

Tinjauan Ulang Hipotesis Higiene

(The Hygiene Hypothesis Revisited)

Anang Endaryanto

*Divisi Alergi Imunologi Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr.Soetomo
Surabaya-Indonesia*

ABSTRAK

Latar Belakang: Hipotesis higiene mendalilkan bahwa infeksi memberikan perlindungan terhadap alergi. Hubungan terbalik antara infeksi dan alergi belum banyak dikonfirmasi secara langsung oleh studi epidemiologi. Belum ada *review* yang konsisten tentang hal ini. **Tujuan:** Tulisan ini memberikan informasi dan analisis mengenai berbagai hasil penelitian yang relevan dalam rangka memberi gambaran tentang peran Hipotesis higiene pada alergi. **Telaah Kepustakaan:** Ditemukan kesesuaian hipotesis higiene dengan fakta klinis dan epidemiologis masa kini; serta relevansi konsep keseimbangan respons imun Th1/Th2 dalam hubungan antara infeksi dengan penyakit alergi saat ini setelah adanya temuan baru tentang respons imun Treg, Th17, Th9, serta Th22. **Simpulan:** Hipotesis Higiene menjadi salah satu cara untuk menjelaskan perubahan global terbaru dalam prevalensi alergi, teori mengenai imunopatogenesis lebih lanjut yang konsisten dengan bukti epidemiologi masih diperlukan.

Kata kunci: hipotesis higiene, alergi, imunologi, infeksi.

ABSTRACT

Background: The hygiene hypothesis postulates that infections may provide protection towards allergies. However, there is still a lack of epidemiological studies regarding the inversed relationship between infections and allergies. Furthermore, there are no consistent reviews found regarding this matter. **Purpose:** This review aims to give information and analysis on various researches in this field in order to illustrate the role of hand Hipotesis Higiene in allergy. **Review:** A congruity between the hygiene hypothesis with current global clinical and epidemiological data was found; along with the relevance of the Th1/Th2 immune response balance concept in the relationship between infection with the current allergic disease after new findings of Treg, Th17, Th9, and Th22 immune responses. **Conclusion:** The hygiene hypothesis became one of several ways to explain the recent shift in the prevalence of allergies. Further research regarding the immunopathogenesis of allergies which are consistent with the epidemiological data is still needed.

Keywords: hygiene hypothesis, allergy, immunology, infection.

Alamat korespondensi: Anang Endaryanto, Divisi Alergi Imunologi Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr.Soetomo Surabaya-Indonesia, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo No. 6-8 Surabaya, 60131, Indonesia. Telepon: +62811327431. e-mail: aendaryanto.ae@gmail.com

PENDAHULUAN

Hipotesis higiene adalah hipotesis yang menyatakan bahwa berkurangnya pajanan infeksi bakteri, mikroflora usus, dan parasit pada anak usia dini dapat meningkatkan kerentanan terhadap penyakit alergi. Hipotesis higiene mendalilkan bahwa infeksi memberikan perlindungan terhadap alergi. Hipotesis ini secara imunologis dianggap masuk akal dan konsisten dengan gambaran epidemiologi penyakit alergi. Namun, asma nonalergi menunjukkan pola epidemiologi yang berbeda dengan penyakit

alergi. Hubungan terbalik antara infeksi dan alergi belum banyak dikonfirmasi secara langsung oleh penelitian epidemiologi. Data yang tersedia tidak konsisten dan tidak meyakinkan. Hubungan terbalik antara jumlah anggota keluarga dengan sensitisasi alergi tetap misterius namun tetap berguna dalam upaya mengetahui penyebab meningkatnya prevalensi penyakit alergi pada masyarakat Barat.¹

Telah terjadi peningkatan yang dramatis pada beberapa dekade terakhir dalam prevalensi asma dan alergi secara global. Peningkatan yang dramatis

terutama terjadi di negara-negara kaya atau negara-negara Barat, meskipun kenaikan yang serupa juga terjadi di negara-negara berpenghasilan rendah.² Penjelasan untuk peningkatan prevalensi asma dan alergi tersebut (walaupun penurunan juga dilaporkan di beberapa daerah) belum tuntas. Perubahan genetik tidak mungkin menjadi penyebabnya karena rentang waktu kenaikannya relatif singkat. Peningkatan prevalensi asma dan alergi sangat kontras dengan penurunan prevalensi penyakit menular. Penurunan penyakit menular merupakan akibat dari peningkatan upaya-upaya kesehatan masyarakat, kemajuan teknologi pengobatan infeksi, vaksinasi, dan program-program kebersihan. Penurunan pajanan mikroorganisme menular inilah yang telah dihipotesiskan sebagai penyebab epidemi alergi dan asma,³ dan hipotesis ini kemudian terkenal sebagai hipotesis higiene. Istilah hipotesis higiene awalnya dipicu oleh adanya bukti-bukti bahwa kepadatan penduduk, kondisi higienis, dan ukuran keluarga yang lebih besar berkorelasi dengan rendahnya prevalensi penyakit alergi seperti: eksim, demam, *hay fever*, dan, asma.⁴

TELAAH KEPUSTAKAAN

Hipotesis higiene mendalilkan bahwa infeksi memberikan perlindungan terhadap alergi, yang dalam banyak hal masih dianggap masuk akal dan konsisten dengan gambaran epidemiologis yang terkait penyakit infeksi dan penyakit alergi bila dikaji dari hasil-hasil penelitian yang sudah dilakukan. Yang pertama adalah penelitian modulasi mikrob (baik secara langsung atau tidak langsung) pada sel T-reg dapat menurunkan ekspresi imunitas baik Th1 maupun Th2. Pada fetus yang ibunya tinggal di daerah pertanian, terjadi peningkatan sel Treg FoxP3+ dalam darah tali pusat.⁵ Selanjutnya adalah penelitian pemberian probiotik *Lactobacillus paracasei* NCC2461 pada masa perinatal mencegah reaksi alergi pada masa anak melalui sinyal TLR2/4 yang dikaitkan dan dikaitkan dengan peningkatan ekspresi RNA FoxP3+ dalam paru-paru.⁶

