

## Expertos Invitados

### CONTROVERSIAS ACERCA DE LA TEORIA Th2 EN ALERGIA



Columnista Experto de SIIC  
**Dr. Enrique Rojas Ramos**

Jefe de Servicio, Investigador Nacional. Inmunología Clínica y Alergia

#### Antecedentes

Los padecimientos atópicos como la rinitis alérgica, el asma bronquial y la dermatitis atópica, entre otros, son un complejo de enfermedades crónicas que incluyen factores ambientales induciendo una respuesta inmunitaria en individuos genéticamente susceptibles.<sup>1</sup> La prevalencia de todos los padecimientos atópicos se incrementó enormemente en los países industrializados en los últimos 20 años. La rinitis alérgica es el problema nasal más común y el sexto padecimiento crónico más frecuente en EE.UU.<sup>2</sup> Por otro lado, el asma bronquial es el padecimiento crónico más común en la infancia y afecta a más de 15 millones de individuos en ese país.<sup>3</sup> Entre los padecimientos atópicos el asma bronquial ocupa el 60%, mientras que la dermatitis atópica ocupa alrededor del 32%.<sup>4-6</sup> Estos padecimientos se caracterizan por un aumento en la capacidad de los linfocitos B para producir inmunoglobulina E (IgE) en respuesta a ciertos grupos de antígenos inocuos del medio ambiente (alergenos), que pueden activar el sistema inmune después de la inhalación, ingestión o penetración a través de la piel. En los últimos años los mecanismos que regulan la síntesis de IgE humana fueron ampliamente estudiados.<sup>7</sup> Es bien sabido que la síntesis de IgE humana resulta de la colaboración entre el subtipo 2 de las células T cooperadoras (Th2) CD4+ y las células B. Las células Th2 proveen a las células B de IL-4 e IL-13 para inducir la expresión de un ARNm utilizado en la síntesis de la IgE. Además de esta señal soluble se requiere la interacción física de la célula Th2 con la célula B a través del marcador de superficie CD154 (ligando de CD40) con el CD40 expresado en la célula B.<sup>8-9</sup> En contraste, las células T cooperadoras CD4+ tipo 1 (Th1) que producen altas concentraciones de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) no producen IL-4, por lo tanto no contribuyen a la síntesis de IgE.<sup>10-12</sup> Dependiendo de la cantidad de citocina local, las células se pueden diferenciar en Th1, Th2, o Th3, llamadas también células T reguladoras (estas últimas producen la síntesis de IgA en superficie de mucosa a través del factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), las cuales pueden tener también efecto inmunosupresor.<sup>13</sup> En contraste en estudios recientes se observó que la respuesta de linfocitos citotóxicos (CTL) depende típicamente de la activación de Th1.<sup>14</sup> También se observó que otros factores solubles como IL-5, IL-10 IL-12 e IL-13 –al menos *in vitro*– pueden tener algunos efectos reguladores positivos o negativos en la síntesis de IgE humana.<sup>15-16</sup>

La IgE producida contra el alergeno se une a receptores tipo I de alta afinidad (Fc $\epsilon$ R-I) presentes en la superficie de células cebadas o de basófilos en ausencia del alergeno. Una vez que el receptor de alta afinidad para IgE (Fc $\epsilon$ RI) se fija en la célula cebada, el contacto con el alergeno libera mediadores vasoactivos, factores quimiotácticos y citocinas que producen inflamación (cascada alérgica). Los eosinófilos también están involucrados en la patogénesis de los padecimientos alérgicos, ya que estas células se acumulan en los sitios de la inflamación y los productos tóxicos que se liberan contribuyen al daño tisular.<sup>15-16</sup>

Mosman y col.<sup>17</sup> encontraron que las células T CD4+ podían ser divididas de acuerdo con su perfil de secreción de citocinas, en Th1 y Th2, en un modelo murino. Posteriormente esta descripción fue hecha por Del Prete y col.<sup>18</sup> en humanos. A partir de entonces, los padecimientos alérgicos son un modelo de estudio para la polarización Th2. Los primeros informes que señalaron la presencia de

