

CÉLULAS NK: NUEVOS ROLES EN SU FUNCIÓN INMUNOLÓGICA

Jorge Flavio Mendoza Rincón

RESUMEN

La función de las células NK en la respuesta inmune innata se ha revalorado en la última década. La identificación de nuevas moléculas con funciones activadoras e inhibitoras así como algunos de sus ligandos ha generado nueva información de la función de las células NK en el reconocimiento inmunológico así como su participación en la vigilancia inmunológica en el desarrollo de tumores. En este trabajo se realiza una revisión de estas nuevas funciones en la que la participación de los receptores con función activadora e inhibitora así como de sus ligandos son fundamentales en el desempeño de las células NK en la inmunidad innata.

Palabras Clave: *Células NK, receptores NK, ligandos NK.*

NK cells: New functions in immunity

ABSTRACT

In the last ten years NK cells has emerged as a robust component of the innate immunity. The identification of activating and inhibitory molecules has focused in a new role of NK cells in innate immunity and immune surveillance. This review explore some of the properties of NK function trough the activating and inhibitory receptors and NK ligands in immune recognition and surveillance.

Key Words: *NK cells, NK receptors, NK ligands.*

ARTÍCULO RECIBIDO EL 21 DE OCTUBRE DEL 2004.

INTRODUCCIÓN

Hasta hace poco, la inmunología tan sólo abarco el estudio de la respuesta inmune adaptativa principalmente, el estudio de las células T y sus receptores. Es hasta finales del siglo pasado que la inmunología se ha enfocado a la investigación de células que se conocían desde hace mucho tiempo pero que se encontraban en el olvido, tal es el caso de las células asesinas naturales (NK).

Estas células fueron descritas desde su descubrimiento por su capacidad para lisar ciertos tipos de células tumorales sin estimulación previa. Es hasta tiempos recientes que se ha comenzado a descubrir los mecanismos biológicos llevados a cabo por las células NK y de que manera adquieren esa "habilidad" para poder discernir entre las células normales y las células transformadas (preferentemente tumorales) evitando una actividad indiscriminada por parte de ellas.

Mucho es lo que se ha avanzado en este aspecto en los últimos 10 años, pues se ha observado que las células tumorales transformadas por infecciones bacterianas o virales presentan

una disminución en cuanto a la presencia de moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad a diferencia de las células normales, lo anterior aunado al descubrimiento de una gama de receptores inhibidores como activadores sobre la superficie de las NK, es que se ha comenzado a dilucidar y revalorar la manera en la que se lleva a cabo la compleja actividad de las células NK en la respuesta inmune adaptativa y su importancia como primera línea de defensa contra infecciones bacterianas, virales y en la eliminación de células tumorales.

En este trabajo se revisan nuevos conceptos de la función de las células NK en la respuesta inmune, su importante rol en la respuesta inmune adaptativa a través de sus receptores inhibidores, activadores y la función de sus ligandos en el reconocimiento y vigilancia inmunológica.

Glosario

ITIM. Motivos de inhibición del inmunoreceptor vía tirosina.

ITAM. Motivos de activación del inmunoreceptor vía tirosina.

HAPLOTIPO. Conjunto de alelos del MHC presente en cada cromosoma.

MOTIVO. Secuencia de aminoácidos que se encuentra presente en las colas citoplasmáticas de diversos receptores de membrana del sistema inmunológico y pueden ser de tipo activador o inhibidor.

LAS CÉLULAS ASEASINAS NATURALES (NK)

Históricamente, las células asesinas naturales o NK (Natural Killer cells) fueron identificadas en un principio por sus características morfológicas de linfocitos largos granulares LGL (*large granular lymphocytes*) y por su habilidad para lisis células tumorales sin una previa inmunización siendo esto de suma importancia en el control de infecciones virales, ya que se anticipa a la formación de anticuerpos por parte de los linfocitos B y a la actividad citotóxica de los linfocitos T.

Por definición las células NK carecen del complejo de receptores de las células T (TCR) y constituyen en el humano aproximadamente del 10 al 20% de las células mononucleares de la sangre periférica y del bazo y son poco frecuentes en otros órganos linfoides. Como ya es sabido, son un importante componente de la respuesta inespecífica del sistema inmunológico, el cual también está compuesto por los monocitos-macrófagos, granulocitos, basófilos, eosinófilos y células dendríticas¹.

Los orígenes y clasificación de las células NK no han sido tan bien caracterizados. Hay datos substanciales que sugieren que las células NK son derivadas de precursores de la médula ósea². Se ha observado que tanto las células de linaje mieloides como linfoides provienen de precursores de médula ósea CD34⁺ DR⁻, y ensayos *in vitro* han revelado que dicho precursor bajo ciertas condiciones suele dar origen a las células NK³ (Fig. 1).