Pajanan bakteri di saluran nafas dapat melindungi individu dari alergi melalui mekanisme yang dimediasi oleh TLR4, tanpa melalui induksi sel T-reg maupun Th1 tetapi melalui perubahan status aktivasi sel DC.⁷ Pajanan mikrob juga dapat melindungi individu dari asma nonalergi. Selain itu, pajanan bakteri di awal kehidupan dapat memodulasi kekebalan yang memadai untuk menanggapi infeksi. Pajanan komponen mikrob pada awal kehidupan berkorelasi dengan kolonisasi bakteri patogenik dan nonpatogenik (seperti *Lactobacillus*) di saluran nafas,

peningkatan ekspresi TLR2,4,9, serta penurunan perekrutan neutrofil.⁸

Kejadian sindrom *croup* (OR 0,3; 95% CI, 0,12-0,72) dan infeksi telinga berulang (OR 0,58; 95% CI 0,35-0,98) dalam 12 bulan pertama kehidupan berbanding terbalik dengan kejadian alergi, sementara kejadian bronchiolitis berbanding lurus dengan kejadian asma (OR 2,77; 95% CI 1,23-6,22).⁹ Penelitian lain mengenai efek proteksi terhadap alergi ternyata tidak hanya terjadi pada pajanan mikrob atau virus, namun juga terjadi pada infeksi cacing *Schistosoma mansoni*.¹⁰ Penelitian dengan populasi yang besar pada anak usia sekolah yang meneliti efek infeksi cacing kronis pada alergi,¹¹ pengobatan anticacing berhubungan dengan peningkatan dua kali lipat prevalensi reaktivitas tes kulit dengan alergen dan peningkatan prevalensi eksim, namun tidak berhubungan dengan peningkatan asma atau rinokonjungtivitis.

Penelitian di pedesaan dan perkotaan telah melaporkan adanya hubungan terbalik antara tingkat endotoksin dalam ruangan dengan sensitivitas alergi dan asma.¹² Fakta itu juga didukung oleh hasil riset *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* fase II (gabungan seluruh Negara), yang menunjukkan tingkat endotoksin rumah tangga yang berbanding terbalik dengan asma (OR 0,53; 95% CI 0,29-0,96), namun besarnya hubungan tersebut jauh lebih lemah setelah dilakukan penyesuaian untuk jenis kelamin, riwayat alergi orangtua, pajanan kucing, dan pajanan tungau debu rumah.¹³ Pajanan komponen yang lain dari mikrob, seperti: bakteri CpG, peptidoglikan,¹⁴ polisakarida ekstraseluler dan 1-3 b-d-glukan jamur juga bersifat protektif, tetapi bukti-bukti epidemiologi masih terbatas. Namun demikian, beberapa penelitian menunjukkan efek protektif komponen mikrob terhadap alergi pada binatang coba. Misalnya, agonis Toll-like receptors (TLR) 9 menghambat asma,¹⁵ dan pemberian vaksin berupa ligan TLR2 atau 4 intranasal memproteksi alergi saluran napas.¹⁶

Asam lemak rantai pendek yang diproduksi oleh fermentasi bakteri dari serat makanan, memainkan peran dalam imunoregulasi usus dan telah terbukti mengurangi peradangan karena alergi di saluran napas melalui interaksi antara SCFA dengan reseptor protein G.¹⁷ Pajanan spesies mikrob yang beranekaragam lebih memiliki efek protektif dibandingkan pajanan satu spesies mikrob tertentu. Ege dan kawan-kawan menunjukkan bahwa keragaman mikroorganisme lingkungan pada individu yang hidup di pedesaan menjelaskan hubungan terbalik antara lingkungan pertanian dan asma.¹⁸ Debu rumah yang diperoleh dari rumah di Karelia

Rusia (yang prevalensi alerginya rendah) mengandung lebih banyak bakteri Gram-positif (mungkin berasal dari hewan) dibandingkan debu rumah di daerah tetangganya di Karelia Finlandia (yang prevalensi alerginya tinggi) di mana sampel debu rumah mengandung lebih banyak Gram-negatif dan Proteobacteria.¹⁹ Prevalensi alergi dan asma pada anak-anak penghuni pusat penitipan anak lebih rendah dan hal itu terbukti berhubungan dengan keragaman bakteri, serta keberadaan kucing dan anjing.²⁰

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa dibandingkan dengan individu alergi, individu non alergi memiliki keragaman yang lebih tinggi terhadap pajanan mikroorganisme, jenis tumbuhan sekitar rumah, serta *Proteobacteria gamma* di kulit. Masih belum jelas faktor-faktor apa saja yang paling penting, tetapi pajanan mikrob memainkan peran penting baik melalui pajanan per oral (*Lactobacillus*, khususnya melalui susu segar) maupun inhalasi (endotoksin dan komponen mikrob lainnya).²¹

Beberapa penelitian melaporkan prevalensi alergi dan asma yang rendah pada anak-anak petani baik yang berpenghasilan tinggi maupun yang berpenghasilan rendah.²²⁻³ Efek protektif ini juga terjadi pada petani dewasa,^{22,24} meskipun juga ada peningkatan risiko penyakit pernapasan lainnya yang non alergi seperti penyakit paru obstruktif kronik. Efek protektif sangat kuat terhadap alergi dan asma pada daerah pertanian terkait adanya kontak hewan peliharaan,^{22,24} atau konsumsi susu yang tidak dipasteurisasi dari peternakan.²³ Efek protektif sangat kuat terhadap alergi dan asma pada daerah pertanian terkait adanya kontak dengan beberapa jenis hewan peliharaan. Pada suatu penelitian kohor kelahiran diketahui bahwa anak-anak dari orang tua alergi yang memiliki dua hewan peliharaan (misalnya anjing dan kucing) memiliki kecenderungan lebih rendah menderita alergi dan asma pada usia 13 tahun dibandingkan dengan yang memiliki hanya satu hewan peliharaan. Di Guinea-Bissau dan Nepal juga menunjukkan bahwa kepemilikan babi dan sapi di rumah berhubungan terbalik dengan kecenderungan alergi.²⁵ Efek protektif terhadap alergi dan asma pada daerah pertanian tergantung pada jenis usaha pertaniannya. Ege dan kawan-kawan, melaporkan bahwa kecenderungan menderita asma alergi berbanding terbalik keberadaan hewan piaraan dan konsumsi susu segar.²⁶ Hal ini konsisten dengan pengamatan bahwa adanya kontak hewan pada anak petani memberikan perlindungan terhadap alergi dan asma, dan diduga hal itu terjadi karena meningkatnya pajanan mikrob.²⁷

Konsumsi *Lactobacillus* terkait dengan susu segar sangat penting karena *Lactobacillus* dapat berkoloni pada usus manusia dan terlibat dalam immunomodulasi dalam perkembangan sistem kekebalan. Demikian juga perubahan mikroflora lain dari usus juga memainkan peran penting.²⁸ Berkurangnya keanekaragaman hayati usus selama masa bayi berhubungan dengan peningkatan kecenderungan alergi pada usia sekolah. Keragaman yang rendah dari mikrobiota usus pada bayi (pengurangan *Bacteroidetes* dan *Proteobacteria*) terutama pada satu bulan pertama kehidupan berhubungan dengan dermatitis atopik.²⁹ Perubahan flora usus mencit oleh antibiotik akan meningkatkan kerentanan terhadap alergi saluran napas.³⁰