células Th2 y alta producción de IgE fueron observados *in vitro* en células T estimuladas con fitohemaglutinina en pacientes con síndrome híper IgE y enfermedades atópicas graves (anafilaxia, estado asmático, dermatitis atópica grave) o en infestaciones por helmintos.<sup>10,19-20</sup> En estos estudios, los autores encontraron un desequilibrio en la producción de citocinas con alta producción de IL-4 y decremento de IFN- $\gamma$ . Asimismo, en otros padecimientos atópicos se observó la presencia de células Th2 e inducción de síntesis de IgE en células B autólogas. En biopsias de bronquios o de mucosa nasal de pacientes con asma bronquial o rinitis, 48 horas después de la prueba de provocación bronquial o nasal positiva.<sup>21</sup> Subsecuentemente, se vio que muchas células T que infiltran la conjuntiva de pacientes con conjuntivitis vernal (alérgica) tienen características similares a las células Th2 ya descritas en el ratón, por su capacidad para producir grandes cantidades de IL-4 con ausencia de IFN- $\gamma$ .<sup>22</sup> Además, se encontraron proporciones altas de células T con perfil similar de citocinas que las detectadas en la piel de pacientes con dermatitis atópica.<sup>23</sup> Para usar una aproximación experimental diferente, con hibridación *in situ*, las células exhibieron señales específicas para ARNm de IL-5, pero no para IFN- $\gamma$ , esto se encontró en el sitio de la reacción de fase tardía de 24 horas, en la membrana basal del epitelio de biopsias de mucosa nasal y endobronquial y en fluido broncoalveolar de pacientes con asma extrínseca.<sup>24-25</sup> Estos hallazgos aportan evidencia de que las células Th2 específicas para el alérgeno se infiltran en la mucosa de 24 a 48 horas después de la inhalación del alérgeno.

La razón por la que los alérgenos solubles promueven la diferenciación de células Th2 no está esclarecida. La presencia en el microambiente de IL-4 en ausencia de IFN- $\gamma$ , o con bajas concentraciones, parece representar una condición favorable para el desarrollo de células Th2. En algunos estudios en ratones y en humanos se observó que la presencia de IL-4 en los sitios de presentación de antígeno es el factor dominante en la determinación de la polarización de las células Th2 en reposo.<sup>26,27</sup>

En la última década algunas moléculas de superficie se consideran asociadas con células Th2 humanas y éstas sufrieron cambios importantes. La CD30 (perteneciente a la familia de receptores de TNF)<sup>28-30</sup> se asocia con un perfil de secreción de citocinas tipo Th2 específicas de alérgeno, obtenidas de la circulación sanguínea de pacientes con enfermedad alérgica luego de la exposición del alérgeno; a pesar de que la CD30 fue la primera molécula que se informó como asociada con células Th2 su función aún no está dilucidada, se sabe que es un antígeno de superficie de 120 kDa que pertenece al receptor de la familia de los TNF y que participa regulando la diferenciación y supervivencia del linfocito T.<sup>31</sup> Los mismos autores encontraron que las células Th1 mostraban expresión baja o indetectable de la proteína CD30, mientras que las células Th2 expresaban grandes cantidades de CD30 en su superficie y liberaban cantidades de CD30 soluble detectables por ELISA en el suero de pacientes alérgicos.<sup>32</sup> Además, en pacientes asmáticos sensibilizados a polen de pasto con exposición estacional o perenne y con aparición de sintomatología alérgica (*Lol 1*), se observó que las células T CD4+CD30+ específicas para este alérgeno tenían producción de citocinas tipo Th2.<sup>33-35</sup>

En otro estudio que analizó la expresión de CD30 en células T CD4+ obtenidas de fluido de lavado broncoalveolar (LBA) de distintos procesos inflamatorios pulmonares no alérgicos, como fibrosis pulmonar idiopática, neumonitis por hipersensibilidad, neumonía eosinofílica y sarcoidosis, se encontró correlación entre las células T CD4+ y la expresión de IL-5 en el grupo de pacientes con neumonía eosinofílica, lo que señala la presencia de células Th2.<sup>36</sup> La CD30 parece involucrada en la vía de la diferenciación/activación de células Th2 y puede representar un marcador para células T productoras de citocinas tipo Th2.<sup>37,38</sup> La relación de la CD30 con células Th2 surgió de estudios realizados en padecimientos atópicos<sup>39-42</sup> en los que se demostró un incremento de la molécula pero en forma soluble, lo cual correlacionó con la actividad del padecimiento atópico. Esto se asoció más con padecimientos alérgicos con manifestación dermatológica que a padecimientos alérgicos con manifestación respiratoria. Sin embargo, Yamamoto y col.<sup>43</sup> demuestran incremento en la expresión de esta molécula en la superficie de células T CD4+ de pacientes con dermatitis atópica.

Otros estudios son contradictorios, por ejemplo, el de Petkova y col.<sup>44</sup> comparó la expresión de CD30 en células recuperadas del LBA de un grupo de pacientes con diversos padecimientos pulmonares considerados como Th2; estos investigadores no incluyendo el asma bronquial, no encuentran la expresión de CD30 en células Th productoras de IL-4 en el padecimiento pulmonar intersticial, representativo –según los autores– de una respuesta inmunitaria tipo Th2. Biswas y col.,<sup>45</sup> en un estudio similar, encuentran que las células T CD4+ que producen IL-4 son células CD3 $\gamma$ δ específicas de antígeno. Otros autores sugieren que la expresión de CD30 se encuentra en

células T y B activadas, aunque su función no se esclareció, se sugiere también que las señales celulares que involucran la CD30 pueden incrementar la susceptibilidad a sufrir apoptosis en las células efectoras. Entre estas señales celulares se encuentran las moléculas como el ligando de Fas (FasL), la caspasa 8, las perforinas, la granzima B y los dominios de muerte asociados a TNF (TRAD) y asociados a Fas (FADD). Otras señales celulares relacionadas con CD30 incluyen a la molécula c-myc, la cual regula la proliferación celular y la expresión de FasL y de CCR7, lo cual sugiere un papel importante del CD30 en el proceso de "homing" y apoptosis de linfocitos a los ganglios linfáticos.<sup>46-48</sup>

