balance entre

activación de la respuesta inmune efectora y el desarrollo de autoinmunidad. La respuesta inmune en el contexto de infección puede tener varios efectos en el desarrollo potencial de autoinmunidad, partiendo del daño a los tejidos propios en el contexto de la infección, incrementando la posibilidad de desarrollar respuesta inmune específica contra tejidos propios.

MODULACIÓN VIRAL DE LA SEÑALIZACIÓN VÍA TCR

La capacidad de controlar señales generadas a través del TCR durante la presentación antigénica representa un mecanismo fundamental de inducción de tolerancia tanto central como periférica. Muchos virus tienen la capacidad de modular la función del TCR tanto positiva como negativamente para asegurar su replicación (79). Sin embargo los mecanismos específicos utilizados por cada virus en particular son muy variados y mencionaremos algunos de ellos en esta revisión.

Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

Este virus ha sido el más estudiado por sus efectos sobre el TCR. El VIH tiene varias proteínas que pueden modificar la función del TCR y entre ellas se encuentra Nef, una proteína miristoilada que contribuye sustancialmente a la patogenicidad, replicación e infectividad del VIH (80). Nef ha mostrado efectos tanto inhibitorios como estimuladores sobre la señalización vía TCR. Esta proteína ejerce sus efectos sobre la activación del linfocito T mediante asociación directa con proteínas que participan en la cascada de señalización del TCR. Se ha reportado que Nef puede asociarse a kinasas de la familia Src (81), PI3 quinasa (82), la cadena ζ del TCR (83) entre otras. Sin embargo, los resultados de los estudios realizados para comprender los efectos de

estas interacciones son controversiales, por cuanto en algunos casos la interacción descrita tiene un efecto activador de la señalización vía TCR, mientras que en otros se ha reportado que la participación de Nef es de naturaleza inhibitoria. Las diferencias reportadas probablemente estén relacionadas con la localización de Nef posterior a su expresión, por cuanto Nef citoplasmática media efectos inhibitorios a través del TCR, mientras que cuando se localiza en la membrana estimula el TCR. Estos efectos mixtos de la proteína sugieren que su función es predominantemente la de una molécula adaptadora (84). Se ha reportado que Nef enlentece la internalización y el reciclaje de los complejos de TCR inhibiendo de esta manera su acumulación en la sinapsis inmunológica (85). De manera similar, Nef produce la acumulación de Lck en los endosomas inhibiendo su reclutamiento a la sinapsis inmune.

Virus de la hepatitis C (VHC)

Se ha observado que el virus de la hepatitis C causa disminución de la expresión de la cadena ζ del TCR *in vivo* (86). Se ha reportado que proteínas del VHC tienen efectos tanto positivos como negativos sobre el TCR *in vitro*. La proteína de envoltura del virus E2 se une al receptor CD81 aportando una señal de coestimulación para el TCR, proceso que al parecer es dependiente de Lck y conduce a fosforilación prolongada de TCR- ζ , ZAP-70 y LAT (87, 88). Además se ha reportado que la proteína del core viral puede modular la actividad de factores de transcripción inmediatos a la señal del TCR incrementando la concentración y oscilación del Ca^{++} citoplasmático (89). Adicionalmente otros autores han reportado un número de funciones inhibitorias para la proteína del core del VHC incluyendo alteración de la activación de proteínas como Lck, ZAP-70, Akt y ERK, incremento de la expresión de PD-1 y arresto en

el ciclo celular, efectos mediados a través de su interacción con el receptor del complemento gC1qR (90, 91).

Virus Epstein Barr (VEB)

El virus responsable principal de la mononucleosis infecciosa puede además producir enfermedad linfoproliferativa en sujetos inmunocomprometidos, carcinoma nasofaríngeo y enfermedad de Hodgking. El VEB infecta predominantemente a los linfocitos B en los que establece latencia y altera señales a través del BCR. Sin embargo, el virus puede infectar también los linfocitos T induciendo la expresión de citoquinas proinflamatorias. La señalización vía TCR es interrumpida en las células T infectadas mediante una proteína denominada LMP2A. Esta proteína puede unirse a proteínas de señalización tales como Lck, Fyn y ZAP70, favoreciendo su ubiquitinación y conduciendo a inhibición del TCR (92).

CÉLULAS Treg INDUCIDAS POR MICROORGANISMOS

Los microorganismos que tienen como objetivo persistir en el hospedador, obedecen al mismo principio: el sistema inmune constituye su nicho ecológico y han co-evolucionado con su hospedador aprendiendo como manipular las APC para dirigir el tipo de respuesta inmune que garantice su sobrevivencia. En este sentido, los microorganismos inducen células Treg para perpetuarse en el hospedador indefinidamente.

Se ha demostrado que muchos patógenos inducen células Tr1 o productoras de IL-10 en el contexto de infecciones crónicas. La IL-10 puede inhibir la respuesta inmune (tanto Th1 como Th2) frente a muchos patógenos en varios modelos experimentales (93, 94) y en enfermedades humanas tales como. Tuberculosis, malaria, VHC, filariasis, leishmaniasis y schistosomiasis (95-98). Se han identificado productos mi-

crobianos capaces de manipular las células dendríticas (CDs) para inducir poblaciones de células Treg. Por ejemplo, la hemaglutinina filamentosa de *Bordetella pertusis* induce la producción de IL-10 en CDs y estas CDs favorecen la diferenciación de células T vírgenes en células Tr1 (99).

Aunque la mayor parte de las evidencias indican que las células Treg Foxp3+ se desarrollan y maduran en el timo, éstas pueden desarrollarse también fuera del timo bajo ciertas condiciones. Las células Treg vírgenes pueden expresar Foxp3+ después de la estimulación vía TCR en presencia de TGF- β , tanto en ratones como en humanos (100, 101). Así mismo, se ha demostrado que la administración *in vivo* de dosis subinmunogénicas de antígeno, así como la expresión endógena de antígenos extraños en un ambiente linfopénico, puede conducir también al desarrollo de células Treg Foxp3+ (102, 103).

INDUCCIÓN DE Treg DURANTE PROCESOS INFECCIOSOS

Las células Treg no son inducidas en forma significativa durante procesos infecciosos agudos, por cuanto la presencia de subpoblaciones Th1 y Th2 prevalecientes al inicio del proceso pudieran interferir el desarrollo de Treg Foxp3+ (104). Sin embargo, la infección crónica puede requerir un nivel adicional de regulación que puede ser garantizado por la presencia de células Treg Foxp3+. Esta hipótesis se sustenta en el hecho de que durante la infección los efectos de la respuesta inflamatoria están a menudo asociados con procesos anti-inflamatorios, incluyendo la producción de TGF- β . Además algunos patógenos tienen como blanco sitios en donde TGF- β se encuentra en concentraciones elevadas, tal es el caso de la mucosa intestinal. TGF- β puede ser producido también por células infectadas o células que de alguna forma han estado en

contacto con el microorganismo como se ha mostrado en modelos de infección por *Trypanosoma cruzi*, durante la malaria (105, 106). Células con fenotipo de Treg pueden ser inducidas en sangre periférica durante el curso de procesos infecciosos, como ocurre por ejemplo en pacientes infectados con el virus de la Hepatitis B (VHB) (74, 75, 107).

Varias evidencias experimentales soportan que en el contexto de infecciones crónicas puede ocurrir conversión de células Treg. Por ejemplo, se ha observado que los monocitos procedentes de individuos sanos expuestos a *Mycobacterium tuberculosis* pueden inducir células Treg Fox-p3+ mediado por PGE-2 a partir de células T CD25- (108). De igual manera se ha reportado que células T infectadas *in vitro* con VIH incrementan la expresión de Foxp3 en una manera dependiente de TGF- β (109).

ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA DE LAS CÉLULAS Treg

Las células Treg pueden reconocer antígenos propios que son liberados como producto del daño tisular, y durante las infecciones crónicas pueden reconocer por ejemplo antígenos microbianos (70, 97, 110, 111). En un modelo murino de leishmaniasis se ha observado que las células Treg pueden acumularse en el sitio de infección y que son capaces de reconocer antígenos derivados del parásito (112). Adicionalmente se ha evidenciado que las células Treg proliferan vigorosamente cuando son re-expuestas al antígeno inductor, se limitan al sitio de infección y son dependientes del antígeno para su mantenimiento. Esta compartalización pudiera explicar el fenómeno de inmunidad concomitante en el cual el hospedador es inmune a la re-infección en un sitio secundario mientras que se mantienen una infección crónica local (113).

¿CÓMO LOS MICROORGANISMOS PUEDEN MANIPULAR LAS CÉLULAS Treg?

Por cuanto las células Treg ofrecen una oportunidad para que los microorganismos generen condiciones favorables para su persistencia, estos pueden manipular la inducción de células Treg para su sobrevivencia. Una vía adicional a la estimulación vía TCR propuesta para ejercer control directo o indirecto de las células Treg, es mediada a través de receptores Toll (TLR). En este sentido se ha demostrado que las células Treg humanas expresan niveles importantes de TLR5 comparables a los expresados por CPA y la co-estimulación con flagelina vía TLR5, incrementa la capacidad supresora de Treg e induce la expresión de Foxp3 (114). En contraste con esta observación, la señalización a través de TLR2 reduce el efecto supresor y disminuye la expresión de Foxp3 (115). La maduración de células dendríticas dependiente de patógenos, vía TLR u otros receptores para reconocimiento de patrones moleculares, la inducción de la producción de citocinas y la liberación de mediadores inflamatorios y antígenos procedentes del tejido dañado como consecuencia de la infección, pueden favorecer la activación de Treg contribuyendo por lo tanto con la sobrevivencia del patógeno.