Komposisi flora usus ibu berhubungan kejadian asma pada bayi. Bayi dapat terpapar flora normal secara langsung maupun transfer dari ibu.³¹ Pajanan bakteri *Acinetobacter lwoffii* F78 pada ibu hamil (model hewan coba mencit) akan memproteksi bayinya dari alergi melalui proses epigenetik³² melalui sinyal TLR dari ibu.³³ Pajanan mikrobiota komensal sangat penting untuk pengembangan kekebalan tubuh. Tidak adanya mikrobiota komensal menyebabkan perubahan dalam sel penyaji-alergen (APC). Sebuah studi menunjukkan bahwa mikrobiota komensal menyebabkan perubahan dalam ekspresi gen kekebalan terkait. Perubahan dalam koloni mikrobiota usus terbukti akan mengubah ekspresi ratusan gen, khususnya gen yang terlibat dalam induksi interferon 1 (IFN-1).³⁴ Penurunan pajanan mikrobiota usus berkorelasi dengan ekspansi sel (iNKTs) sel dalam lamina propria kolon dan paru-paru, yang berkorelasi dengan peningkatan kecenderungan reaksi alergi di saluran napas alergi dan saluran cerna. Interaksi antara mikrobiota dan sel innate (seperti iNKTs) penting proteksi terhadap alergi dan asma, meskipun saat ini belum jelas bagaimana hubungannya dengan alergi dan asma pada manusia.³⁴

Temuan epidemiologi sebelumnya yang menunjukkan bahwa kehadiran tempat penitipan anak dan adanya kontak dengan hewan peternakan berkorelasi negatif dengan alergi dan asma telah direplikasi di Amerika Latin (Chili) dengan hasil yang sama.³⁵ Saat ini model hubungan terbalik antara infeksi dan alergi seperti yang didalilkan hipotesis higiene tampaknya terlalu sederhana, salah satu contohnya adalah infeksi parasit yang berhubungan dengan respons imun Th2 yang kuat ternyata melindungi individu terhadap penyakit alergi. Beberapa informasi lain dari berbagai riset membuktikan bahwa hipotesis higiene tidak selalu

konsisten atau tidak selalu meyakinkan, sebagaimana digambarkan oleh berbagai hasil-hasil penelitian yang sudah dilakukan. Dikatakan bahwa pajanan endotoksin telah terbukti berhubungan dengan penurunan produksi sitokin-sitokin IFN-, TNF-, interleukin (IL) 12, dan IL-10 oleh leukosit darah perifer, yang mana lebih menunjukkan kecenderungan yang lebih kearah penurunan lingkungan sitokin Th1 daripada kearah peningkatan sitokin Th.³⁶ Sementara itu ada bukti yang menunjukkan bahwa pengubahan dosis pajanan PAMP (misalnya, endotoksin) akan mengubah keseimbangan Th1-Th2.³⁷

Meskipun data saat ini mendukung pendapat yang menyatakan bahwa pajanan mikrob berhubungan dengan penurunan risiko alergi dan asma, namun juga ada bukti bahwa pajanan mikrob berhubungan dengan penurunan risiko asma non alergi. Ketika meneliti efek dari pajanan pertanian pada asma dan alergi, Riedler *et.al.*²³ melaporkan adanya penurunan dari risiko asma (1%; 3/241) pada anak-anak non alergi yang secara teratur terpapar kandang peternakan dibandingkan dengan 4% (17/399) pada mereka yang tidak (P=0,034). Penelitian berikutnya,³⁸ mereproduksi temuan tersebut dengan menunjukkan bahwa pertanian meningkatkan proteksi terhadap asma non alergi (OR 0,45; 95% CI 0,32-0,63).

Sebuah penelitian mengatakan bahwa terdapat kolonisasi *Mycoplasma* dan spesies Klamidia pada beberapa penderita asma.³⁹ Infeksi bakteri kronis bertanggung jawab langsung setidaknya pada sebagian kecil dari asma non alergi, meskipun masih harus dilihat apakah mereka penyebab atau efek dari proses asma. Dua jenis cacing yaitu *Ascaris* dan *Trichuris* pada satu penelitian diketahui tidak memiliki efek proteksi terhadap alergi.⁴⁰ Namun, beberapa penelitian lain membuktikan bahwa program pemberantasan cacing berhubungan dengan peningkatan sensitisasi alergi.^{10,41}

Data yang tersedia mengenai hubungan terbalik endotoksin dengan alergi tidak konsisten. Sebagai contoh, di salah satu kelompok kohor kelahiran ditemukan bahwa pajanan awal endotoksin berhubungan dengan peningkatan risiko alergi pada usia 2 tahun,⁴² sedangkan dua kelompok kohor kelahiran yang sama menunjukkan efek perlindungan pada alergipada usia 2 tahun dan perlindungan asma pada usia 4 tahun.⁴² Di lingkungan perkotaan, pajanan endotoksin juga terbukti menjadi faktor risiko asma.⁴³ Pajanan bakteri patogenik memiliki efek yang berbeda pada perkembangan alergi dan asma. Sebuah kohor kelahiran menunjukkan bahwa pajanan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif berbanding terbalik

dengan perkembangan asma,¹⁷ sedangkan pajanan bakteri Gram negatif berbanding lurus dengan perkembangan sensitisasi alergi.

Konsep hipotesis higiene yang asli menganggap bahwa pada penurunan pajanan mikrob, respons imun alergi akan dimodulasi, sehingga kejadian alergi dan asma alergi menurun. Jika benar, maka efek protektif yang paling menonjol adalah pada kasus asma alergidan eksim. Namun, ada bukti bahwa prevalensi asma non alergi telah meningkat melebihi asma alergi.⁴⁴ Fakta bahwa pajanan pertanian juga dapat melindungi asma non- alergi, menunjukkan bahwa pajanan mikrob tidak hanya mempengaruhi prevalensi alergi. Dalam survei dengan populasi anak-anak prasekolah, peningkatan prevalensi asma tidak hanya ditemukan hanya pada pola asma klasik tetapi asma yang diinduksi oleh virus.⁴⁵ Dengan demikian, konsep hipotesis higiene tidak sepenuhnya dapat menjelaskan baik mengenai kecenderungan asma saat ini maupun mengenai mekanisme melalui mana efek protektif mikrob terhadap respons imun alergi.