La CD62L (selectina L) fue propuesta por Kanegane y col.<sup>49</sup> como otro marcador para Th2, utilizando un modelo murino, la mayor expresión en células T CD4+ se encuentra relacionada con las células Th2. Yamashita y col.<sup>50</sup> determinaron mediante citometría de flujo la expresión de CD62L en células T CD4+ en sangre periférica de un grupo de pacientes con distintos procesos atópicos (asma alérgica, rinitis alérgica y dermatitis atópica) y los resultados mostraron que los pacientes con asma o con dermatitis expresan mayor proporción de CD62L. Mitra y col.,<sup>51</sup> en un modelo de lepra, encontraron células T CD4+ CD45RA- y CD11a<sup>dim</sup> asociadas con mayor expresión de CD62L en el tipo lepromatoso (predominio de células Th2), que en el tipo tuberculoide (predominio de células Th1). Las células T CD4+CD45RA- son CD11a<sup>brigh</sup> y CD62L son negativas, por lo cual los autores sugieren que la diferencia en la expresión de CD62L en células T CD4+ está relacionada con el fenotipo Th2.

La expresión de CCR3 también ha sido asociada con células Th2. Gerber y cols.,<sup>52</sup> al analizar la expresión de este receptor en clones de linfocitos T, encontraron que de 13 clones CCR3+, nueve de ellas secretaron niveles importantes de IL-4, de IL-5 o de ambas, lo que indica que el CCR3 predomina en células Th2. En este infome, las células T CCR3+ fueron detectadas por citometría de flujo e inmunohistoquímica en un grupo de pacientes con dermatitis alérgica, poliposis nasal o con colitis ulcerativa y no se detectaron en piel normal o en tejido sinovial de pacientes con artritis reumatoidea.

### Actualidad

Los marcadores de superficie celular propuestos con el fenotipo funcional Th1 y Th2 por diversos autores en los últimos dos años incluyen, para Th1: CD26, LAG-3, CCR5 y CXCR3; mientras que para Th2 se incluyen CD62L, CD30, CCR3, CCR4, CCR8, CXCR4 y, más recientemente, TRH2. Hasta la fecha no se encontró un marcador específico para las células Th2. Cabe señalar que en la mayoría de los casos se encontraron moléculas asociadas con células Th2 humanas durante ciertas fases en su proceso de diferenciación/activación y en ciertos padecimientos atópicos.<sup>53-56</sup> Es importante enfatizar que la distinción entre los subtipos de células Th1 y Th2 fue derivada de muchos estudios *in vitro* o de estudios con clones predefinidos.<sup>19-21,57-59</sup> Los protocolos basados en drogas que sean capaces de bloquear las señales coestimuladoras (familia B7 y CTLA4, CD28, CD40, CD40L) son ideales para inducir tolerancia, pero pueden ser difíciles para adaptar a un uso rutinario debido a la biodistribución de las moléculas administradas.<sup>60</sup>

### Controversias

Estudios recientes sugieren que los receptores de quimiocinas son los marcadores más relacionados con células Th2. Cosmi y col.<sup>56</sup> señalan que la combinación de varios de los receptores de quimiocinas puede ser marcador de células Th2, tanto *in vivo* como *in vitro*. Estos mismos autores,<sup>60</sup> en una revisión, refieren que CXCR3 no es capaz de discriminar entre células Th1 y Th2 y que CXCR4 no solamente está limitada a células Th2 sino también que se expresa en células Th1 y que CCR3 sólo se encontró ocasionalmente en una pequeña proporción de células Th2 que tuvieron contacto con el alérgeno, lo cual sugiere una participación efectora, más que un marcador fenotípico. Con respecto al receptor CCR3, no es exclusivo de células Th, ya que también se encuentra en eosinófilos, basófilos y células cebadas.<sup>61</sup> Sin embargo, algunos informes sobre alergia<sup>62</sup> señalan que este receptor de quimiocinas CCR3 inicia la respuesta aguda eosinofílica y la expresión de un gen denominado "Th2". Estos datos sugieren que las quimiocinas relacionadas con el tipo Th2, directa o indirectamente, pueden contribuir a la infiltración celular con cambios tisulares irreversibles en la denominada remodelación de la vía aérea en el asma bronquial.<sup>63-65</sup> Además, la quimiocina derivada del macrófago (MCD) producida por células Th2 y por células dendríticas interactúa con sus mismos receptores CCR4 de manera dependiente de IL-4 e IL-13, lo cual puede resultar en otro mecanismo de amplificación para la inflamación alérgica.<sup>60,66</sup> Esto también fue encontrado por otros autores, con las quimiocinas MCD y TARC al sobreexpresarse su receptor CCR4 en células Th2.<sup>67-69</sup> Los informes anteriores contribuyen a la idea de que el