Un mecanismo importante a través del cual los microorganismos pueden manipular la función de las Treg, es mediante la creación de un microambiente que favorezca su retención o re-localización. En este sentido se ha demostrado que *Leishmania major* tiene la capacidad de incrementar la expresión de la integrina CD103 mediado por TGF- β . En este mismo modelo de infección se demostró que las células Treg deben expresar CCR5 para su migración al sitio de inflamación, y la infección de APC por el parásito favoreció la expresión de ligandos para CCR5, sugiriendo que el parásito es

capaz de manipular el microambiente para favorecer la atracción y retención de células Treg en el sitio de infección (116).

PAPEL DE LAS CÉLULAS T REGULADORAS EN INFECCIONES VIRALES

El papel patogénico de las Treg durante las infecciones virales crónicas ha sido considerado, especialmente en aquellas donde ha fracasado el desarrollo de vacunas o donde las vacunas existentes no son 100% efectivas, ejemplo de ello es la infección por el VIH, VHC y VHB (117). Durante las infecciones virales agudas autolimitadas, ocurre una respuesta de linfocitos T CD8 vigorosa, que conduce a la eliminación viral, sin embargo muchos virus producen infecciones persistentes a pesar de la respuesta constante y vigorosa de esta subpoblación celular (118), lo que probablemente involucraría a las Treg como principales responsables de la persistencia viral. Aunque el papel de estas células pudiera ser beneficioso debido a que limitaría el daño tisular, ellas también pudieran inhibir la función de las células efectoras específicas y favorecer la persistencia de patógenos, de hecho ha sido considerado como uno de los mecanismos de escape de la respuesta inmune utilizado por diversos patógenos que generan infecciones crónicas persistentes (117).

Existen varios modelos múridos de infección crónica, donde las Treg juegan un papel importante para su persistencia, ejemplo de ello es el virus Friend (FV), donde las Treg CD4+CD25+ suprimen las funciones efectoras y la producción de IFN- γ por las T CD8+ específicas (119), de igual manera ocurre en el modelo múrido de infección por el virus del herpes simplex (HSV), donde se evidencia supresión de la respuesta CTL específica por linfocitos T CD4+CD25+ y la depleción de estas células restaura la respuesta CD8+ específica y

la generación de células T CD8+ de memoria (120). En el caso de infecciones crónicas en humanos, el papel de las Treg (tanto T CD4+ como CD8+) se ha puesto en evidencia en diversos modelos, tal es el caso de la infección por virus hepatotropos (VHC y VHB), VIH y HTLV (117, 121).

Dentro de los factores responsables de la supresión y de la respuesta antiviral inapropiada, se encuentra la modulación de la expresión de PD-1 en las células virus específica y la presencia de citocinas inhibitorias como IL-10, provenientes probablemente de CDs y de las Treg (117). Evidencias recientes indican que el bloqueo de la interacción de PD-1 con su ligando (PDL-1), restaura la respuesta T virus específica (122, 123), mientras que el bloqueo de IL-10 resulta en la resolución de la infección crónica en modelos animales como el de la coriomeningitis linfocítica múrida experimental (124).

Infección por el VIH

La disfunción de las células T es la característica principal de la infección por el VIH, explicado en parte por la presencia de las células Treg; las cuales inhiben la función tanto de linfocitos T CD4+ como T CD8+ antígeno específicas, esta inhibición es evidenciada por una reducción de la capacidad de producción de IFN- γ , de la proliferación celular y de la actividad citolítica. La función supresora de las Treg durante la infección por el VIH es dependiente del contacto y no de la presencia de IL-10 y TGF- β , y se ha descrito que puede ser inducida por antígenos del VIH, que conducen a la proliferación y desarrollo de Treg antígeno específicas (111). No existen dudas de su presencia durante la infección por el VIH, sin embargo existen resultados contradictorios en relación con su significado durante la infección y evolución de la enfermedad. Algunos autores indican que su presencia pudiera más bien tener un efecto be-

neficioso ya que pudiera controlar el estado de activación crónica (110), mientras que otros muestran que un reclutamiento importante de estas en los nódulos linfáticos, y su presencia en este microambiente, suprime la actividad citolítica virus específicas, contribuyendo así a la ineficiencia de la respuesta inmune sobre este virus (125); un hallazgo que apoya este punto de vista es que en pacientes progresores hacia la fase de SIDA, se ha encontrado niveles elevados de TGF- β 1 en los tejidos linfoides, en comparación con los no progresores, lo que pudiera contribuir con la expansión y maduración de Treg en estos tejidos (125).

Otro hallazgo que soporta estos resultados, es que los nódulos linfáticos de pacientes sin tratamiento, tienen un elevado porcentaje de CDs inmaduras, implicándolas en el desarrollo de Treg durante la infección por VIH (126). Dentro de los factores que pudieran estar involucrados sobre este fenotipo inmaduro de las CDs y en la generación de las Treg, son los antígenos del virus, como por ejemplo Vpr que actúa sobre las CDs, induciéndolas a permanecer en estado de inmadurez, asociado a una disminución de la expresión de moléculas co-estimuladoras sobre las CDs, así como también a una reducción de la producción de IL-12 e incremento en la producción de IL-10 (127) y de IDO (128). Por otro lado la exposición de CDs a gp120 o partículas virales inactivadas, promueve una función inapropiada de las CDs, favoreciendo el desarrollo de Tr1 que a su vez inhiben la respuesta efectora anti-VIH (129, 130).

Antígenos del VIH también promueven la maduración de linfocitos Treg CD8+ productoras de TGF- β , y son capaces de suprimir la respuesta T efectora de manera antígeno no específica (131). Así, la frecuencia de Treg CD8+/IL-10+/PD-1+ virus específica, incrementa en pacientes VIH positivos conforme progresa la enfermedad y se asocia con incapacidad citolítica de las CD8+

efectoras, la importancia en la patogénesis de la infección es que su depleción promueve la recuperación de la respuesta efectora (123, 132).

Reportes recientes han sugerido que el VIH puede aportar una señal de supervivencia y proliferación para las células Treg (133). En un modelo *in vitro* se observó que la exposición de las Treg al VIH inactivado indujo incremento en Treg en una manera dependiente de gp120, mostrando ventajas de supervivencia sobre las células T efectoras. Esta ventaja podría proteger las células Treg de la destrucción en los tejidos linfoides en donde la replicación viral ocurre a tasas elevadas. Por otro lado el VIH no infecta células Treg, lo cual pudiera representar un mecanismo de protección para la replicación viral, mecanismo que se ha sugerido como dependiente de la expresión de Foxp3, interfiriendo con el promotor para la replicación del virus dentro de las células Treg. Esto pudiera prevenir selectivamente la muerte celular de las Treg y contribuir potencialmente con la inmunosupresión generalizada observada en los pacientes infectados con VIH (134).

Virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV)

Es considerado como uno de los virus humanos capaces de inducir disfunción de Treg. Las células T CD25+, son los principales reservorios para la replicación de este virus (135). En este ejemplo de infección viral, tanto el porcentaje de células Foxp3+, como los niveles de Foxp3 intracelulares es reducido, aparentemente mediados por la proteína tax del HTLV-1 (136).

Ebstein barr (EBV)

Las células Tr1 juegan un papel importante en la persistencia del virus EBV, se han identificados células T Foxp3+ EBV específicas, lo que pudiera tener implicaciones importantes en el desarrollo de vacunas (137).

En individuos inmunocomprometidos sometidos a trasplante, se evidencia expansión de Treg CD8+ cuando se exponen a CDs infectadas por EBV, productoras de IFN- γ e IL-10, y suprimen la respuesta T CD4+ efectora de manera dependiente del contacto célula-célula, este efecto no se evidencia en controles sanos no inmunosuprimidos (138).

Hepatitis virales como modelos de tolerancia inducida por virus

VHC: El 3% de la población mundial es portadora de la infección por el VHC, la persistencia crónica de este virus, condiciona al desarrollo de cirrosis, cáncer y falla hepática. La infección crónica se asocia a una baja frecuencia de células T productoras de IFN- γ y de IL-2 y linfocitos T CD8+ efectores con una marcada expresión de CTLA-4 y PD-1, como reflejo del agotamiento de la respuesta frente a la replicación viral persistente (139), marcado por un relación positiva entre la expresión de PD-1 sobre las células efectoras e incremento en los niveles de carga viral en los pacientes infectados crónicos (140). Esto además asociado con una frecuencia elevada de CD4+ CD25+ circulantes, así como también un reclutamiento exacerbado de CD4+CD25+ o CD4+Foxp3+, en el hígado de estos pacientes (117, 141-143). La fracción aislada de CD4+CD25+ de los pacientes infectados por el VHC, suprime la proliferación y la producción de IFN- γ por las células T CD8+ y CD4+, cuando son expuestas a proteínas del VHC (141, 144). Adicionalmente, otra población de Treg CD8+ están implicadas en inhibir la respuesta efectora tanto de CD4+ como CD8+, a través de la secreción de TGF- β (145), o de manera dependiente del contacto célula-célula (146), lo que indica su papel fundamental en la persistencia del VHC (117). Otra subpoblación de Treg detectada tanto a nivel periférico como en el tejido hepático, se caracteriza por expresar PD-1 (121) e IL-10+, y capa-

ces de inhibir las respuesta T CD4+ efectora específica (147).