Prevalensi asma di negara-negara Barat sudah mulai menurun pada anak-anak⁴⁶ dan orang dewasa,⁴⁷ tetapi tidak mungkin kita menganggap bahwa negara-negara ini menjadi semakin kurang bersih,⁴⁸ dan yang pasti tidak ada bukti bahwa jumlah anggota keluarga semakin meningkat. Meskipun kondisi perumahan di Amerika Serikat menjadi lebih higienis pada populasi dalam kota, prevalensi asma telah meningkat secara signifikan pada mereka yang berasal dari ras Afrika - Amerika yang hidup dalam kemiskinan.⁴⁸ Penelitian pada infeksi tertentu dengan risiko asma belum menunjukkan efek perlindungan yang konsisten. Juga, prevalensi asma yang menurun tidak sejalan dengan prevalensi eksim alergi dan alergi makanan yang terus meningkat.⁴⁹ Prevalensi asma tinggi di Amerika Latin yang memiliki tingkat infeksi rendah. Sedangkan di Spanyol dan Portugal yang tingkat infeksinya juga rendah memiliki prevalensi asma yang rendah.⁵⁰

Hipotesis higiene umumnya menjelaskan bahwa efek perlindungan dari pajanan mikrob pada awal kehidupan menghasilkan manfaat kesehatan jangka panjang, namun penelitian terbaru menunjukkan bahwa pajanan mikrob sepanjang hidup sangat penting.^{22,51} Pajanan jangka panjang dan pajanan terus-menerus mungkin diperlukan untuk mempertahankan perlindungan optimal.

PEMBAHASAN

Konsep Hipotesis higiene awalnya dijelaskan melalui keseimbangan Th1/Th2, misalnya bila individu tumbuh di lingkungan yang lebih higienis dengan pajanan mikrob yang kurang akan terjadi

peningkatan respons imun alergi (Th2), sedangkan bila individu tumbuh di lingkungan dengan pajanan mikrob yang tinggi akan terdorong respons imunnya ke arah Th1 yang jauh dari kecenderungan respons imun alergi. Selama masa janin dan perinatal respons imunnya diketahui cenderung ke respons imun alergi (Th2).⁵²

Pajanan mikrob mengaktifkan reseptor pengenalan TLR atau CD14,⁵³ yang spesifik untuk komponen mikrob yang berbeda (atau PAMPs). Proses ini diduga menyebabkan penekanan ekspansi sel Th2, termasuk penyakit-penyakit yang dimediasi Th2 seperti asma alergi, hay fever dan eksim. Model ini sekarang tampaknya terlalu sederhana, karena infeksi parasit yang berhubungan dengan respons imun Th2 yang kuat ternyata melindungi individu terhadap penyakit alergi.

Pajanan endotoksin telah terbukti berhubungan dengan penurunan produksi sitokin-sitokin IFN-, TNF-, IL-12, dan IL-10 oleh leukosit darah perifer, yang mana lebih menunjukkan kecenderungan yang lebih ke arah penurunan lingkungan sitokin Th1 daripada ke arah peningkatan Th1.⁵¹ Sementara itu ada bukti yang menunjukkan bahwa mengubah dosis pajanan PAMP (misalnya, endotoksin) akan mengubah keseimbangan Th1-Th2. Modulasi mikrob (baik secara langsung atau tidak langsung) yang diperankan melalui sel T-reg dapat menurunkan ekspresi imunitas baik Th1 maupun Th2. Bayi baru lahir yang pada masa janin terpapar daerah pertanian, terjadi peningkatan sel Treg FoxP3+ dalam darah tali pusat.⁵² Pemberian probiotik *Lactobacillus paracasei* NCC2461 pada masa perinatal mencit telah mencegah reaksi alergi pada masa anak melalui sinyal TLR2/4 yang dikaitkan dan dikaitkan dengan peningkatan ekspresi RNA FoxP3+ dalam paru-paru.⁵³ Selain itu, telah dilaporkan bahwa pajanan bakteri di saluran nafas dapat melindungi individu dari alergi melalui mekanisme yang dimediasi oleh TLR4, tanpa melalui induksi sel T-reg maupun Th1 tetapi melalui perubahan status aktivasi sel DC.⁵⁴ Pajanan mikrob juga dapat melindungi individu dari asma non-alergi.

Meskipun data saat ini mendukung pendapat yang menyatakan bahwa pajanan mikrob berhubungan dengan penurunan risiko asma alergi, namun juga ada bukti bahwa pajanan mikrob berhubungan dengan penurunan risiko asma non alergi. Setelah meneliti efek dari pajanan daerah pertanian pada alergi dan asma, Riedler dkk.,²³ melaporkan adanya penurunan risiko asma (1%; 3/241) pada anak-anak non alergi yang secara teratur terpapar kandang peternakan dibandingkan dengan 4% (17/399) pada mereka yang tidak terpapar (P=0,034). Penelitian berikutnya mereproduksi

temuan tersebut dengan menunjukkan bahwa pertanian meningkatkan proteksi terhadap asma non-alergi (OR 0,45; 95% CI 0,32-0,63).³⁸

Pajanan bakteri di awal kehidupan dapat memodulasi kekebalan yang memadai untuk menanggapi infeksi. Pajanan komponen mikrob pada awal kehidupan dikaitkan dengan kolonisasi bakteri patogenik non-patogenik (seperti *Lactobacillus*) di saluran nafas, peningkatan ekspresi TLR2,4,9, serta penurunan perekrutan neutrofil.⁵⁵ Terdapat kolonisasi *Mycoplasma* dan spesies klamidia pada beberapa penderita asma.³⁹ Infeksi bakteri kronis bertanggung jawab langsung setidaknya pada sebagian kecil dari pasien asma nonalergi, meskipun masih harus dilihat apakah mereka penyebab atau efek dari proses asma.

Sel-sel Th1 ditandai oleh ekspresi sitokin-sitokin IFN- γ dan IL-12, yang memainkan peran kunci yang menghubungkan kekebalan bawaan dan kekebalan adaptif. Sinyal IFN- γ dan IL-12 dimediasi oleh STAT1 (sinyal transduser dan penggerak transkripsi 1) dan STAT4. Sel Th1 mengekspresikan faktor transkripsi T-bet yang utama yang disandikan oleh gen Tbx21 dan ditandai dengan produksi IFN- γ , yang memperkuat polarisasi Th1, menciptakan umpan balik yang positif, dan menekan program diferensiasi alternatif.⁵⁶ IFN- γ awal yang mendorong diferensiasi sel T naive terhadap menjadi Th1 diproduksi oleh sel NK.⁵⁷ Stabilitas relatif dari fenotif Th1 sebagian dapat dijelaskan oleh sirkuit transkripsi mandiri, karena T-bet dapat menginduksi ekspresi sendiri baik secara langsung maupun tidak langsung dan menekan faktor transkripsi alternatif GATA-3, yang bertanggung jawab untuk diferensiasi Th2.⁵⁸ Sedangkan sel Th2 ditandai oleh ekspresi sitokin-sitokin IL-4, yang antagonis terhadap polarisasi Th1, melalui sinyal STAT6. Faktor transkripsi regulator induk mereka GATA-3 juga mampu mengaktifasi diri untuk memperkuat umpan balik.⁵⁹ GATA-3 dan T-bet ditandai dengan saling antagonisme, yang mendukung polarisasi sel T terhadap baik Th1 atau Th2 tergantung pada profil sitokin yang ada di sekitarnya dan membuat status transisi tidak stabil. Sel Th2 mengekspresikan sitokin-sitokin IL-4, IL-5, dan IL-13 yang terlibat dalam respons imun humoral terhadap infeksi ekstraseluler dan parasit.⁶⁰ Mereka juga terlibat dalam reaksi alergi dan status alergi.