Por definición las células NK no expresan el marcador de superficie CD3 que se expresa en los linfocitos T así como tampoco expresan receptores para el antígeno de genes somáticamente reordenados como lo son las inmunoglobulinas¹. Como ya es sabido la maduración de los linfocitos T y B se requiere de la combinación de varias citocinas y parece ser que sucede lo mismo en el caso de las células NK⁴. En un principio se aceptó que posiblemente su maduración sería modulada por la IL-2⁵. En algunos estudios se han cultivado células de médula ósea en presencia de IL-2 y se ha observado que dichas células tiempo después exhiben una fuerte actividad citolítica y que estas células si se siguen cultivando en IL-2 se obtienen el fenómeno conocido como activación de linfocitos asesinos activados (LAK)⁶⁻⁷.

Se ha descubierto que existen otras citocinas que se ven involucradas en el desarrollo de las NK, por ejemplo la IL-4 también favorece al desarrollo de las NK y a sus precursores⁸, aunque otros estudios revelaron que las NK crecen de manera independiente a la IL-2 e IL-4 en ratones carentes de las citocinas mencionadas⁹. Por otro lado, se ha observado que en pacientes inmunodeficientes incapaces de producir IL-2 poseen células NK funcionales¹⁰. Ahora se sabe que la subunidad γ del receptor

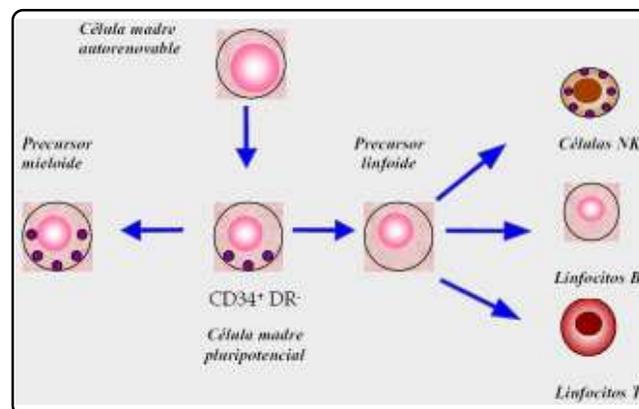


Figura 1. Esquema que representa el origen de las células NK a partir de un precursor común a los linfocitos B y linfocitos T.

de la IL-2 (IL-2R) es también componente los receptores para IL-4, IL-7 e IL-15⁸ y se ha encontrado que las personas que presentan una mutación en el gen que codifica para la subunidad γ de los receptores de las interleucinas mencionadas tienen un gran déficit en lo que respecta a células NK y a la actividad de las células T¹¹. La IL-7 suele estimular la diferenciación a células NK a partir de precursores más inmaduros en presencia de IL-2 y SCF¹².

Por otro lado la IL-15 es homóloga a la IL-2. La IL-15 es sintetizada al inicio de la respuesta frente a infecciones virales y estimula la expansión de las células NK. Una vez que comienza a desarrollarse la inmunidad adaptativa su función es llevada a cabo por la IL-2. Dicho en otras palabras, la IL-15 lleva a cabo en la respuesta innata las funciones que lleva a cabo la IL-2 en la respuesta adaptativa¹³.

En condiciones normales las células NK expresan abundantes gránulos citolíticos y una alta densidad sobre su superficie de adhesinas relacionadas con las encontradas en las células T. Las células NK están involucradas como ya se mencionó con la respuesta temprana por parte del sistema inmunológico, actuando en contra de células malignas (tumorales) sin haber sido estimuladas con anterioridad¹⁴.

Todas las células NK humanas expresan en su superficie el marcador CD56, una isoforma de la molécula de adhesión encontrada en las células del sistema nervioso y de la que aún se desconoce a ciencia cierta su función en las células NK^{1,14}. Aproximadamente el 10% de las células NK tienen una alta densidad en su superficie del marcador CD56 (CD56^{bright}), mientras la mayoría de las restantes tienen una baja densidad de CD56 (CD56^{dim}). La mayoría de las células NK también expresan un receptor de baja afinidad por la porción Fc de inmunoglobulinas (FcR γ III o CD16), el cual se une a ellos en células marcadas con anticuerpos para llevar a cabo la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (ADCC)¹⁵.

Se ha demostrado que las células NK pueden ser divididas en

3 distintos subtipos basados en la expresión sobre su superficie del receptor CD16¹⁶. La mayoría de las células NK (90%) expresan altos niveles de CD16 (CD16^{bright}) además de CD 56^{dim}. En contraste el subtipo NK CD56^{bright} es heterogénea en su expresión de CD16 y puede dividirse en CD16^{dim} y CD16^{neg}. Se ha teorizado que las células NK se desarrollan progresivamente y esto se puede correlacionar con la expresión sobre su superficie de CD16¹⁶. En otras palabras, las células NK CD56^{bright} CD16^{neg} representan una población inmadura de las células NK, que posteriormente evolucionaran a un fenotipo CD56^{dim} CD16^{bright}. De esta manera las células CD56^{bright} CD16^{dim} sería una población intermedia de las células NK (Fig. 2).