Estudios recientes han demostrado que las Treg pueden expandirse de manera antígeno específica (148), uno de los antígenos implicados con el desarrollo de las Treg es el core de VHC, el cual induce el desarrollo de Tr1 (97), que juegan un papel crucial en la persistencia del VHC (97, 121). Se ha reportado además que las Treg antígeno específicas tienen poca capacidad proliferativa (149) y que pudieran además generarse a partir de células CD4+ CD25- y de células Foxp3+ pre-existentes (150), esto ha permitido proponer el diseño y desarrollo de vacunas a fin de controlar la infección por el VHC, dirigidas a revertir la respuesta supresora frente a estos epitopes virales. Paralelamente a estos resultados, se ha evidenciado que la deficiencia de las Treg tanto en número como función, durante la infección por el VHC, se asocia con manifestaciones extrahepáticas autoinmunes, como por ejemplo la crioglobulinemia y el desorden autoinmune proliferativo de células B (151).

Estos hallazgos en conjunto aún no dejan claro el papel de las Treg durante la respuesta específica contra el VHC, es decir, se desconoce si estas células están contribuyendo con la persistencia viral, o por el contrario son reclutadas a fin de controlar el daño inflamatorio causado por la exposición viral crónica (121). Esto último ha sido sugerido por resultados recientes que indican que la presencia de Treg en el hígado está relacionada con el control del cuadro inflamatorio, ya que el bloqueo de PD-1 expresado en alta densidad sobre las Treg y relacionado estrechamente con el grado de daño a nivel tisular (152), se asocia con incremento en su capacidad proliferativa y de bloquear a las células efectoras intrahepáticas, y esto pudiera permitir la recuperación funcional y el control de la respuesta inflamatoria intrahepática (153).

Se desconoce qué eventos regulan la generación de estas subpoblaciones durante la infección crónica por el VHC. Tal y como se discutió previamente acerca de los eventos que controlan la generación de estas células, un estudio reciente revela que además existe una disfunción en las CDs de los pacientes infectados, marcada por una elevada expresión de PD-L1 y una baja capacidad estimuladora, elevada producción de IL-10 inversamente relacionada con su capacidad de producir IL-12 (154), cuya capacidad inmunoestimuladora puede restituirse en presencia de IL-2 y de anticuerpos neutralizantes anti-IL-10 o mediante la depleción de Treg CD4+CD25+ (155). Estos hallazgos pudieran indicar que las Treg están controlando el estado de maduración de las CDs, o por el contrario una incapacidad de las CDs para madurar eficientemente en presencia de antígenos del VHC, pudiera condicionar a la maduración de poblaciones linfoides hacia un fenotipo de tipo regulador, y que a su vez las Treg generadas como consecuencia de ello son las responsables de mantener este fenotipo de CDs reg. Las CDs aparentemente no son las únicas células inhibidas por las Treg, sino también las clonas Th17 inducidas en presencia de la proteína no-estructural 4 (NS4) (156). Algunas proteínas pertenecientes al virus tienen propiedad inmunoreguladora, así la proteína del core del VHC ha sido implicada en la supresión de la respuesta inmune, debido a su capacidad de reducir la expresión de MHC-I y II, así como también moléculas co-estimuladoras (CD80, CD86) y citokinas pro-inflamatoria como IL-6 e IL-12, tanto en CDs como en hepatocitos, afectando el desarrollo de respuesta efectora citotóxica (157).

VHB: aproximadamente 350 millones de personas a nivel mundial son portadores del VHB. El VHB conduce a una infección persistente entre el 10-5% de los adultos y 95% de los neonatos (117), esta vasta dife-

rencia sugiere que el estatus de la respuesta inmune al momento de la infección es crítico para determinar su evolución (158). Se han realizado esfuerzos importantes para comprender los factores que están involucrados en el desarrollo de la cronicidad, sin embargo aún existen muchas preguntas por responder. El balance entre la replicación viral y la respuesta inmune del hospedador son clave en la patogénesis de la enfermedad hepática (158). Los individuos que evolucionan hacia la cronicidad, pueden progresar a cuatro diferentes estadios: tolerancia inmune, eliminación inmune (cuando el antígeno e (HBeAg) es positivo), portador inactivo y reactivación (negativización del HBeAg) (158). Las manifestaciones clínicas de los individuos que evolucionan hacia la cronicidad van desde un estado de portador asintomático con función hepática normal hasta enfermedad hepática severa y crónica que incluye cirrosis y carcinoma hepatocelular (158).

Este estado de tolerancia al VHB no es absoluto sino que parece estar regulado principalmente por la replicación viral (159). Se han realizado avances importantes en el entendimiento de la participación de las Treg en la inmunidad contra patógenos, sin embargo existen muchas controversias en cuanto a su papel en el curso de la infección crónica por HBV. Aún no se tiene claro si su presencia tiene una función benéfica o contribuye con la persistencia del virus y es el desbalance entre células efectoras y supresoras, el responsable de la incapacidad de estos individuos para la eliminación del virus (160). Se ha demostrado que el HBeAg puede promover la cronicidad, por funcionar como una proteína inmunoreguladora (161), probado en ratones transgénicos que posterior a la transferencia transplacentaria de HBeAg materno, desarrollan respuesta tolerogénica e inactivación de respuesta T ayudadora HBeAg/HBeAg específica a través de eliminación

clonal central, anergia e ignorancia clonal, resultante en una respuesta citotóxica ineficiente. De esta manera, la tolerancia resultante de la transmisión vertical esta mediada por HBeAg y la secreción de citocinas antiinflamatorias, tales como IL-10 (162). Reportes recientes indican que la frecuencia de las Treg es mas elevada en la circulación y tejido hepático, en los pacientes infectados crónicos, que en individuos que resolvieron la infección espontáneamente y controles seronegativos; estas Treg circulantes son además predominantemente productoras de TGF- β (107). Este incremento de las Treg esta asociado con persistencia del antígeno e (HBeAg) y aparentemente afecta la adecuada eliminación del virus, pero aparentemente no se correlaciona con la carga viral (143, 163).

De acuerdo con los datos expuestos previamente, se pudiera argumentar que las Treg contribuyen con el estado de colapso de la respuesta inmune característico de la infección crónica por el VHB (76, 107, 163-166). Esta aseveración está basada en: 1) La frecuencia de células T con fenotipo CD4+ CD25+, CTLA-4+, Foxp3+ circulantes, es mayor en los pacientes crónicos y se correlaciona con las concentraciones de ADN del VHB (76, 107, 166); 2) La respuesta de células T específica contra HBeAg incrementa cuando las células T CD4+ CD25+ son depletadas (163-165, 167); 3) Las células T CD4+ CD25+ T controlan la expansión de células T CD8 positivas específicas contra elementos del virus (164), 4) Las células Treg secretan IL-10 en respuesta al HBeAg (74), 5) El co-cultivo con anticuerpos bloqueantes de IL-10 restaura la respuesta Th1 contra el HBeAg (165), 6) Las Treg pueden ser inducidas *in vitro* en pacientes portadores crónicos del virus en presencia del HBeAg (74), 7) el fenotipo supresor no es revertido por el uso de señales co-estimuladoras (anti-CD28) (168) y 8) en modelos animales el tratamiento con

IL-12, logra reducir los niveles de Treg reclutadas al hígado, pero una vez suspendido el uso de esta interleucina, las Treg vuelven a poblar el tejido hepático solo en los animales con la infección crónica (169). Existe además un grupo de individuos que no responden a la vacuna del virus de la hepatitis B, y además de que estos individuos no incrementan la expresión de moléculas co-ayudadoras de la estimulación como CD40L (170, 171), muestran un incremento en la expresión de PD-1+ en las Treg circulantes (172). Se ha evidenciado además que las células T CD8 antígeno específicas expresan altos niveles de la molécula PD-1 en su superficie y esto se correlaciona inversamente con la resolución de la enfermedad (173, 174), y finalmente durante la terapia antiviral se ha observado reducción de la expresión de PD-1 sobre los linfocitos T en pacientes que responden adecuadamente al tratamiento y esto se asocia con restauración de la respuesta inmune específica (175).

Al igual que en otras infecciones virales, se ha descrito disfunción de las CDs también durante la infección crónica por VHB y frente a elementos del virus, tales como partículas virales o el antígeno de superficie circulante, pueden suprimir la capacidad de las CDs mieloides para producir IL-12 y expresar de moléculas co-estimuladoras como CD80/86 y CD40 (176). No solo las CDsm han sido reportadas como alteradas durante el curso de la infección, las CDsp aisladas de pacientes infectados crónicos son a su vez productoras predominantemente de IL-10 y TGF- β y son potentes inductoras de células Treg (177), sin embargo hasta ahora se desconoce si son inductoras o blanco de Treg.

Todos estos hallazgos abren múltiples interrogantes en cuanto al papel y características de las Treg durante la infección crónica, desconociéndose si son específicas contra componentes del virus, y la participación de antígenos del core del HBV en

conducir su desarrollo y promover el microambiente de supresión. El entendimiento de todos estos aspectos podría abrir la posibilidad para el desarrollo de estrategias terapéuticas (a través de la manipulación del desarrollo de las Treg mediante cambios en la estructura de antígenos del VHB) que contribuyan con la eliminación viral en los individuos infectados crónicos.

MANIPULACIÓN DE LA TOLERANCIA INMUNE COMO ESTRATEGIA TERAPÉUTICA. LAS CÉLULAS Treg COMO BLANCO PARA CONTROLAR LAS INFECCIONES

La manipulación de las células Treg ofrece potencial terapéutico por cuanto su función puede resultar excesiva previniendo el establecimiento de una respuesta inmune protectora, mientras que en otras circunstancias este control no es suficiente para prevenir la Inmunopatología.