Hubungan terbalik antara peningkatan respons imun Th1 dengan penurunan respons imun Th2 masih sesuai dengan konsep hipotesis higiene awal apabila dikaji hanya dalam karakter respons imun Th1/Th2. Sel Th17 saat ini dikenal sebagai jalur sel T independen selain Th1 dan Th2.⁶¹ Polarisasi Th17 terjadi dengan adanya sitokin-sitokin IL-6 atau IL-21 dan TGF- β .⁶² Diferensiasi sel Th17 adalah independen

dari faktor transkripsi T-bet dan GATA3 dengan sinyal terkait yang diatur oleh jalur STAT3, Smad, ROR γ t (RORc) dan ROR α .⁶³⁻⁴ Sel-sel Th17 ini memproduksi IL-17A dan IL-17F. Mereka juga mengekspresikan sitokin lainnya termasuk IL-21, IL-22, dan GM-CSF. IL-23 penting untuk kelangsungan hidup Th17 dan potensi inflamasinya, dan berperan dalam pathogenesis autoimun pada manusia.⁶⁵ TGF- β dan IL-21 mendorong diferensiasi sel Th17 dari sel CD4+ naive, sementara sitokin-sitokin IL-23 dan IL-1 β menginduksi diferensiasi sel Th17 dari sel T memori.^{62,66} Sel Th17 pada kondisi normal keberadaannya terutama di usus, di mana mereka memberikan perlindungan terhadap infeksi bakteri dan jamur, tetapi dapat meningkat dalam usus dan di jaringan lain selama proses inflamasi.⁶⁷⁻⁸ Konsep Hipotesis Higiene awal harus dikaji untuk disempurnakan dalam hubungan respons imun Th1 dengan Th2, karena terbukti ada peran Th17 dalam perlindungan terhadap infeksi.

Sel Treg adalah subset sel T yang dikontrol oleh faktor transkripsi Foxp3 dan berdiferensiasi sebagai respons terhadap TGF- β .⁶⁹ Foxp3 juga diekspresikan oleh sel T non regulator yang lain pada manusia, dan untuk itu diperlukan penanda lain untuk identifikasi sel Treg. Telah terbukti bahwa ekspresi CD127 (IL-7R) ditekan oleh sel Treg, sehingga rendahnya ekspresi CD127 dapat digunakan sebagai penanda yang relevan dari subset Treg ini dan dapat membedakan Treg dari sel T efektor lainnya. Tingkat ekspresi yang lebih tinggi dari reseptor folat 4 juga telah menjadi penanda sel Treg.⁷⁰ Stabilitas subset Treg tergantung pada asalnya. Tregs yang berasal dari timus dianggap sebagai subset stabil. Di sisi lain, Tregs juga dapat diinduksi di perifer dalam menanggapi kehadiran sitokin TGF- β dan antigen pada pembentukan Treg adaptif atau *inducible Treg (iTreg)*.⁷¹ Sel-sel Treg kurang stabil dalam fenotipe fungsional mereka. Dalam sel CD4 + T naive, TGF- β diinduksi baik oleh Foxp3 maupun ROR γ t, tetapi yang pertama adalah yang dominan dan menekan ROR γ t dalam ketiadaan IL-6, dan menggeser keseimbangan dari Th17 ke *iTreg* dalam kondisi inflamasi.¹³⁵ Ada kesamaan fungsional antara Tregs alami dan Treg yang diinduksi (*iTreg*), tetapi Treg tampil berbeda dalam status epigenetik.⁷² Penanda permukaan sel Treg adalah reseptor IL-2 rantai alpha (CD25). IL-2 penting untuk kelangsungan hidup dan homeostasis Treg.⁷³ Sel Treg memainkan peran kunci dalam menjaga toleransi perifer. Treg dapat menekan fungsi sel-sel T efektor T dan APC oleh pelepasan sitokin penekan yaitu TGF- β dan IL-10.⁷⁴⁻⁵ Populasi sel Treg berbeda dengan ekspresinya dan dapat dibagi menjadi

beberapa sub tipe, terutama, tipe Treg memori (yang dihasilkan sebagai respons terhadap paparan antigen) dan Treg alami (naif).⁷⁵ Disfungsi Treg berhubungan dengan berbagai penyakit autoimun, termasuk *multiple sclerosis*, diabetes tipe I, psoriasis, dan *myasthenia gravis*.⁷⁶ Konsep Hipotesis Higiene awal harus dikaji dalam hubungan respons imun Th1 dengan respons imun Th2, karena terbukti ada peran Treg yang mampu mensupresi baik respons imun Th1 maupun respons imun Th2, sehingga hubungan terbalik Th1 dengan Th2 tidak selalu terjadi dalam kaitan infeksi dengan alergi.

Sebuah populasi sel yang memproduksi sitokin IL-9 pertama kali dijelaskan pada akhir 1980-an.⁷⁷ Stimulasi sel Th2 oleh TGF- β atau sel T naive oleh sitokin IL-4 dan TGF- β dapat menyebabkan pembentukan sel yang mengekspresikan sitokin IL-9 tetapi tidak mengekspresikan sitokin IL-4, sehingga teridentifikasi sebagai sel T helper yang berbeda dan selanjutnya disebut Th9.⁷⁸⁻⁷⁹ Sel Th9 berperan dalam penyakit autoimun dan alergi. Pembentukan sel Th9 dari sel CD4 + T naive dirangsang oleh TGF- β dan ditingkatkan oleh IL-4, walaupun produksi IL-9 independen dari IL-4. Adanya sitokin IL-2 dan sitokin lain penting untuk diferensiasi Th9. Sitokin lain, termasuk IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-21, dan IL-25, juga meningkatkan produksi sitokin IL-9, sedangkan sitokin IL-27 menekan Th9.⁸⁰⁻² Bukti menunjukkan adanya Th9 *in vivo*. Peningkatan produksi IL-9 dan diferensiasi Th9 telah dibuktikan pada model tikus alergi dan melanoma.⁸³⁻⁴ IL-9 juga diproduksi oleh beberapa sel *in vivo*. Sel-sel limfoid *innate* (ILC) merupakan sumber utama sitokin IL-9 pada model hewan coba.⁸⁵ IL-9 memiliki sejumlah fungsi penting dalam sistem kekebalan tubuh: mempromosikan kelangsungan hidup dan proliferasi sel T dan sel Mast, merangsang produksi beberapa sitokin, dan memodulasi respons sel B. Juga memiliki efek pada beberapa jenis sel non hematopoietik. IL-9 yang meningkat berperan penting dalam proses autoimun, alergi, dan kekebalan antitumor.⁸¹ Sel Th9 juga memproduksi IL-10 dan IL-21. Konsep hipotesis higiene awal harus disempurnakan dalam hubungan antara respons imun Th1 dengan respons imun Th2, karena terbukti adanya peran respons imun Th9 dalam alergi.