reclutamiento de subtipos celulares Th2 por las quimiocinas mencionadas es un mecanismo dinámico y regulado temporalmente en los procesos que involucran la producción de citocinas tipo Th2. El mecanismo concuerda con la transmigración endotelial, en la que la eotaxina tiene un potente efecto como quimioatrayente de células Th2 mostrando así un papel fundamental en el proceso inflamatorio alérgico.<sup>70,71</sup> Berin y col.<sup>72</sup> encontraron un incremento significativo de los niveles de la quimiocina TARC en LBA de pacientes con asma bronquial alérgica, cuyo ligando es CCR4 y fue detectado mediante el ARNm en células Th2 del mismo fluido del LBA. Por otra parte, en una comparación de las células que expresaban receptores de quimiocinas, las células Th2 que expresaban CCR4 fueron consistentemente detectadas en circulación sanguínea de sujetos sanos, mientras que las células que expresaban CCR3 fueron detectadas en menor proporción y la molécula CRTH2 expresada en células T correspondió a células Th2 o Tc2, pero no a células Th0 o Tc0. Finalmente, los autores propusieron tras incluir padecimientos como dermatitis atópica y pacientes infectados con VIH, que el CRTH2 es el marcador más confiable para la detección de células Th2.<sup>56</sup> Cabe señalar que el mecanismo de reclutamiento de células T en el tejido inflamado se comprende vagamente, se sugirió que la quimiotaxis de subtipos celulares Th se genera por las quimiocinas y éstas a su vez por el tipo de alérgeno.<sup>73</sup> Sin embargo, en esta compleja regulación de la quimiotaxis preferencial de células Th1 o Th2 es dependiente de una extravasación potencial que a su vez constituye un aspecto crítico de estos subtipos celulares para el "homing", a través de señales hasta el momento desconocidas del tráfico celular.<sup>74</sup> Por lo anterior, desafortunadamente el paradigma Th1 vs.

Th2 no es tan claro en el humano como en los modelos murinos.

De hecho existe asociación entre la subpoblación de las células T de memoria CD4+ CD45RO+ para la producción de IgE y su implicación sobre el impacto en el sistema inmune humano que necesariamente presenta una visión de un esquema contemporáneo distinto.<sup>75</sup>

## Discusión

Con respecto a los factores responsables de la polarización de la respuesta inmunitaria hacia la respuesta Th1 o Th2 se sugiere en primer término que el resultado del desarrollo de modelos animales de las enfermedades humanas no sólo soporta la teoría Th1-Th2 sino que provee una terapia novedosa, al emplear antígenos parasitarios, para estimular respuesta Th2 como terapia antiinflamatoria, para restaurar el desequilibrio Th1.<sup>75</sup>

Otro grupo celular importante son las llamadas células tipo toll (grupo de células que no requieren una señal para activarse). Los receptores de estas células (TLR) han sido involucrados como moléculas clave en la inmunidad innata. Su activación por distintos ligandos endógenos y exógenos presentes en el microambiente celular juega un papel crítico en la defensa antimicrobiana. Sobre la base de estudios epidemiológicos y datos recientes se estableció además que los TLR juegan un papel en el desarrollo de respuesta Th2; sin embargo, es necesaria más información para entender el mecanismo por el cual los TLR participan en esta respuesta y su implicación en los perfiles de citocinas.<sup>76</sup>

Por otro lado, las células Th1 y Th2 no derivan de distintos linajes celulares sino que pueden derivarse del mismo precursor Th y, bajo la influencia de factores genéticos y medioambientales, polarizarse.<sup>75-76</sup> En relación con los factores genéticos recientemente se identificó la localización cromosómica de genes involucrados en la susceptibilidad al asma: McIntire y col.,<sup>77</sup> mediante una comparación de la homología entre el genoma humano y el murino, encontraron en el cromosoma humano 5, un locus de susceptibilidad para el asma bronquial y, dentro de la región denominada Tarp, localizaron la susceptibilidad a la producción de citocinas Th2. En la clonación de esta región los autores hallaron una familia de genes denominada TIM (1 al 3) que son glicoproteínas de superficie celular que pueden conferir susceptibilidad a desarrollar hiperreactividad bronquial mediada por células Th2, aunque se desconocen por ahora las vías de regulación.<sup>78</sup>

Las tendencias actuales para la comprensión del perfil Th2 se encaminan a los estudios genéticos, en el intento de encontrar grupos de genes específicos que codifiquen para estos subtipos celulares y su asociación con padecimientos alérgicos específicos; además de seguir explorando el papel que juegan otros grupos celulares como las células tipo toll en esta compleja respuesta.