Cuando las células Treg son activadas en el contexto de una infección, muchas células son afectadas incluyendo a las CDs. Las células Treg pueden formar agregados con CDs rápidamente, previniendo por un lado la formación de sinapsis inmune y por otro promoviendo al cambio de fenotipo en las CDs (178). Además, las células Treg disminuyen la expresión de moléculas co-estimuladoras, la producción de citocinas y la función presentadora de antígenos en las CDs (179). La producción de IL-10 y TGF- β por las Treg son elementos adicionales capaces de influir en el fenotipo tolerogénico de las CDs. Todos estos cambios pueden repercutir en la respuesta inmune efectora contra el patógeno.

La manipulación de moléculas involucradas en la actividad de las Treg *in vivo* tales como: CTLA-4, TGF- β o IL-10 por separado o combinadas han probado ser efectivas en el control de muchas infecciones crónicas (52). Las estrategias para manipular

la función y el número de células Treg, tienen gran potencial terapéutico. En muchas infecciones en ratones y en humanos la depleción de las células Treg ha resultado en potenciación de la respuesta inmune (113, 180). La identificación de moléculas que favorecen la migración tejido específica de las células Treg, tales como CCR4 o factores que favorecen su generación o sobrevivencia, pudieran representar elementos clave que permitirán a los investigadores diseñar estrategias para manipular sus funciones.

En términos de las dificultades que hasta ahora ha representado el diseño de vacunas para el control de enfermedades infecciosas mortales tales como la malaria o la infección por VIH, debemos tener presente que la generación de una respuesta inmune protectora eficiente dependerá de condiciones que prevengan una respuesta regulatoria supresora concomitante. Las células Treg pueden controlar la intensidad de la respuesta de memoria ante agentes infecciosos. En estudios realizados utilizando una vacuna contra *Lysteria monocytogenes*, se ha demostrado que las células Treg limitaron la magnitud de la respuesta CD8+ específica, después del desafío secundario con la bacteria o la vacuna (181). De manera similar, el control del número de Treg previo a la vacunación con HBV, tuvo un efecto adyuvante sobre la calidad e intensidad de la respuesta inmune efectora (182). En un modelo animal de vacunación contra malaria, la depleción de células Treg durante la vacunación resultó en una respuesta inmune más duradera con mejor control de la diseminación del parásito, después del desafío (183).

Cuando se utilizan condiciones subóptimas de estimulación antigénica, las células T antígeno-específicas convencionales pueden cambiar su fenotipo a Treg en la periferia, de tal manera que si la vacunación es realizada en condiciones subóptimas se pueden generar poblaciones de células Treg pro-

ductoras por ejemplo de IL-10, que interfieren con la eficiencia de la vacunación y la generación de respuesta de memoria (184).

Una estrategia que ha sido propuesta para inducir una respuesta inmune efectora contra agentes infecciosos es el bloqueo de la conversión de células T en células Treg. Como se ha mencionado anteriormente, el estado de activación de las células dendríticas puede modular la capacidad de inducción de células Treg. Así mismo se ha demostrado que la generación de células Th17, Th1 y Th2 tiene efectos antagonistas en la conversión de células Treg en la periferia (104). También se ha observado que la generación de células Foxp3+, es bloqueada en presencia de coestimulación intensa (103).

Es importante destacar que la regulación es a menudo la consecuencia de estrategias complementarias múltiples, y durante procesos patológicos crónicos, muchas células pueden adquirir el fenotipo regulador. Usar las células Treg como blanco puede ser importante para reforzar la respuesta inmune y controlar la infección, pero esta estrategia debe usarse en conjunto con otras tales como el bloqueo de la producción de IL-10, la cual es producida a menudo por otras células.

Finalmente, gran parte del daño tisular que ocurre durante los procesos infecciosos depende de la respuesta inmune montada por el hospedador, de tal manera que los mecanismos homeostáticos capaces de controlar el daño tisular concomitante son de especial interés y dentro de ellos se encuentran las células Treg. El balance entre permitir la respuesta inmune necesaria para eliminar el patógeno y minimizar la Inmunopatología es delicado y puede ser específico para cada patógeno. Cualquier terapia diseñada para mitigar la función de las Treg durante un cuadro infeccioso debe ser transitoria y compatible con el establecimiento de inmunidad específica para el parásito. Algunas de las estrategias imple-

mentadas involucran la expansión de las células Treg, como por ejemplo la IL-2 (185), y la inducción de esta población celular con anti-CD3 en el contexto de infección viral crónica (186).

CONCLUSIÓN

El descubrimiento de la tolerancia hace 50 años y la posterior caracterización de las células Treg ha permitido grandes avances en el entendimiento de los mecanismos de regulación fisiológica de la respuesta inmune y su contribución en el desarrollo de múltiples enfermedades, dentro de las que se destacan las infecciones crónicas. La disfunción de las Treg reportada durante la persistencia crónica de patógenos, es un hecho conocido y esta desregulación no es mera coincidencia, sin embargo no se tiene claro si estas células son la causa o la consecuencia de la permanencia de agentes infecciosos y del continuo desafío antigénico, por lo que es difícil predecir si su manipulación pudiera ayudar a resolver la infección crónica. De allí, que la importancia del estudio de su participación en la evolución e inmupatogenia de los procesos infecciosos crónicos es fundamental para identificar los puntos específicos de su intervención en la respuesta inmune por un lado y por el otro establecer en lo posible, diferencias en el reconocimiento antigénico dependiente de las poblaciones celulares Treg y los linfocitos T efectoras, que permitan su manipulación oportuna. Sin embargo debe tenerse presente que cualquier terapia diseñada para mitigar la función de las Treg durante un cuadro infeccioso debe ser transitoria y compatible con el establecimiento de inmunidad específica para el parásito. Comprender el papel de las Treg durante las infecciones crónicas, pudiera contribuir al diseño de nuevas estrategias terapéuticas destinadas a manipular su función *in vivo* para favorecer la resolución de la enfermedad.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al FONACIT subvención G-2005 000407.

REFERENCIAS

1. **Burnet FM, Lind PE, Perry B.** The action of ribonuclease on the multiplication of influenza viruses in the de-embryonated egg. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1957; 35:517-529.
2. **Lang J, Arnold B, Hammerling G, Harris AW, Korsmeyer S, Russell D, Strasser A, Nemazee D.** Enforced Bcl-2 expression inhibits antigen-mediated clonal elimination of peripheral B cells in an antigen dose-dependent manner and promotes receptor editing in autoreactive, immature B cells. *J Exp Med* 1997; 186:1513-1522.
3. **Goodnow CC, Crosbie J, Adelstein S, Lavoie TB, Smith-Gill SJ, Brink RA, Pritchard-Briscoe H, Wotherspoon JS, Loblay RH, Raphael K.** Altered immunoglobulin expression and functional silencing of self-reactive B lymphocytes in transgenic mice. *Nature* 1988; 334:676-682.
4. **Nishizuka Y, Sakakura T.** Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science* 1969; 166:753-755.
5. **Hori S, Nomura T, Sakaguchi S.** Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299:1057-1061.
6. **Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M.** 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; 155:1151-1164.
7. **Ashour HM, Seif TM.** The role of B cells in the induction of peripheral T cell tolerance. *J Leukoc Biol* 2007; 82:1033-1039.
8. **Abbas A.** *Inmunología Molecular y Celular*, 5ta Ed, Boston (Mass) McGraw Publishing, 2008.
9. **Hogquist KA, Baldwin TA, Jameson SC.** Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 772-782.
10. **Klein L, Hinterberger M, Wirnsberger G, Kyewski B.** Antigen presentation in the thymus for positive selection and central tolerance induction. *Nat Rev Immunol* 2009; 9:833-844.
11. **Gardner JM, Fletcher AL, Anderson MS, Turley SJ.** AIRE in the thymus and beyond. *Curr Opin Immunol* 2009; 21:582-589.
12. **Goodnow CC, Sprent J, Fazekas de St Groth B, Vinuesa CG.** Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* 2005; 435:590-597.
13. **Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, Lanfranco AR, Braunstein I, Kobayashi SV, Linsley PS, Thompson CB, Riley JL.** CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol* 2005; 25:9543-9553.
14. **Ekland EH, Forster R, Lipp M, Cyster JG.** Requirements for follicular exclusion and competitive elimination of autoantigen-binding B cells. *J Immunol* 2004; 172: 4700-4708.
15. **Baine I, Abe BT, Macian F.** Regulation of T-cell tolerance by calcium²⁺/NFAT signaling. *Immunol Rev* 2009; 231:225-240.
16. **Suciu-Foca N, Cortesini R.** Central role of ILT3 in the T suppressor cell cascade. *Cell Immunol* 2007; 248:59-67.
17. **Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, Berneman ZN.** Balancing between immunity and tolerance: an interplay between dendritic cells, regulatory T cells, and effector T cells. *J Leukoc Biol* 2007; 82: 1365-1374.
18. **Mahnke K, Schmitt E, Bonifaz L, Enk AH, Jonuleit H.** Immature, but not inactive: the tolerogenic function of immature dendritic cells. *Immunol Cell Biol* 2002; 80:477-483.
19. **Belkaid Y, Oldenhove G.** Tuning Microenvironments: Induction of Regulatory T Cells by Dendritic Cells. *Immunity* 2008; 29:362-371.
20. **Rescigno M, Di Sabatino A.** Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J Clin Invest* 2009; 119:2441-2450.
21. **Lutz MB, Kurts C.** Induction of peripheral CD4⁺ T-cell tolerance and CD8⁺ T-cell