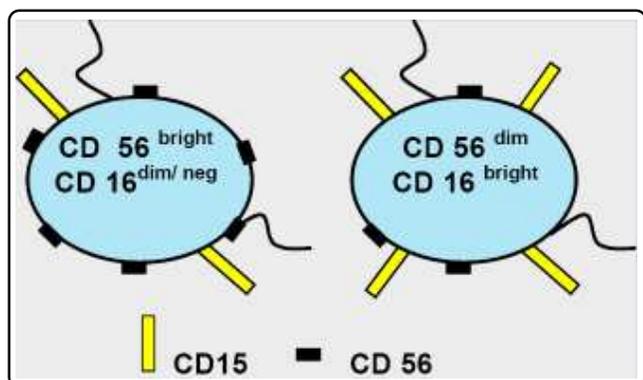


Figura 2. Esquemización de los receptores que se encuentran en las células NK inmaduras (izquierda) y maduras (derecha)².

Algunos ensayos apoyan esta hipótesis; se han hecho observaciones realizando tinción de Giemsa y se ha encontrado una gran cantidad de gránulos azurófilos en los subtipos CD56^{dim} CD16^{bright} y CD56^{bright} CD16^{dim}, mientras que el subtipo CD56^{bright} CD16^{neg} se observan relativamente agranulares. Así también se ha observado que la actividad lítica es variable dentro de los tres diferentes grupos, los subtipos CD56^{dim} CD16^{bright} y CD56^{bright} CD16^{dim} muestran una gran actividad citolítica en contra de células blanco contrario a lo que se observa en CD56^{bright} CD16^{neg} los cuales presentan una pobre actividad citolítica en los mismos ensayos (tabla 1).

LAS CÉLULAS NK Y SU PAPEL EN LA RESPUESTA INMUNE

La manera en la que las células NK reconocen a las células normales de las células tumorales es un proceso que hasta hace poco no se entendía del todo. En condiciones normales, la mayoría de las células expresan una gran cantidad de proteínas del MHC clase I y de esta forma son reconocidas por el sistema inmunológico. Cuando por alguna causa se presenta una disminución o pérdida total de dichas proteínas, las células NK tienen la capacidad de detectar dicho cambio y destruyen a las células alteradas, esta idea ha sido confirmada con algunos experimentos realizados en ratones (menos directamente en humanos). Se han transfundido células provenientes de la médula ósea en ratones, dichas células carecen de las proteínas clase I, y se ha observado un fuerte rechazo en los ratones

Estadio	Fenotipo	%	Actividad citolítica
Inmaduro	CD56 ^{bright} CD16 ^{neg}	- 10	+
Intermedio	CD56 ^{bright} CD16 ^{dim}	- 10	+++
Maduro	CD56 ^{dim} CD16 ^{bright}	90	++++

Tabla 1. Características de los distintos estadios de maduración de las células NK.

mediado por parte de sus receptores¹⁷. Así mismo se apreció que el rechazo fue mediado por células NK. El reconocimiento por parte de las células NK deficientes de las proteínas clase I ha sido explicado por el descubrimiento de receptores específicos para dichas proteínas y se ha encontrado que la unión de estos receptores con sus ligandos de alguna manera inhiben o estimulan la actividad de las NK (Fig. 3).

RECEPTORES DE LAS CÉLULAS NK

La actividad de las células NK está regulada por dos familias de receptores que reconocen a las moléculas del MHC clase I sobre la superficie de las células y que le ayudan a discriminar entre las células sanas y las infectadas y/o tumorales. Se han identificado 3 familias de receptores para las proteínas clase I que inhiben la acción de las células NK: Ly49 (sólo se ha encontrado en ratón)¹⁸, KIR (sólo en humanos)¹⁹⁻²⁰, y CD94/NKG2A (en ambos)²¹⁻²². Ly49 y CD94/NKG2A están relacionadas con la familia de las lecitinas tipo C, mientras que KIR está relacionada con la familia de las inmunoglobulinas. Ly49 y KIR se unen directamente a moléculas intactas del MHC clase I, por el contrario CD94/NKG2A se une a péptidos derivados de una secuencia señal de las moléculas de clase I que se presentan en la hendidura de las moléculas no clásicas clase I (Qa-1 en ratones y HLA-E en humanos)²³⁻²⁴. Ha habido el descubrimiento de receptores tales NKp30, NKp44 y NKp46 así como los ILT que se explican más adelante (Fig.4)

Los genes para los receptores inhibidores son codificados en dos cromosomas (Fig. 5), los genes para los receptores tipo lecitina: CD94 y la familia NKG2 están agrupadas en el humano en una región de casi 2 mega pares de bases (Mbp) conocida como NKC (Natural Killer Complex) en el cromosoma 12p12.13, mientras que los genes para la expresión de los receptores relacionados con las inmunoglobulinas son codificados en la región LRC (*leukocyte receptor complex*), en el cromosoma humano 19q13.4.