Los autores no manifiestan conflictos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hjern A, Haglund B, Hedlin G. Ethnicity, childhood environment and atopic disorder. *Clin Exp Allergy* 2000;30:521-528.
2. Virant SF. Allergic Rhinitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2000;2:265-282.
3. Woolcock AJ, Peat JK. Evidence for the increase in asthma world wide. *Ciba Found Symp* 1997;206:122-134.
4. Shamissain MH, Shamsian N. Prevalence and severity of asthma, rhinitis, and atopic eczema in 13 to 14 year old schoolchildren from the northeast of England. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;86:428-432.
5. Hessel PA, Klaver J, Michaelchuck D, McGhan S, Carson MM, Melvin D. The epidemiology in childhood asthma in red deer and medicine hat, Alberta. *Can Respir J* 2001;8:139-146.
6. McNally N, Phillips DR, Williams HC. The problem of atopic eczema: aetiological clues from the environmental and lifestyles. *Soc Eci Med* 1998;46:729-741.
7. Romagnani S. Regulation and deregulation of human IgE synthesis. *Immunol Today* 1990;11:316-319
8. Vercelli D, Geha RS. Regulation of IgE synthesis in humans: a tale of Two signals. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:285-291.
9. Del Prete GF, Maggi E, Parrochi P, Chretien I, Tiri A, Macchia D, Ricci M, Banchereau J, de Vries J, Romagnani S. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 1988;140:4193-4197.
10. Pene JF, Rousset F, Briere F, Chretien I, Bonnefoy JY, Spits H, Yokota T, Arai N, Arai KI, Banchereau J, de Vries J. IgE Production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons- $\gamma$  and a prostaglandin E<sub>2</sub>. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:6880-6886.
11. Jabara HH, Fu SM, Geha RS, Vercelli D. CD40 and IgE: synergism between anti CD40 monoclonal antibody and interleukin 4 in the induction of IgE synthesis by highly purified human B cells. *J Exp Med* 1990; 172:1861-1866.
12. Gauchat JF, Lebman DA, Coffman RL, Gascan H, de Vries JE. Structure and expression of germline transcripts in human B cells induced by interleukin 4 to switch to IgE production. *J Exp Med* 1990;172:463-466.
13. Herzog RW, Dobrzynski E, Mammen EF, Van den Driessche T, Chuah M KI. Immune implications of gene therapy for hemophilia. *Sem Tromb Hemostasis* 2004; 30:215-226.
14. Weiner H L. Induction and mechanism of action of transforming growth factor beta secreting Th3 regulatory cell. *Immunol Rev* 2001; 182:207-214.
15. Punnonen J, Aversa G, Coks BG, McKenzie ANJ, Menon S, Zurawski G, De Waal Malefyt R, De Vries JE. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:3730-3735.
16. Parronchi P, Tiri A, Macchia D, De Carli M, Biswas P, Simonelli C, Maggi E, Del Prete GF, Ricci M, Romagnani S. Noncognate contact-dependent B cells activation can promote IL-4 dependent *in vitro* human IgE synthesis. *J Immunol* 1990;144:2102-2109.
17. Vercelli D, Jabara HH; Arai K, Geha RS. Induction of human IgE synthesis requires interleukin 4 and T/B cell interactions involving the T cell receptor/ CD3 complex and MHC Class II antigens. *J Exp Med* 1989;169:1295-1299.
18. Kay AB, Yin S, Varney V, Gaga M, Durham SR, Moqbel R, Wardlaw AJ, Hamid Q. Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3, IL-4, IL-5 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late phase cutaneous reactions in atopic subjects. *J Exp Med* 1991;173:775-779.
19. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone I. Definitions according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986;136:2348-2352.
20. Del Prete GF, Tiri A, De Carli M, Macchia D, Parronchi P, Rossi ME, Pietrogrande MC, Ricci M, Romagnani S. Defective *in vitro* production of interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  by circulating T cells from patients with hyper-IgE syndrome. *J Clin Invest* 1989;84:1830-1834.
21. Romagnani S, del Prete GF, Maggi E, Parronchi P, Tiri A, Macchia D, Giudizi MG, Almerigogna F, Ricci M. Role of interleukins in induction and regulation of human IgE synthesis. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;50:13-19.
22. Del Prete GF, De Carli M, D' Elios MM, Maestrelli P, Ricci M, Fabri L, Romagnani S. Allergen exposure induces the activation of allergen-specific Th2 cells in the airway mucosa of patients with allergy respiratory disorders. *Eur J Immunol* 1993;23:1445-1449.
23. Hamid Q, Azzawi M, Ying S, Moqbel R, Waedlaw AJ, Corrigan CJ, Bradley B, Durham SR, Collins JV, Jeffrey PK, Quint DJ, Kay AB. Expression of mRNA for interleukin-5 in mucosal bronchial biopsies from asthma. *J Clin Invest* 1991;87:1541-1546.
24. Maggi E, Biswas P, Del Prete GF, Parronchi P, Macchia D, Simonelli C, Emmi L, De Carli M, Tiri A, Ricci M, Romagnani S. Accumulation of Th2 like helper T cells in the conjunctiva of patients with vernal conjunctivitis. *J Immunol* 1991;146:1169-1172.
25. Van der Heijden FL, Wierenga EA, Bos JD, Kapsenberg ML. High frequency of IL-4 producing CD4+ allergen-specific T lymphocytes in atopic dermatitis lesional skin. *J Invest Dermatol* 1991;97:389-394.
26. KleiJan A, Dijkstra M, Boks S, Severijnen L, Mulder P, Fokkens W. Increased IL- 8, IL-10, IL-13 and RANTES mRNA levels (in situ hybridization in the nasal mucosa after allergen provocation) *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:441-450.
27. Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkan J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB. Predominant Th2-like broncholar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* 1992;326:298-302.
28. Romagnani S. Human Th1 and Th2: Doubt no more. *Immunol Today* 1991;12:256-259.
29. Parronchi P, De Carli M, Manetti R, Simonelli C, Piccinni MP, Macchia D, Maggi E, Del Prete GF, Ricci M, Romagnani S. Aberrant interleukin (IL-4) and IL-5 production in vitro by CD4+ helper T cells from atopic subjects. *Eur J Immunol* 1992;22:1615-1619.
30. Seder R, Paul WE, Davis MM, Fazekas de St. Grouth B. The presence of interleukin 4 during *in vitro* priming determines the lymphokine-producing potential CD4+ T cells from T-cell receptor transgenic mice. *J Exp Med* 1992;176:1091.
31. Durkop H, Latza U, Hummel M, Eitelbach F, Seed B, Stein H. Molecular cloning and expression of a new member of the nerve growth factor receptor family wich is characteristic for Hoddking's disease. *Cell* 1992;68:1128-1132.
32. Josimovic-Alsevic O, Durkop H, Schwarting REB, et al. Ki-1 (CD30) antigen is released by Ki-1-positive tumor cells in vitro