- cross-tolerance by dendritic cells. *Eur J Immunol* 2009; 39:2325-2330.
22. **Reynoso ED, Turley SJ.** Unconventional antigen-presenting cells in the induction of peripheral CD8(+) T cell tolerance. *J Leukoc Biol* 2009; 86:795-801.
 23. **Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH, Greenfield EA, Chang TT, Sharpe AH, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT.** Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2002; 8:1024-1032.
 24. **Munn DH, Sharma MD, Lee JR, Jhaveri KG, Johnson TS, Keskin DB, Marshall B, Chandler P, Antonia SJ, Burgess R, Slingluff CLJ, Mellor AL.** Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. *Science* 2002; 297:1867-1870.
 25. **Puccetti P, Grohmann U.** IDO and regulatory T cells: a role for reverse signalling and non-canonical NF-kappaB activation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7:817-823.
 26. **Fallarino F, Grohmann U, You S, McGrath BC, Cavener DR, Vacca C, Orabona C, Bianchi R, Belladonna ML, Volpi C, Santamaria P, Fioretti MC, Puccetti P.** The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells. *J Immunol* 2006; 176:6752-6761.
 27. **Braun D, Longman RS, Albert ML.** A two-step induction of indoleamine 2,3 dioxygenase (IDO) activity during dendritic-cell maturation. *Blood* 2005; 106:2375-2381.
 28. **Fallarino F, Puccetti P.** Toll-like receptor 9-mediated induction of the immunosuppressive pathway of tryptophan catabolism. *Eur J Immunol* 2006; 36:8-11.
 29. **Fallarino F, Asselin-Paturel C, Vacca C, Bianchi R, Gizzi S, Fioretti MC, Trinchieri G, Grohmann U, Puccetti P.** Murine plasmacytoid dendritic cells initiate the immunosuppressive pathway of tryptophan catabolism in response to CD200 receptor engagement. *J Immunol* 2004; 173:3748-3754.
 30. **Seo SK, Choi JH, Kim YH, Kang WJ, Park HY, Suh JH, Choi BK, Vinay DS, Kwon BS.** 4-1BB-mediated immunotherapy of rheumatoid arthritis. *Nat Med* 2004; 10:1088-1094.
 31. **Tas SW, Vervoordeldonk MJ, Hajji N, Schuitemaker JH, van der Sluijs KF, May MJ, Ghosh S, Kapsenberg ML, Tak PP, de Jong EC.** Noncanonical NF-kappaB signaling in dendritic cells is required for indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) induction and immune regulation. *Blood* 2007; 110:1540-1549.
 32. **Grohmann U, Volpi C, Fallarino F, Bozza S, Bianchi R, Vacca C, Orabona C, Belladonna ML, Ayroldi E, Nocentini G, Boon L, Bistoni F, Fioretti MC, Romani L, Riccardi C, Puccetti P.** Reverse signaling through GITR ligand enables dexamethasone to activate IDO in allergy. *Nat Med* 2007; 13:579-586.
 33. **Bruder D, Probst-Kepper M, Westendorf AM, Geffers R, Beissert S, Loser K, von Boehmer H, Buer J, Hansen W.** Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. *Eur J Immunol* 2004; 34:623-630.
 34. **Hill JA, Feuerer M, Tash K, Haxhinasto S, Perez J, Melamed R, Mathis D, Benoist C.** Foxp3 transcription-factor-dependent and -independent regulation of the regulatory T cell transcriptional signature. *Immunity* 2007; 27:786-800.
 35. **Sarris M., Andersen KG, Randow F, Mayr L, Betz AG.** Neuropilin-1 expression on regulatory T cells enhances their interactions with dendritic cells during antigen recognition. *Immunity* 2008; 28:402-413.
 36. **Mizui M, Kikutani H.** Neuropilin-1: the glue between regulatory T cells and dendritic cells? *Immunity* 2008; 28:302-303.
 37. **Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, Nomura T, Sakaguchi S.** CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008; 322:271-275.
 38. **Vlad G, Chang CC, Colovai AI, Berloco P, Cortesini R, Suci-Foca N.** Immunoglobulin-like transcript 3: A crucial regulator of dendritic cell function. *Hum Immunol* 2009; 70:340-344.

39. Yamazaki S, Steinman RM. Dendritic cells as controllers of antigen-specific Foxp3+ regulatory T cells. *J Dermatol Sci* 2009; 54:69-75.
40. Wang L, Pino-Lagos K, de Vries VC, Guleria I, Sayegh MH, Noelle RJ. Programmed death 1 ligand signaling regulates the generation of adaptive Foxp3+ CD4+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:9331-9336.
41. Yamazaki S, Dudziak D, Heidkamp GF, Fiorese C, Bonito AJ, Inaba K, Nussenzweig MC, Steinman RM. CD8+ CD205+ splenic dendritic cells are specialized to induce Foxp3+ regulatory T cells. *J Immunol* 2008; 181:6923-6933.
42. Arnold B. Parenchymal cells in immune and tolerance induction. *Immunol Lett* 2003; 89:225-228.
43. Bertolino P, Bowen DG, McCaughan GW, Fazekas de St Groth B. Antigen-specific primary activation of CD8+ T cells within the liver. *J Immunol* 2001; 166:5430-5438.
44. Dong H, Zhu G, Tamada K, Flies DB, van Deursen JM, Chen L. B7-H1 determines accumulation and deletion of intrahepatic CD8(+) T lymphocytes. *Immunity* 2004; 20:327-336.
45. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:16731-16736.
46. Barnes MJ, Powrie F. Regulatory T cells reinforce intestinal homeostasis. *Immunity* 2009; 31:401-411.
47. Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Cárcamo CV, Hall J, Sun CM, Belkaid Y, Powrie F. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. *J Exp Med* 2007; 204:1757-1764.
48. Sun CM, Hall JA, Blank RB, Bouladoux N, Oukka M, Mora JR, Belkaid Y. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J Exp Med* 2007; 204:1775-1785.
49. Nedjic J, Aichinger M, Klein L. Autophagy and T cell education in the thymus: eat yourself to know yourself. *Cell Cycle* 2008; 7:3625-3628.
50. Shkoda A, Ruiz PA, Daniel H, Kim SC, Rogler G, Sartor RB, Haller D. Interleukin-10 blocked endoplasmic reticulum stress in intestinal epithelial cells: impact on chronic inflammation. *Gastroenterology* 2007; 132:190-207.
51. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell Cycle* 2000; 101:455-458.
52. Belkaid Y, Rouse BT. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nat Immunol* 2005; 6:353-360.
53. Sakaguchi S, Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int Immunol* 2009; 21:1105-1111.
54. Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, Rudensky AY. A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat Immunol* 2005; 6:1142-51.
55. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 531-562.
56. Khattri R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4+ CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003; 4:337-342.
57. Bopp T, Becker C, Klein M, Klein-Hessling S, Palmesthofer A, Serfling E, Heib V, Becker M, Kubach J, Schmitt S, Stoll S, Schild H, Staeger MS, Stassen M, Jonuleit H, Schmitt E. Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. *J Exp Med* 2007; 204:1303-1310.
58. Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, Friedman D, Usheva A, Erat A, Chen JF, Enjoji K,

- Linden J, Oukka M, Kuchroo VK, Strom TB, Robson SC. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med* 2007; 204:1257-1265.
59. Asseman C, Mauze S, Leach MW, Coffman RL, Powrie F. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med* 1999 190:995-1004.
60. Read S, Malmström V, Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* 2000; 192:295-302.
61. Nakamura K, Kitani A, Strober W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med* 2001; 194: 629-644.
62. Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM, Cross R, Sehy D, Blumberg RS, Vignali DA. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature* 2007; 450:566-569.
63. Marson A, Kretschmer K, Frampton GM, Jacobsen ES, Polansky JK, Maelsaack KD, Levine SS, Fraenkel E, von Boehmer H, Young RA. Foxp3 occupancy and regulation of key target genes during T-cell stimulation. *Nature* 2007; 445:931-935.
64. Xu L, Kitani A, Fuss I, Strober W. Cutting edge: regulatory T cells induce CD4+CD25-Foxp3- T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-beta. *J Immunol* 2007; 178:6725-6729.
65. Zheng Y, Josefowicz SZ, Kas A, Chu TT, Gavin MA, Rudensky AY. Genome-wide analysis of Foxp3 target genes in developing and mature regulatory T cells. *Nature* 2007; 445:936-940.
66. Tran DQ, Glass DD, Uzel G, Darnell DA, Spalding C, Holland SM, Shevach EM. Analysis of adhesion molecules, target cells, and role of IL-2 in human FOXP3+ regulatory T cell suppressor function. *J Immunol* 2009; 182:2929-2938.
67. Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:10113-10118.
68. Pandiyan P, Zheng L, Ishihara S, Reed J, Lenardo MJ. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. *Nat Immunol* 2007; 8:1353-1362.
69. Belkaid Y. Regulatory T cells and infection: a dangerous necessity. *Nat Rev Immunol* 2007; 7:875-888.
70. Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, Shevach EM, Sacks DL. CD4+CD25+ regulatory T cells control *Leishmania* major persistence and immunity. *Nature* 2002; 420:502-507.
71. Belkaid Y, Tarbell K. Regulatory T cells in the control of host-microorganism interactions. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:551-589.
72. Kursar M, Koch M, Mittrücker HW, Nouailles G, Bonhagen K, Kamradt T, Kaufmann SH. Cutting Edge: Regulatory T cells prevent efficient clearance of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 2007; 178:2661-2665.
73. Scott-Browne JP, Shafiani S, Tucker-Heard G, Ishida-Tsubota K, Fontenot JD, Rudensky AY, Bevan MJ, Urdahl KB. Expansion and function of Foxp3-expressing T regulatory cells during tuberculosis. *J Exp Med* 2007; 204:2159-2169.
74. Barboza L, Salmen S, Goncalves L, Colmenares M, Peterson D, Montes H, Cartagirone R, Gutierrez MD, Berrueta L. Antigen-induced regulatory T cells in HBV chronically infected patients. *Virology* 2007; 368:41-49.
75. Peng G, Li S, Wu W, Sun Z, Chen Y, Chen Z. Circulating CD4+ CD25+ regulatory T cells correlate with chronic hepatitis B infection. *Immunology* 2008; 123:57-65.
76. Xu D, Fu J, Jin L, Zhang H, Zhou C, Zou Z, Zhao JM, Zhang B, Shi M, Ding X, Tang Z, Fu YX, Wang FS. Circulating and liver resident CD4+CD25+ regulatory T cells actively influence the antiviral im-