Sitokin IL-22 adalah anggota keluarga sitokin IL-10 dan memiliki target kerja pada sel-sel epitel, pankreas, hepatosit, dan beberapa jenis fibroblast, sebagai mediator pertahanan hospes terhadap patogen invasif.⁸⁶ Seperti halnya sitokin IL-9, IL-22 dapat diproduksi oleh berbagai jenis sel T, termasuk sel Th17, sel CD8 +, dan sel-sel kekebalan bawaan lainnya. Sel T yang hanya mengekspresikan sitokin

IL-22 saja, dan tidak mengekspresikan sitokin IL-17 maupun IFN- γ akan mengarah pada sel Th22.⁸⁷⁻⁸ Diferensiasi Th22 dari sel CD4 + T naïve diinduksi oleh sitokin TNF- α , IL-6 dan IL-1 β . Pembentukan Th22 tidak sepenuhnya tergantung pada TNF dan IL-6.⁸⁹ Produksi IL-22 meningkat pada beberapa penyakit autoimun, penyakit radang usus, asma alergi, sklerosis sistemik, dan rheumatoid arthritis. Th22 dapat berperan protektif atau patogenik tergantung pada konteks dan tahap penyakit. Sel Th22 dapat mempengaruhi sel mesenkimial dan sel epitel lain dalam pengembangan peradangan kulit, seperti psoriasis dan dermatitis alergi. Peningkatan sel Th22 dan sitokin IL-22 terbukti berhubungan dengan berbagai tumor, dan berperan penting dalam tumorigenesis. Oleh karena itu, sel Th22 dan sitokin IL-22 dapat dianggap sebagai target potensial dari terapi antitumor.⁹⁰ Konsep hipotesis higiene awal perlu disempurnakan dalam hubungan antara respons imun Th1 dengan Th2, karena terbukti ada peran respons imun Th22 dalam dermatitis atopik dan asma alergi.

SIMPULAN

Hipotesis higiene telah digunakan untuk menjelaskan peningkatan prevalensi alergi dan asma selama beberapa dekade terakhir, tetapi hipotesis higiene bukan satu-satunya penjelasan dalam kecenderungan peningkatan prevalensi alergi dan asma. Dalam hal perlindungan terhadap alergi dan asma dikaitkan dengan pajanan mikrob, bukti terbaru menunjukkan bahwa sesungguhnya yang berperan protektif adalah keragaman (diversitas) mikrob. Interaksi antara sistem kekebalan tubuh dengan mikrobiota usus telah terbukti melindungi reaksi radang akut pada hewan coba. Pajanan pertanian ternyata juga menjadi pelindung terhadap asma non alergi, hal ini memberikan bukti lebih lanjut bahwa interpretasi hipotesis higiene terlalu sempit (dengan kata lain terlalu menyederhanakan masalah imunopatogenesis hanya dengan penjelasan bahwa pajanan mikrob di awal kehidupan dapat menjadi pelindung terhadap asma alergi karena menekan respons imun Th2). Meskipun hipotesis higiene menjadi salah satu cara untuk menjelaskan perubahan global terbaru dalam prevalensi alergi dan asma, teori mengenai imunopatogenesis lebih lanjut yang konsisten dengan bukti epidemiologi untuk asma alergi dan non alergi masih diperlukan. *Hipotesis Higiene* yang semula mendalilkan penyakit alergi dalam hubungan $[Alergi]= f [Sifat Atopik].[Pajanan Alergen].[Pajanan Mikrob].[Respons Imun Th1].[Respons Imun Th2]$, karena peran Treg yang mampu mensupresi baik Th1 dan Th2 bentuk

hubungan direvisi menjadi $[Alergi]= f [Sifat Atopik].[Pajanan Alergen].[Pajanan Mikrob].[Respons Imun Th1].[Respons Imun Th2].[Respons Imun Treg]$. Saat ini, karena peran Th17-Th9-Th22 sudah diketahui, maka seyogyanya dalil hubungan diperbarui lagi menjadi $[Alergi]= f [Sifat Atopik].[Pajanan Alergen].[Pajanan Mikrob].[Respons Imun Th1].[Respons Imun Th2].[Respons Imun Treg].[Respons Imun Th17].[Respons Imun Th9].[Respons Imun Th22]$.

KEPUSTAKAAN

1. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the "Hipotesis Higiene". *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 554–8.
2. Pearce N, Douwes J. The global epidemiology of asthma in children. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 125–32.
3. Eder W, Ege MJ, von Mutius E. Current concepts: the asthma epidemic. *N Engl J Med* 2006; 355: 2226–35.
4. Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA. Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. *N Engl J Med* 2000; 343: 538–43.
5. Schaub B1, Liu J, Höppler S, Schleich I, Huehn J, Olek S, et al. Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 774–82; e5.
6. Schabussova I, Hufnagl K, Tang ML, Hoflehner E, Wagner A, Loupal G, et al. Perinatal maternal administration of *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 prevents allergic inflammation in a mouse model of birch pollen allergy. *Plos One* 2012; 7: e40271. [\[DOI\]](#)
7. Nembrini C, Sichelstiel A, Kisielow J, Kurrer M, Kopf M, Marsland BJ. Bacterial-induced protection against allergic inflammation through a multicomponent immunoregulatory mechanism. *Thorax* 2011; 66: 755–63.
8. Yasuda Y, Matsumura Y, Kasahara K, O uji N, Sugiura S, Mikasa K, et al. Microbial exposure early in life regulates airway inflammation in mice after infection with *Streptococcus pneumoniae* with enhancement of local resistance. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 298: L67–78.
9. Sly PD, Boner AL, Björkstén B, Bush A, Custovic A, Eigenmann PA, et al. Early identification of atopy in the prediction of persistent asthma in children. *Lancet* 2008; 372: 1100–06.