- and in vivo. I. Partial characterization of soluble Ki-1 and detection of the antigen in cell culture supernatants and in serum by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Eur J Immunol* 1998;19:157-162.
33. Romagnani S, Del Prete G, Maggi E, Chilosi M, Caligaris-Cappio F, Pizzolo G. CD30 and type 2 T helper (Th2) responses. *J Leukoc Biol* 1995;57:726-730.
  34. Parronchi P, De Carli M, Manetti R, Simonelli C, Piccini MP, Macchia D, Maggi E, Del Prete GF, Ricci M, Romagnani S. Aberrant interleukin (IL)-4 and IL-5 production in vitro by CD4+ helper T cells from atopic subjects. *Eur J Immunol* 1993;22:1615-1619.
  35. Del Prete GF, De Carli M, Almerigogna F, Daniel CK, D'Elios MM, Zancuoghi G, Vinante F, Pizzolo G, Romagnani S. Preferential expression of CD30 by human CD4+ T cells producing Th2 type cytokines. *FASEB J* 1995;9:81-86.
  36. Maggi E, Parronchi P, Manetti R, Simonelli C, Piccini MP, Santoni-Rugiu F, De Carli M, Ricci M, Romagnani S. Reciprocal regulatory role of IFN and IL-4 on the *in vitro* development of human Th1 and Th2 cells. *J Immunol* 1992;148:2142-2146.
  37. Leonard C, Tormey V, Faul J, Burke CM, Poulter LW. Allergen-induced CD30 expression on T cells of atopic asthmatics. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:780-786.
  38. Pretkova D, Xaubet A, Picado C, Fillela X, Agusti C, Luburich P, Rodriguez- Roisin R. Evaluation of CD30 as a marker for Th2 lymphocytes in bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Respir Med* 2000;94:345-349.
  39. Dummer W, Rose C, Brocker EB. Expression of CD30 on T helper cells in the inflammatory infiltrate of acute atopic dermatitis but not of allergic contact dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1998;290:598-602.
  40. Nakamura T, Lee RK, Nam SY, Al-Ramadi BK, Bottomly K, Podak ER, Flavell RA. Reciprocal regulation of CD30 expression on CD4+ T cells by IL-4 and IFN-gamma. *J Immunol* 1997;158:2090-2098.
  41. Dummer W, Rose C, Brocker EB. Expression of CD30 on T helper cells in the inflammatory infiltrate of acute atopic dermatitis but not of allergic contact dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1998;290:598-602.
  42. Dummer W, Brocker EB, Bastian BC. Elevated serum levels of soluble CD30 are associated with atopic dermatitis, but not with respiratory atopic disorders and allergic contact dermatitis. *Br J Dermatol* 1997;137:185-187.
  43. Dummer W, Rose C, Brocker EB. Expression of CD30 on T helper cells in the inflammatory infiltrate of acute atopic dermatitis but not of allergic contact dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1998;290:598-602.
  44. Begtsson A, Holm L, Back O, et al Elevated serum levels of soluble CD30 in patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 1997;109:533-537.
  45. Yamamoto JY, Onoue YA, Kanegane H, et al. CD30 expression on circulating memory CD4+ T cells as a Th2-dominated situation in patients with atopic dermatitis. *Allergy* 2000;55:1011-1018.
  46. Petkova D, Xaubet A, Picado C, Filella X, Agusti C, Luburich P, Rodriguez-Roisin R. Evaluation of CD30 as a marker for Th2 lymphocytes in bronchoalveolar lavage in interstitial lung diseases. *Respir Med* 2000;94:345-349.
  47. Biswas P, Rovere P, Filippi C, Heltai S, Smith C, Dagna L, Poli G, Manfredi A, Ferrarini M. Engagement of CD30 shapes the secretion of cytokines by human T cells. *Eur J Immunol* 2000;30:2172-2180.