- mune response and disease progression in patients with hepatitis B. *J Immunol* 2006; 177:739-747.
77. **Ordway D, Palanisamy G, Heno-Tamayo M, Smith EE, Shanley C, Orme IM, Basaraba RJ.** The cellular immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection in the guinea pig. *J Immunol* 2007; 179:2532-2541.
 78. **Taylor MD, LeGoff L, Harris A, Malone E, Allen JE, Maizels RM.** Removal of regulatory T cell activity reverses hyporesponsiveness and leads to filarial parasite clearance *in vivo*. *J Immunol* 2005; 174:4924-4933.
 79. **Jerome KR.** Viral modulation of T-cell receptor signaling. *J Virol* 2008; 82:4194-4204.
 80. **Foster JL, Garcia JV.** Role of Nef in HIV-1 replication and pathogenesis. *Adv Pharmacol* 2007; 55:389-409.
 81. **Saksela K, Cheng G, Baltimore D.** Proline-rich (PxxP) motifs in HIV-1 Nef bind to SH3 domains of a subset of Src kinases and are required for the enhanced growth of Nef+ viruses but not for down-regulation of CD4. *EMBO J* 1995; 14:484-491.
 82. **Linnemann T, Zheng YH, Mandic R, Peterlin BM.** Interaction between Nef and phosphatidylinositol-3-kinase leads to activation of p21-activated kinase and increased production of HIV. *Virology* 2002; 294:246-255.
 83. **Xu XN, Laffert B, Screaton GR, Kraft M, Wolf D, Kolanus W, Mongkolsapay J, McMichael AJ, Baur AS.** Induction of Fas ligand expression by HIV involves the interaction of Nef with the T cell receptor zeta chain. *J Exp Med* 1999; 189:1489-1496.
 84. **Marsh JW.** The numerous effector functions of Nef. *Arch Biochem Biophys* 1999; 365:192-198.
 85. **Thoulouze MI, Sol-Foulon N, Blanchet F, Dautry-Varsat A, Schwartz O, Alcover A.** Human immunodeficiency virus type-1 infection impairs the formation of the immunological synapse. *Immunity* 2006; 24: 547-561.
 86. **Maki A, Matsuda M, Asakawa M, Kono H, Fujii H, Matsumoto Y.** Decreased CD3 zeta molecules of T lymphocytes from patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. *Hepatol Res* 2003; 27:272-278.
 87. **Soldaini E, Wack A, D'Oro U, Nuti S, Olivieri C, Baldari CT, Abrignani S.** T cell costimulation by the hepatitis C virus envelope protein E2 binding to CD81 is mediated by Lck. *Eur J Immunol* 2003; 33: 455-464.
 88. **Wack A, Soldaini E, Tseng C, Nuti S, Klimpel G, Abrignani S.** Binding of the hepatitis C virus envelope protein E2 to CD81 provides a co-stimulatory signal for human T cells. *Eur J Immunol* 2001; 31:166-175.
 89. **Bergqvist A, Sundström S, Dimberg LY, Gylfe E, Masucci MG.** The hepatitis C virus core protein modulates T cell responses by inducing spontaneous and altering T-cell receptor-triggered Ca²⁺ oscillations. *J Biol Chem* 2003; 278:18877-18883.
 90. **Kittlesen DJ, Chianese-Bullock KA, Yao ZQ, Braciale TJ, Hahn YS.** Interaction between complement receptor gC1qR and hepatitis C virus core protein inhibits T-lymphocyte proliferation. *J Clin Invest* 2000; 106:1239-1249.
 91. **Yao ZQ, King E, Prayther D, Yin D, Moorman J.** T cell dysfunction by hepatitis C virus core protein involves PD-1/PDL-1 signaling. *Viral Immunol* 2007; 20:276-287.
 92. **Ingham RJ, Raaijmakers J, Lim CS, Mbamalu G, Gish G, Chen F, Matskova L, Ernberg I, Winberg G, Pawson T.** The Epstein-Barr virus protein, latent membrane protein 2A, co-opts tyrosine kinases used by the T cell receptor. *J Biol Chem* 2005; 280:34133-34142.
 93. **Hoffmann KF, Cheever AW, Wynn TA.** IL-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. *J Immunol* 2000; 164:6406-6416.
 94. **Li C, Corraliza I, Langhorne J.** A defect in interleukin-10 leads to enhanced malarial disease in *Plasmodium chabaudi* infection in mice. *Infect Immun* 1999; 67:4435-4442.

95. **Boussiotis VA, Tsai EY, Yunis EJ, Thim S, Delgado JC, Dascher CC, Berezovskaya A, Rousset D, Reynes JM, Goldfeld AE.** IL-10-producing T cells suppress immune responses in anergic tuberculosis patients. *J Clin Invest* 2000; 105:1317-1325.
96. **Carvalho EM, Bacellar O, Brownell C, Régis T, Coffman RL, Reed SG.** Restoration of IFN-gamma production and lymphocyte proliferation in visceral leishmaniasis. *J Immunol* 1994; 152:5949-5956.
97. **MacDonald AJ, Duffy M, Brady MT, McKiernan S, Hall W, Hegarty J, Curry M, Mills KH.** CD4 T helper type 1 and regulatory T cells induced against the same epitopes on the core protein in hepatitis C virus-infected persons. *J Infect Dis* 2002; 185:720-727.
98. **Plebanski M, Flanagan KL, Lee EA, Reece WH, Hart K, Gelder C, Gillespie G, Pinder M, Hill AV.** Interleukin 10-mediated immunosuppression by a variant CD4 T cell epitope of *Plasmodium falciparum*. *Immunity* 1999; 10:651-660.
99. **McGuirk P, McCann C, Mills KH.** Pathogen-specific T regulatory 1 cells induced in the respiratory tract by a bacterial molecule that stimulates interleukin 10 production by dendritic cells: a novel strategy for evasion of protective T helper type 1 responses by *Bordetella pertussis*. *J Exp Med* 2002; 195:221-231.
100. **Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM.** Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198:1875-1886.
101. **Fantini MC, Becker C, Monteleone G, Pallone F, Galle PR, Neurath MF.** Cutting edge: TGF-beta induces a regulatory phenotype in CD4+CD25- T cells through Foxp3 induction and down-regulation of Smad7. *J Immunol* 2004; 172:5149-5153.
102. **Barron L, Knoechel B, Lohr J, Abbas AK.** Cutting edge: contributions of apoptosis and anergy to systemic T cell tolerance. *J Immunol* 2008; 180:2762-2766.
103. **Kretschmer K, Apostolou I, Hawiger D, Khazaie K, Nussenzweig MC, von Boehmer H.** Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nat Immunol* 2005; 6:1219-1227.
104. **Wei J, Duramad O, Perng OA, Reiner SL, Liu YJ, Qin FX.** Antagonistic nature of T helper 1/2 developmental programs in opposing peripheral induction of Foxp3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:18169-18174.
105. **Poncini CV, Alba Soto CD, Batalla E, Solana ME, González Cappa SM.** Trypanosoma cruzi induces regulatory dendritic cells in vitro. *Infect Immun* 2008; 76: 2633-2641.
106. **Walther M, Tongren JE, Andrews L, Korbel D, King E, Fletcher H, Andersen RF, Bejon P, Thompson F, Dunachie SJ, Edele F, de Souza JB, Sinden RE, Gilbert SC, Riley EM, Hill AV.** Upregulation of TGF-beta, FOXP3, and CD4+CD25+ regulatory T cells correlates with more rapid parasite growth in human malaria infection. *Immunity* 2005; 23:287-296.
107. **Yang G, Liu A, Xie Q, Guo TB, Wan B, Zhou B, Zhang JZ.** Association of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells with chronic activity and viral clearance in patients with hepatitis B. *Int Immunol* 2007; 19:133-140.
108. **Garg A, Barnes PF, Roy S, Quiroga MF, Wu S, García VE, Krutzik SR, Weis SE, Vankayalapati R.** Mannose-capped liparabinomannan- and prostaglandin E2-dependent expansion of regulatory T cells in human *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur J Immunol* 2008; 38:459-469.
109. **Amarnath S, Dong L, Li J, Wu Y, Chen W.** Endogenous TGF-beta activation by reactive oxygen species is key to Foxp3 induction in TCR-stimulated and HIV-1-infected human CD4+CD25- T cells. *Retrovirology* 2007; 4:57.
110. **Kinter AL, Hennessey M, Bell A, Kern S, Lin Y, Daucher M, Planta M, McGlaughlin M, Jackson R, Ziegler SF, Fauci AS.** CD25(+)CD4(+) regulatory T cells from the peripheral blood of asymptomatic HIV-infected individuals regulate CD4(+) and CD8(+) HIV-specific T cell immune responses in vitro and are associated with favorable clinical markers of disease status. *J Exp Med* 2004; 200:331-343.