10. Flohr C, Tuyen LN, Lewis S, Quinnell R, Minh TT, Liem HT, et al. Poor sanitation and helminth infection protect against skin sensitization in Vietnamese children: a cross-sectional study. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 1305–11.
11. Endara P, Vaca M, Chico ME, Erazo S, Oviedo G, Quinzo I, et al. Long-term periodic anthelmintic treatments are associated with increased allergen skin reactivity. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 1669–77. ^[1]_[SEP]
12. Böttcher MF, Björkstén B, Gustafson S, Voor T, Jenmalm MC. Endotoxin levels in Estonian and Swedish house dust and atopy in infancy. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 295–300. ^[1]_[SEP]
13. Douwes J, van Strien R, Doekes G, Smit J, Kerkhof M, Gerritsen J, et al. Does early indoor microbial exposure reduce the risk of asthma? The prevention and incidence of asthma and mite allergy birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1067–73. ^[1]_[SEP]
14. Strien RT, Engel R, Holst O, Bufe A, Eder W, Waser M, et al. Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 860–7. ^[1]_[SEP]
15. Jain VV, Kitagaki K, Businga T, Hussain I, George C, O'shaughnessy P. CpG-oligodeoxynucleotides inhibit airway remodeling in a murine model of chronic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 867–72. ^[1]_[SEP]
16. Shalaby KH, Jo T, Nakada E, Allard-Coutu A, Tsuchiya K, Hirota N, et al. ICOS-expressing CD4 T cells induced via TLR4 in the nasal mucosa are capable of inhibiting experimental allergic asthma. *J Immunol* 2012; 189: 2793–804.
17. Maslowski KM1, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009; 461: 1282–2119. ^[1]_[SEP]
18. Ege MJ, Mayer M, Normand AC. Exposure to environmental micro-organisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 2011; 364: 701–09.
19. Pakarinen J, Hyvärinen A, Salkinoja-Salonen M, Laitinen S, Nevalainen A, Mäkelä MJ, et al. Predominance of Gram-positive bacteria in house dust in the low-allergy risk Russian Karelia. *Environ Microbiol* 2008; 10: 3317–25. ^[1]_[SEP]
20. Maier RM, Palmer MW, Andersen GL, Halonen MJ, Josephson KC, Maier RS, et al. Environmental determinants of and impact on childhood asthma by the bacterial community in household dust. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76: 2663–7.
21. Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, Koskinen K, Torppa K, Laatikainen T, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 8334–39.
22. Douwes J1, Travier N, Huang K, Cheng S, McKenzie J, Le Gros G, et al. Lifelong farm exposure may strongly reduce the risk of asthma in adults. *Allergy* 2007; 62: 1158–65. ^[1]_[SEP]
23. Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S, et al. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001; 358: 1129–33. ^[1]_[SEP]
24. Oryszczyn MP1, Van Ree R, Maccario J, Nadif R, Kauffmann F; EGEA cooperative group. Cat sensitization according to cat window of exposure in adult asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1515–21.
25. Kerkhof M, Wijga AH, Brunekreef B, Smit HA, Jongste JC, Aalberse RC, et al. Effects of pets on asthma development up to 8 years of age: the PIAMA study. *Allergy* 2009; 64: 1202–8.
26. Waser M, Michels KB, Bieli C, Flöistrup H, Pershagen G, von Mutius E, et al. Inverse association of farm milk consumption with asthma and allergy in rural and suburban populations across Europe. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 661–70. ^[1]_[SEP]
27. Douwes J, Pearce N, Heederik D. Does environmental endotoxin exposure prevent asthma? *Thorax* 2002; 57: 86–90.
28. Bisgaard H1, Li N, Bonnelykke K, Chawes BL, Skov T, Paludan-Müller G, et al. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 646–52. ^[1]_[SEP]
29. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 434–40.
30. Russell SL, Gold MJ, Hartmann M, Willing BP, Thorson L, Wlodarska M, et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep* 2012; 13: 440–7.
31. Lange NE, Celedón JC, Forno E, Ly NP, Onderdonk A, Bry L, et al. Maternal intestinal

- flora and wheeze in early childhood. *Clin Exp Allergy* 2012; 42: 901–8. [SEP]
32. Brand S, Teich R, Dicke T, Harb H, Yildirim AÖ, Tost J, et al. Epigenetic regulation in murine offspring as a novel mechanism for transmaternal asthma protection induced by microbes. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 618–25.
33. Conrad ML1, Ferstl R, Teich R, Brand S, Blümer N, Yildirim AO, et al. Maternal TLR signaling is required for prenatal asthma protection by the nonpathogenic microbe *Acinetobacter lwoffii* F78. *J Exp Med* 2009; 206: 2869–77. [SEP]
34. Yamamoto M, Yamaguchi R, Munakata K, Takashima K, Nishiyama M, Hioki K, et al. A microarray analysis of gnotobiotic mice indicating that microbial exposure during the neonatal period plays an essential role in immune system development. *BMC Genomics* 2012; 13: 335. [SEP]
35. Boneberger A, Haider D, Baer J, Kausel L, Kries R, Kabesch M, et al. Environmental Risk factors in the first year of life and childhood asthma in the central south of Chile. *J Asthma* 2011; 48: 464–9. [SEP]
36. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Allergy and Endotoxin Study Team. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002; 347: 869–77.
37. Eisenbarth SC1, Piggott DA, Huleatt JW, Visintin I, Herrick CA, Bottomly K. Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 2002; 196: 1645–51.
38. Fuchs O, Genuneit J, Latzin P, Büchele G, Horak E, Loss G, Sozanska B, et al. Farming environments and childhood atopy, wheeze, lung function, and exhaled nitric oxide. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 382. [SEP]
39. Lemanske RF. Is asthma an infectious disease? Thomas A. Neff lecture. *Chest* 2003; 123: 385S–390S. [SEP]
40. Karadag B, Ege M, Bradley JE, Braun-Fahrlander C, Riedler J, Nowak D, et al. The role of parasitic infections in atopic diseases in rural schoolchildren. *Allergy* 2006; 61: 996–1001. [SEP]
41. Biggelaar AH1, Rodrigues LC, van Ree R, van der Zee JS, Hoeksma-Kruize YC, et al. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese school-children. *J Infect Dis* 2004; 189: 892–900. [SEP]
42. Bolte G, Bischof W, Borte M, Lehmann I, Wichmann HE, Heinrich J. Early endotoxin exposure and atopy development in infants: results of a birth cohort study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 770–6. [SEP]
43. Perzanowski MS, Miller RL, Thorne PS, Barr RG, Divjan A, et al. Endotoxin in inner-city homes: associations with wheeze and eczema in early childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1082–9. [SEP]
44. Thomsen SF, Ulrik CS, Larsen K, Backer V. Change in prevalence of asthma in Danish children and adolescents. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 92: 506–11.
45. Kuehni CE, Davis A, Brooke AM, Silverman M. Are all wheezing disorders in very young (preschool) children increasing in prevalence? *Lancet* 2001; 357: 1821–5. [SEP]
46. Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, Mallol J, Keil U, Mitchell E, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2007; 62: 758–66. [SEP]
47. Chinn S, Jarvis D, Burney P, Luczynska C, Ackermann-Lieblich U, Antó JM, et al. Increase in diagnosed asthma but not in symptoms in the European Community Respiratory Health Survey. *Thorax* 2004; 59: 646–51. [SEP]
48. Crater DD, Heise S, Perzanowski M. Asthma hospitalization trends in Charleston, South Carolina, 1956 to 1997: twenty-fold increase among black children during a 30-year period. *Paediatrics* 2001; 108: E97. [SEP]
49. Ponsonby AL, Glasgow N, Pezic A, Dwyer T, Ciszek K, Kljakovic M. A temporal decline in asthma but not eczema prevalence from 2000–2005 at school entry in the Australian Capital Territory with further consideration of country of birth. *Int J Epidemiol* 2008; 37: 559.
50. Pearce N, Douwes JT. The Latin American exception: why is childhood asthma so prevalent in Brazil? *J Paediatr* 2006; 82: 319–21.
51. Douwes J, Le Gros G, Gibson P, Pearce N. Can bacterial endotoxin exposure reverse atopy and atopic disease? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 1051–4. [SEP]
52. Martinez FD, Holt PG. Role of microbial burden in aetiology of allergy and asthma. *Lancet* 1999; 354: S12.
53. Ege MJ, Bieli C, Frei R, van Strien RT, Riedler J, Ublagger E, et al. Prenatal farm exposure is