  48. Muta H, Boise LH, Fang L, Podack ER. CD30 signals integrate expression of cytotoxic effector molecules, lymphocytes trafficking, and signals for proliferation and apoptosis. *J Immunol* 2000;165:5105-5111.
  49. Gerli R, Lunardi C, Vinante F, Bistoni O, Pizzolo G, Pitzalis C. Role of CD30+ T cells in rheumatoid arthritis: a counter regulatory paradigm for Th1 driven diseases. *Trends Immunol* 2001;22:72-77.
  50. Li XD, Essayan DM, Liu MC, Beaty TH, Huang SK. Profiling of differential gene expression in activated, allergen specific Th2 cells. *Genes Immunol* 2001;2:88.
  51. Kanegane HY, Kasahara Y, Niida Y, Yachie A, Suggi S, Takatsu K, Taniguchi N, Miyawaki T. Expression of L-selectin (CD62L) discriminates Th1-and Th2-like cytokine-producing memory CD4+ T cells. *Immunology* 1996;87:186-190.
  52. Yamashita H, Tanno Y. Expression of L-selectin on peripheral memory CD4+ T cells in atopic diseases. *Arerugi* 1998;47:1168-1175.
  53. Mitra DK, De Rosa SC, Luke A, Balamurugan A, Khaitan BK, Tung J, Mehra NK, Terr AI, O'Garra A, Herzenberg LA, Roederer M. Differential representations of memory T cell subsets are characteristic of polarized immunity in leprosy and atopic diseases. *Int Immunol* 1999;11:1801-1810.
  54. Gerber GO, Zanni M, Uguccioni M, Mackay CR, Pichler WJ, Yawalkar N, Baggiolini M, Moser B. Functional expression of eotaxin receptor CCR3 in T lymphocytes co-localizing with eosinophils. *Current Biology* 1997;7:836-843.
  55. Campbell JD, Hay Glass KT. T cell chemokine receptor expression in human Th1 and Th2 associated diseases. *Arch Immunol Ther Exp* 2000;48:451-456.
  56. Annunziato F, Galli G, Cosmi L, Romagnani P, Mannetti R, Maggi E, Romagnani S. Molecules Associated with human Th1 or Th2 cells. *Eur Cytokine Netw* 1998;9:12-16.
  57. Annunziato F, Cosmi L, Galli G, Beltrame C, Romagnani P, Manetti R, Romagnani S, Maggi E. Assessment of chemokine receptor expression by human Th1 and Th2 in vitro and in vivo. *J Leukoc Biol* 1999;65:691-699.
  58. Cosmi L, Annunziato F, Galli MIG, Maggi RME, Nagata K, Romagnani S. CRTH2 is the most reliable marker for the detection of circulating human type 2 Th and type 2 T cytotoxic cells in health and disease. *Eur J Immunol* 2000;30:2972-2972.
  59. Romagnani S. The Th1/Th2 Paradigm. *Immunol Today* 1997;18: 263-266.
  60. Rossi G, Sarkar J, Scandella D. Long-term induction of immune tolerance after blockade of CD40-CD40L interaction in a mouse model of hemophilia A. *Blood* 2001; 97:2750- 2757.
  61. Moverare R, Elfman L, Stalenheim G, Bjornsson E. Study of the Th1/Th2 balance, including IL-10 production, in cultures of peripheral blood mononuclear cells from birch-pollen-allergic patients. *Allergy* 2000;55:171-175.
  62. Romagnani S. Regulation of the development of type 2 T-helper cells in allergy. *Curr Opin Immunol* 1994;6:838.
  63. Cosmi L, Annunziato F, Maggi E, Romagnani S manetti R. Chemoattractant receptors expressed on type 2 T cells and their roll in disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;125:273-279.
  64. Shelburne CP, Ryan JJ. The role of Th2 cytokines in mast cell homeostasis. *Immunol Rev* 2001;179:82-93.
  65. Lensmar C, Prieto J, Dahlén B, Eklund A, Grunewald J, Roquet A. Airway inflammation and altered alveolar macrophage phenotype pattern after repeated low-dose allergen exposure of atopic asthmatic subjects. *Clin. Exp. Allergy* 1998; 29:1632-1640.