111. Weiss L, Donkova-Petrini V, Caccavelli L, Balbo M, Carbonneil C, Levy Y. Human immunodeficiency virus-driven expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells, which suppress HIV-specific CD4 T-cell responses in HIV-infected patients. *Blood* 2004; 104:3249-3256.
112. Suffia IJ, Reckling SK, Piccirillo CA, Goldszmid RS, Belkaid Y. Infected site-restricted Foxp3+ natural regulatory T cells are specific for microbial antigens. *J Exp Med* 2006; 203:777-788.
113. Mendez S, Reckling SK, Piccirillo CA, Sacks D, Belkaid Y. Role for CD4(+) CD25(+) regulatory T cells in reactivation of persistent leishmaniasis and control of concomitant immunity. *J Exp Med* 2004; 200:201-210.
114. Crellin NK, Garcia RV, Hadisfar O, Allan SE, Steiner TS, Levings MK. Human CD4+ T cells express TLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Immunol* 2005; 175: 8051-8059.
115. Suttmuller RP, den Brok MH, Kramer M, Bennink EJ, Toonen LW, Kullberg BJ, Joosten LA, Akira S, Netea MG, Adema GJ. Toll-like receptor 2 controls expansion and function of regulatory T cells. *J Clin Invest* 2006; 116:485-494.
116. Suffia I, Reckling SK, Salay G, Belkaid Y. A role for CD103 in the retention of CD4+CD25+ Treg and control of *Leishmania major* infection. *J Immunol* 2005; 174:5444-5455.
117. Li S, Gowans EJ, Chougnet C, Plebanski M, Dittmer U. Natural regulatory T cells and persistent viral infection. *J Virol* 2008; 82:21-30.
118. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 1996; 2:1104-1108.
119. Iwashiro M, Peterson K, Messer RJ, Stromnes IM, Hasenkrug KJ. CD4(+) T cells and gamma interferon in the long-term control of persistent friend retrovirus infection. *J Virol* 2001; 75:52-60.
120. Suvas S, Kumaraguru U, Pack CD, Lee S, Rouse BT. CD4+CD25+ T cells regulate virus-specific primary and memory CD8+ T cell responses. *J Exp Med* 2003; 198:889-901.
121. Billerbeck E, Thimme R. CD8+ regulatory T cells in persistent human viral infections. *Hum Immunol* 2008; 69:771-775.
122. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, Freeman GJ, Ahmed R. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006; 439:682-687.
123. Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, Said EA, Gimmig S, Bessette B, Boulassel MR, Delwart E, Sepulveda H, Balderas RS, Routy JP, Haddad EK, Sekaly RP. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat Med* 2006; 12:1198-1202.
124. Ejrnaes M, Filippi CM, Martinic MM, Ling EM, Togher LM, Crotty S, Von Herath MG. Resolution of a chronic viral infection after interleukin-10 receptor blockade. *J Exp Med* 2006; 203:2461-2472.
125. Estes JD, Li Q, Reynolds MR, Wietgrefe S, Duan L, Schacker T, Picker LJ, Watkins DI, Lifson JD, Reilly C, Carlis J, Haase AT. Premature induction of an immunosuppressive regulatory T cell response during acute simian immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 2006; 193:703-712.
126. Andersson J, Boasso A, Nilsson J, Zhang R, Shire NJ, Lindback S, Shearer GM, Chougnet CA. The prevalence of regulatory T cells in lymphoid tissue is correlated with viral load in HIV-infected patients. *J Immunol* 2005; 174:3143-3147.
127. Majumder B, Janket ML, Schafer EA, Schaubert K, Huang XL, Kan-Mitchell J, Rinaldo CRJ, Ayyavoo V. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr impairs dendritic cell maturation and T-cell activation: implications for viral immune escape. *J Virol* 2005; 79:7990-8003.
128. Boasso A, Herbeuval JP, Hardy AW, Anderson SA, Dolan MJ, Fuchs D, Shearer GM. HIV inhibits CD4+ T-cell proliferation by inducing indoleamine 2,3-dioxygenase

- in plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 2007; 109:3351-3359.
129. **Zhang R, Lifson JD, Chougnnet C.** Failure of HIV-exposed CD4+ T cells to activate dendritic cells is reversed by restoration of CD40/CD154 interactions. *Blood* 2006; 107:1989-1995.
130. **Granelli-Piperno A, Golebiowska A, Trumfheller C, Siegal FP, Steinman RM.** HIV-1-infected monocyte-derived dendritic cells do not undergo maturation but can elicit IL-10 production and T cell regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:7669-7674.
131. **Garba ML, Pilcher CD, Bingham AL, Eron J, Frelinger JA.** HIV antigens can induce TGF-beta(1)-producing immunoregulatory CD8+ T cells. *J Immunol* 2002; 168:2247-2254.
132. **Elrefaei M, Barugahare B, Ssali F, Mugenyi P, Cao H.** HIV-specific IL-10-positive CD8+ T cells are increased in advanced disease and are associated with decreased HIV-specific cytotoxicity. *J Immunol* 2006; 176:1274-1280.
133. **Nilsson J, Boasso A, Velilla PA, Zhang R, Vaccari M, Franchini G, Shearer GM, Andersson J, Chougnnet C.** HIV-1-driven regulatory T-cell accumulation in lymphoid tissues is associated with disease progression in HIV/AIDS. *Blood* 2006; 108:3808-3817.
134. **Grant C, Oh U, Fugo K, Takenouchi N, Griffith C, Yao K, Newhook TE, Ratner L, Jacobson S.** Foxp3 represses retroviral transcription by targeting both NF-kappaB and CREB pathways. *PLoS Pathog* 2006; 2:e33.
135. **Yamano Y, Takenouchi N, Li HC, Tomaru U, Yao K, Grant CW, Maric DA, Jacobson S.** Virus-induced dysfunction of CD4+ CD25+ T cells in patients with HTLV-I-associated neuroimmunological disease. *J Clin Invest* 2005; 115:1361-1368.
136. **Yamano Y, Cohen CJ, Takenouchi N, Yao K, Tomaru U, Li HC, Reiter Y, Jacobson S.** Increased expression of human T lymphocyte virus type I (HTLV-I) Tax11-19 peptide-human histocompatibility leukocyte antigen A*201 complexes on CD4+ CD25+ T Cells detected by peptide-specific, major histocompatibility complex-restricted antibodies in patients with HTLV-I-associated neurologic disease. *J Exp Med* 2004; 199:1367-1377.
137. **Voo KS, Peng G, Guo Z, Fu T, Li Y, Frappier L, Wang RF.** Functional characterization of EBV-encoded nuclear antigen 1-specific CD4+ helper and regulatory T cells elicited by in vitro peptide stimulation. *Cancer Res* 2005; 65:1577-1586.
138. **Popescu I, Macedo C, Abu-Elmagd K, Shapiro R, Hua Y, Thomson AW, Morelli AE, Storkus WJ, Metes D.** EBV-specific CD8 T cell reactivation in transplant patients results in expansion of CD8 type-1 regulatory T cells. *Am J Transplant* 2007; 7:1215-23.
139. **Nakamoto N, Cho H, Shaked A, Olthoff K, Valiga ME, Kaminski M, Gostick E, Price DA, Freeman GJ, Wherry EJ, Chang KM.** Synergistic reversal of intrahepatic HCV-specific CD8 T cell exhaustion by combined PD-1/CTLA-4 blockade. *PLoS Pathog* 2009; 5:1-13.
140. **Urbani S, Amadei B, Tola D, Pedrazzi G, Sacchelli L, Cavallo MC, Orlandini A, Missale G, Ferrari C.** Restoration of HCV-specific T cell functions by PD-1/PD-L1 blockade in HCV infection: effect of viremia levels and antiviral treatment. *J Hepatol* 2008; 48:548-558.
141. **Rushbrook SM, Ward SM, Unitt E, Vowler SL, Lucas M, Klenerman P, Alexander GJ.** Regulatory T cells suppress in vitro proliferation of virus-specific CD8+ T cells during persistent hepatitis C virus infection. *J Virol* 2005; 79:7852-7859.
142. **Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, Nunes FA, Alter HJ, Chang KM.** Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. *Hepatology* 2003; 38:1437-1448.
143. **Alatrakchi N, Koziel M.** Regulatory T cells and viral liver disease. *J Viral Hepat* 2009; 16:223-229.
144. **Smyk-Pearson S, Golden-Mason L, Klarquist J, Burton JRJ, Tester IA, Wang CC, Culbertson N, Vandenbark AA, Rosen HR.** Functional suppression by FoxP3+ CD4+CD25(high) regulatory T cells dur-