- related to the expression of receptors of the innate immunity and to atopic sensitization in school-age children. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 817–23. [SEP]
54. Nembrini C, Sichelstiel A, Kisielow J, Kurrer M, Kopf M, Marsland BJ. Bacterial-induced protection against allergic inflammation through a multicomponent immunoregulatory mechanism. *Thorax* 2011; 66: 755–63. [SEP]
55. Yasuda Y1, Matsumura Y, Kasahara K, Ouji N, Sugiura S, Mikasa K, et al. Microbial exposure early in life regulates airway inflammation in mice after infection with *Streptococcus pneumoniae* with enhancement of local resistance. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 298: L67–L78.
56. Espinosa V, Rivera A. Cytokines and the regulation of fungus-specific CD4 T cell differentiation. *Cytokine* 2012; 58: 100–6.
57. Martín-Fontecha A, Thomsen LL, Brett S, Gerard C, Lipp M, Lanzavecchia A, et al. Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN- γ for TH1 priming. *Nat Immunol* 2004; 5: 1260–5.
58. Mullen AC, High FA, Hutchins AS, Lee HW, Villarino AV, Livingston DM, et al. Role of T-bet in commitment of TH1 cells before IL-12-dependent selection. *Science*. 2001; 292: 1907–10.
59. Oestreich KJ, Weinmann AS. Transcriptional mechanisms that regulate T helper 1 cell differentiation. *Current Op Immunol*. 2012; 24: 191–5.
60. Kleinewietfeld M, Hafler DA. The plasticity of human Treg and Th17 cells and its role in autoimmunity. *Semin Immunol* 2013; 25: 305–12.
61. Yang L1, Anderson DE, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-21 and TGF- β are required for differentiation of human TH17 cells. *Nature* 2008; 454: 350–2.
62. Hirahara K1, Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Kanno Y, O'Shea JJ. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 425–34.
63. Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, et al. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity* 2008; 28: 29–39.
64. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233–40.
65. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 942–9.
66. Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*. 2009; 139: 485–98.
67. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity* 2011; 34: 149–62.
68. Josefowicz SZ, Rudensky A. Control of regulatory T cell lineage commitment and maintenance. *Immunity* 2009; 30: 616–25.
69. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 523–32.
70. Abbas AK, Benoist C, Bluestone JA, Campbell DJ, Ghosh S, Hori S, et al. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nat Immunol* 2013; 14: 307–8.
71. Zhou L1, Lopes JE, Chong MM, Ivanov II, Min R, Victora GD, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature* 2008; 453: 236–40.
72. Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. Natural and TGF-beta-induced Foxp3(+)CD4(+) CD25(+) regulatory T cells are not mirror images of each other. *Trends Immunol* 2008; 29: 429–35.
73. Zheng Y, Rudensky AY. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat Immunol* 2007; 8: 457–62.
74. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008; 133: 775–87.
75. Sakaguchi S1, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 490–500.
76. Randolph DA, Fathman CG. CD4+CD25+ regulatory T cells and their therapeutic potential. *Ann Rev Med* 2006; 57: 381–402.
77. Uyttenhove C, Brombacher F, Van Snick J. TGF- β interactions with IL-1 family members trigger IL-4-independent IL-9 production by mouse CD4+ T cells. *Eur J Immunol* 2010; 40: 2230–5.
78. Dardalhon V1, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, et al. Transforming growth

- factor- β 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 2008; 9: 1341–6.
79. Dardalhon V1, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, et al. IL-4 inhibits TGF- β -induced Foxp3+ T cells and, together with TGF- β , generates IL-9+ IL-10+ Foxp3- effector T cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 1347–55.
80. Eyerich S1, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S, et al. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J Clin Invest* 2009; 119: 3573–85.
81. Jia L., Wu C. T Helper Cell Differentiation and Their Function. Vol. 841. Amsterdam: Springer; 2014. p. 181–207.
82. Kaplan MH, Hufford MM, Olson MR1. The development and *in vivo* function of T helper 9 cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15: 295–307.
83. Jones CP, Gregory LG, Causton B, Campbell GA, Lloyd CM. Activin A and TGF-beta promote T H9 cell-mediated pulmonary allergic pathology. *The J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 1000.e3–10.
84. Purwar R1, Schlapbach C, Xiao S, Kang HS, Elyaman W, Jiang X, et al. Robust tumor immunity to melanoma mediated by interleukin-9-producing T cells. *Nat Med* 2012; 18: 1248–53.
85. Wilhelm C, Hirota K, Stieglitz B. An IL-9 fate reporter demonstrates the induction of an innate IL-9 response in lung inflammation. *Nat Immunol* 2011; 12 : 1071-7.
86. Jia L., Wu C. T Helper Cell Differentiation and Their Function. Vol. 841. Amsterdam: Springer; 2014. p. 209–30.
87. Duhren T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 857–63.
88. Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from TH-17, TH1 and TH2 cells. *Nature Immunol.* 2009; 10: 864-71.
89. Fujita H, Nogales KE, Kikuchi T, Gonzalez J, Carucci JA, Krueger JG. Human Langerhans cells induce distinct IL-22-producing CD4+ T cells lacking IL-17 production. *Proc Nat Acad Sci* 2009; 106: 21795–800.
90. Kagami S, Rizzo HL, Lee JJ, Koguchi Y, Blauvelt A. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1373–83.