66. Moffat M, Cookson W. Genetics of asthma and inflammation: the status. *Curr. Op. Immunol.* 1999;11:606-609.
67. Lensmar C, Prieto J, Dahlén B, Eklund A, Grunewald J, Roquet A. Airway inflammation and altered alveolar macrophage phenotype pattern after repeated low-dose allergen exposure of atopic asthmatic subjects. *Clin. Exp. Allergy* 1998; 29:1632-1640.
68. Shelburne CP, Ryan JJ. The role of Th2 cytokines in mast cell homeostasis. *Immunol Rev* 2001;179:82-93.
69. Aarvak T, Strand E, Teigland J, Miossec P, Natving JB. Swtch in chemokine receptor phenotype on memory on memory T cells without a change in cytokine phenotype. *Scand J Immunol* 2001;54:100-108.
70. Abi-Younes S, Si-Tahar M, Luster AD. The CC chemokines MCD and TARC induce platelet activation via CCR4. *Thromb Res* 2001;101:279-289.
71. Bayscal C, Atilgan AR. Elucidating the structural mechanisms for biological activity of the chemokine family. *Proteins* 2001;43:150-160.
72. Lellem A, Colantonio L, Bhakta S, Sozzani S, Mantovani A, Sinigaglia F, D'Ambrosio D. Inhibition by IL-12 and IFN-alpha and macrophage derived chemokine production upon TCR triggering of human Th1 cells. *Eur J Immunol* 2000;30:1030-1039.
73. D'Ambrosio D, Lellem A, Colantonio L, Clissi B, Pardi R, Sinigaglia F. Localization of Th cell subsets in inflammation: differential thresholds for extravasations of Th1 and Th2 cells. *Immunol Today* 2000;105:399-408.
74. Hagel I, Di Prisco M C, Goldblatt J, Le Souef P N. The role of parasites in Genetic Susceptibility to Allergy: IgE, Helminthic Infection and the evolution of the Human Immune System. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2004; 26:75-84.
75. Whary MT, Fox JG. Th1 mediated pathology in mouse models of human diseases is ameliorated by concurrent Th2 responses to parasite antigens. *Curr Top Med Chem;* 2004; 4:531-8.
76. Gangloff S C, Guenounou M. Toll- Like receptors and Immune Response in Allergic Disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2004; 26:115-126.
77. Prescott S, Macaubas C, Smallacombe T, Holt B, Sly P, Holt P. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet.* 1999,353:196-200.
78. Berin CM, Eckman L, Broide DH, Kagnoff MF. Regulated production of the T helper 2-type T-cell chemoattractant TARC by human bronchial epithelial cells *in vitro* and in human lung xenografts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:382-389.
79. Terada N, Hamano N, Kim WJ, Hirai K, Kakajima T, Yamada H, Kawasaki H, Yamashita T, Kishi H, Nomura T, Numata T, Yoshie O, Konno A. The kinetics of allergen-induced eotaxin level in nasal lavage fluid its key role in eosinophil recruitment in nasal mucosa. *Am J Crit Care Med* 2001;164:575-579.
80. Fernandez EJ, Wilken J, Thompson DA, Peiper SC, Lolis E. Comparison of the structure of vMIP-II with eotaxin-1 RANTES, and MCP-3 suggest a unique mechanism for CCR3 activation. *Biochemistry* 2000;34:12837-12844.
81. Palmer L, Cookson WO, Genomic approaches to understanding asthma. *Genome Res* 2000;10:1280-1287.
82. Bellinghausen I, Brand U, Enk A, Knop J, Saloga J. Signals involved in the early Th1/Th2 polarization of an immune response depending on the type of antigen. *J allergy Clin Immunol* 1999;103:298-306.
83. McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, Potter M, Kuckroo VK, Barsh GS, Freeman JG, Umetsu DT, DeKruyff RH. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family. *Nature Immunology* 2001;2:1109-1116.
84. Karp MW. Asthma genetics: not for the Timid?. *Nature Immunology* 2001;2:1095-1096.