- ing acute hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2008; 197:46-57.
145. Alatrakchi N, Graham CS, Van der Vliet J, Sherman KE, Exley MA, Koziel MJ. Hepatitis C virus (HCV) specific CD8 cells produce TGF-beta that can suppress HCV-specific T cell responses. *J Virol* 2007; 81:5882-5892.
 146. Billerbeck E, Blum HE, Thimme R. Parallel expansion of human virus-specific FoxP3- effector memory and de novo-generated FoxP3+ regulatory CD8+ T cells upon antigen recognition in vitro. *J Immunol* 2007; 179:1039-1048.
 147. Accapezzato D, Francavilla V, Paroli M, Casciaro M, Chireu LV, Cividini A, Abbrignani S, Mondelli MU, Barnaba V. Hepatic expansion of a virus-specific regulatory CD8(+) T cell population in chronic hepatitis C virus infection. *J Clin Invest* 2004; 113:963-972.
 148. Ebinuma H, Nakamoto N, Li Y, Price DA, Gostick E, Levine BL, Tobias J, Kwok WW, Chang KM. Identification and in vitro expansion of functional antigen-specific CD25+ FoxP3+ regulatory T cells in hepatitis C virus infection. *J Virol* 2008; 82: 5043-5053.
 149. Li S, Floess S, Hamann A, Gaudieri S, Lucas A, Hellard M, Roberts S, Paukovic G, Plebanski M, Loveland BE, Aitken C, Barry S, Schofield L, Gowans EJ. Analysis of FOXP3+ regulatory T cells that display apparent viral antigen specificity during chronic hepatitis C virus infection. *PLoS Pathog* 2009; 5:1-13.
 150. Li S, Jones KL, Woollard DJ, Dromei J, Paukovics G, Plebanski M, Gowans EJ. Defining target antigens for CD25+ FOXP3 + IFN-gamma- regulatory T cells in chronic hepatitis C virus infection. *Immunol Cell Biol* 2007; 85:197-204.
 151. Boyer O, Saadoun D, Abriol J, Dodille M, Piette JC, Cacoub P, Klatzmann D. CD4+CD25+ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia vasculitis. *Blood* 2004; 103:3428-3430.
 152. Radziejewicz H, Dunham RM, Grakoui A. PD-1 tempers Tregs in chronic HCV infection. *J Clin Invest* 2009 119:450-453.
 153. Franceschini D, Paroli M, Francavilla V, Videtta M, Morrone S, Labbadia G, Cerino A, Mondelli MU, Barnaba V. PD-L1 negatively regulates CD4+CD25+Foxp3+ Tregs by limiting STAT-5 phosphorylation in patients chronically infected with HCV. *J Clin Invest* 2009; 119:551-564.
 154. Della-Bella S, Crosignani A, Riva A, Presicce P, Benetti A, Longhi R, Podda M, Villa ML. Decrease and dysfunction of dendritic cells correlate with impaired hepatitis C virus-specific CD4+ T-cell proliferation in patients with hepatitis C virus infection. *Immunology* 2007; 121:283-292.
 155. Dolganiuc A, Paek E, Kodys K, Thomas J, Szabo G. Myeloid dendritic cells of patients with chronic HCV infection induce proliferation of regulatory T lymphocytes. *Gastroenterology* 2008; 135:2119-2127.
 156. Rowan AG, Fletcher JM, Ryan EJ, Moran B, Hegarty JE, O'Farrelly C, Mills KH. Hepatitis C virus-specific Th17 cells are suppressed by virus-induced TGF-beta. *J Immunol* 2008; 181: 4485-4494.
 157. Zimmermann M, Flechsig C, La Monica N, Tripodi M, Adler G, Dikopoulos N. Hepatitis C virus core protein impairs in vitro priming of specific T cell responses by dendritic cells and hepatocytes. *J Hepatol* 2008; 48:51-60.
 158. Shi YH, Shi CH. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3099-3105.
 159. Bertoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B virus infection. *J Gen Virol* 2006; 87:1439-1449.
 160. Manigold T, Racanelli V. T-cell regulation by CD4 regulatory T cells during hepatitis B and C virus infections: facts and controversies. *Lancet Infectious Diseases* 2007; 7:804-813.
 161. Milich D, Liang TJ. Exploring the biological basis of hepatitis B e antigen in hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2003; 38:1075-1086.
 162. Chen M, Sällberg M, Hughes J, Jones J, Guidotti LG, Chisari FV, Billaud JN, Milich DR. Immune tolerance split between hepatitis B virus precore and core proteins. *J Virol* 2005; 79:3016-3027.

163. **Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, van der Laan LJ, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL.** Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2005; 41:771-778.
164. **Franzese O, Kennedy P, Gehring A, Gotto J, Williams R, Maini M, Bertolotti A.** Modulation of the CD8⁺-T-cell response by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005; 79:3322-3328.
165. **Kondo Y, Kobayashi K, Ueno Y, Shiina M, Niitsuma H, Kanno N, Kobayashi T, Shimosegawa T.** Mechanism of T cell hyporesponsiveness to HBeAg is associated with regulatory T cells in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2006; 12:4310-4317.
166. **Stoop JN, van der Molen RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL.** Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B. *Virology* 2007; 361:141-148.
167. **Xu D, Fu J, Jin L, Zhang H, Zhou C, Zou Z, Zhao JM, Zhang B, Shi M, Ding X, Tang Z, Fu YX, Wang FS.** Circulation an liver resident CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells actively influence the antiviral immune response and disease pregression in the patients with hepatitis B. *J Immunol* 2006; 177:739-747.
168. **Barboza L, Salmen S, Peterson D, Montes H, Colmenares M, Hernández M, Berrueta-Carrillo LE, Berrueta L.** Altered T cell costimulation during chronic hepatitis B infection. *Cell Immunol* 2009; 257:61-68.
169. **Crettaz J, Otano I, Ochoa L, Benito A, Paneda A, Aurrekoetxea I, Berraondo P, Rodríguez-Madoz JR, Astudillo A, Kreppel F, Kochanek S, Ruiz J, Menne S, Prieto J, Gonzalez-Aseguinolaza G.** Treatment of chronic viral hepatitis in woodchucks by prolonged intrahepatic expression of interleukin-12. *J Virol* 2009; 83:2663-2674.
170. **Goncalves L, Albarran B, Salmen S, Borges L, Fields H, Montes H, Soyano A, Diaz Y, Berrueta L.** The nonresponse to hepatitis B vaccination is associated with impaired lymphocyte activation. *Virology* 2004; 326:20-28.
171. **Goncalves L, Barboza L, Albarrán B, Salmen S, Montes H, Hernández M, Berrueta L.** Patron de activacion de linfocitos t en ausencia de respuesta protectora contra el virus de la hepatitis B. *Invest Clin* 2006; 47:83-96.
172. **Yang Z, Wang S, Zhang J, Wang L, Wu Y.** Expression of PD-1 is up-regulated in CD4⁺CD25⁺ FoxP3⁺ regulatory T cell of non-responders after hepatitis B surface antigen vaccine immunization. *Clin Immunol* 2008; 129:176-177.
173. **Zhang Z, Zhang JY, Wherry EJ, Jin B, Xu B, Zou ZS, Zhang SY, Li BS, Wang HF, Wu H, Lau GK, Fu YX, Wang FS.** Dynamic programmed death 1 expression by virus-specific CD8 T cells correlates with the outcome of acute hepatitis B. *Gastroenterology* 2008; 134:1938-1949.
174. **Ye P, Weng ZH, Zhang SL, Zhang JA, Zhao L, Dong JH, Jie SH, Pang R, Wei RH.** Programmed death-1 expression is associated with the disease status in hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2008; 14:4551-4557.
175. **Evans A, Riva A, Cooksley H, Phillips S, Puranik S, Nathwani A, Brett S, Chokshi S, Naoumov NV.** Programmed death 1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B: Impact of hepatitis B e-antigen seroconversion. *Hepatology* 2008; 48:759-769.
176. **Op den Brouw ML, Binda RS, van Roosmalen MH, Protzer U, Janssen HL, van der Molen RG, Woltman AM.** Hepatitis B virus surface antigen impairs myeloid dendritic cell function: a possible immune escape mechanism of hepatitis B virus. *Immunology* 2009; 126:280-289.
177. **Hong J, Gong ZJ.** Human plasmacytoid dendritic cells from patients with chronic hepatitis B virus infection induce the generation of a higher proportion of CD4⁽⁺⁾ and CD25⁽⁺⁾ regulatory T cells compared with healthy patients. *Hepatol Res* 2008; 38:362-373.
178. **Tadokoro CE, Shakhar G, Shen S, Ding Y, Lino AC, Maraver A, Lafaille JJ, Dustin**

- ML. Regulatory T cells inhibit stable contacts between CD4+ T cells and dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2006; 203:505-511.
179. Oderup C, Cederbom L, Makowska A, Cilio CM, Ivars F. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4-dependent down-modulation of costimulatory molecules on dendritic cells in CD4+ CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression. *Immunology* 2006; 118: 240-249.
180. Cabrera R, Tu Z, Xu Y, Firpi RJ, Rosen HR, Liu C, Nelson DR. An immunomodulatory role for CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2004; 40:1062-1071.
181. Kursar M, Bonhagen K, Fensterle J, Köhler A, Hurwitz R, Kamradt T, Kaufmann SH, Mittrücker HW. Regulatory CD4+CD25+ T cells restrict memory CD8+ T cell responses. *J Exp Med* 2002; 196:1585-1592.
182. Furuichi Y, Tokuyama H, Ueha S, Kurauchi M, Moriyasu F, Kakimi K. Depletion of CD25+CD4+T cells (Tregs) enhances the HBV-specific CD8+ T cell response primed by DNA immunization. *World J Gastroenterol* 2005; 11:3772-3777.
183. Moore AC, Gallimore A, Draper SJ, Watkins KR, Gilbert SC, Hill AV. Anti-CD25 antibody enhancement of vaccine-induced immunogenicity: increased durable cellular immunity with reduced immunodominance. *J Immunol* 2005; 175: 7264-7273.
184. Shaw MH, Freeman GJ, Scott MF, Fox BA, Bzik DJ, Belkaid Y, Yap GS. Tyk2 negatively regulates adaptive Th1 immunity by mediating IL-10 signaling and promoting IFN-gamma-dependent IL-10 reactivation. *J Immunol* 2006; 176:7263-7271.
185. Boyman O, Kovar M, Rubinstein MP, Surh CD, Sprent J. Selective stimulation of T cell subsets with antibody-cytokine immune complexes. *Science* 2006; 311: 1924-1927.
186. Sarangi PP, Kim B, Rouse BT. Non-mitogenic anti-CD3F(ab')₂ monoclonal antibody: a novel approach to control herpetic stromal keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49:5425-5433.