RECEPTORES KIR

Como ya se mencionó anteriormente, los receptores KIR se encuentran ausentes en los roedores y parece ser que solo se desarrollaron en los mamíferos, aunque es generalmente aceptado el hecho de que los receptores KIR tienen la misma función que los receptores Ly49 en ratones, aún siendo totalmente diferentes

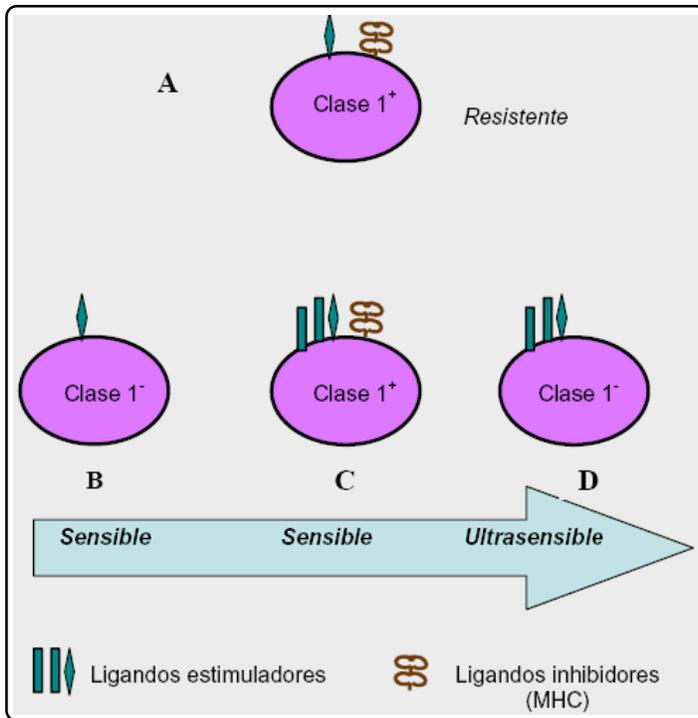


Figura 3. Regulación de ligandos receptores e inhibidores que determinan la actividad de las células NK. A) se observa una célula normal la cual presenta tanto ligandos inhibidores como activadores en un equilibrio tal que no estimula a las NK. B) Se presenta una disminución de los ligandos inhibidores del MHC por lo que la célula se vuelve sensible a la lisis. C) No hay disminución de las proteínas del MHC aunque si se presenta una sobre expresión de los ligandos activadores provocando la lisis de la célula. D) la sobre expresión de los ligandos estimuladores aunado a la disminución de los ligandos inhibidores provoca una ultrasensibilidad de las células a la actividad de las células NK.

en cuanto a su estructura. La existencia de dos genes de diferentes familias con una misma función es un ejemplo muy significativo de la evolución. Pues parece ser que los receptores KIR surgieron como una emergencia por la pérdida gradual de las funciones de los receptores Ly49 y la pérdida de los genes LY49 muy recientemente en algunos primates (Fig.6).

Los receptores KIR son moléculas polimórficas que se presentan sobre la superficie de las células NK y en una pequeña población (8%) de linfocitos T conocidos como células NKT. Estos receptores reconocen moléculas clase I del HLA. Los receptores KIR poseen una estructura semejante a las inmunoglobulinas en su región extracelular, la cual está involucrada en el reconocimiento de las moléculas clase I. Por otro lado los receptores KIR tienen dos o tres dominios KIRs que en la nomenclatura actual se designa 2D y 3D respectivamente. La presencia de una región citoplasmática ya sea larga o corta que suele designarse con las letras L o S al final del nombre. Los receptores KIR controlan la respuesta de las células NK por señales de activación o inactivación al reconocer a las moléculas del HLA clase I sobre la superficie de células blanco²⁶.

Como ya se mencionó los receptores KIR pueden poseer regiones citoplasmáticas ya sea cortas o largas, usualmente aquellos que poseen tallos citoplasmáticos largos poseen motivos del tipo ITIMS los cuales producen señales inhibitorias a las células NK. Los receptores KIR con tallo citoplasmáticos cortos, por otro lado poseen residuos de aminoácidos cargados positivamente (lisina) en su región

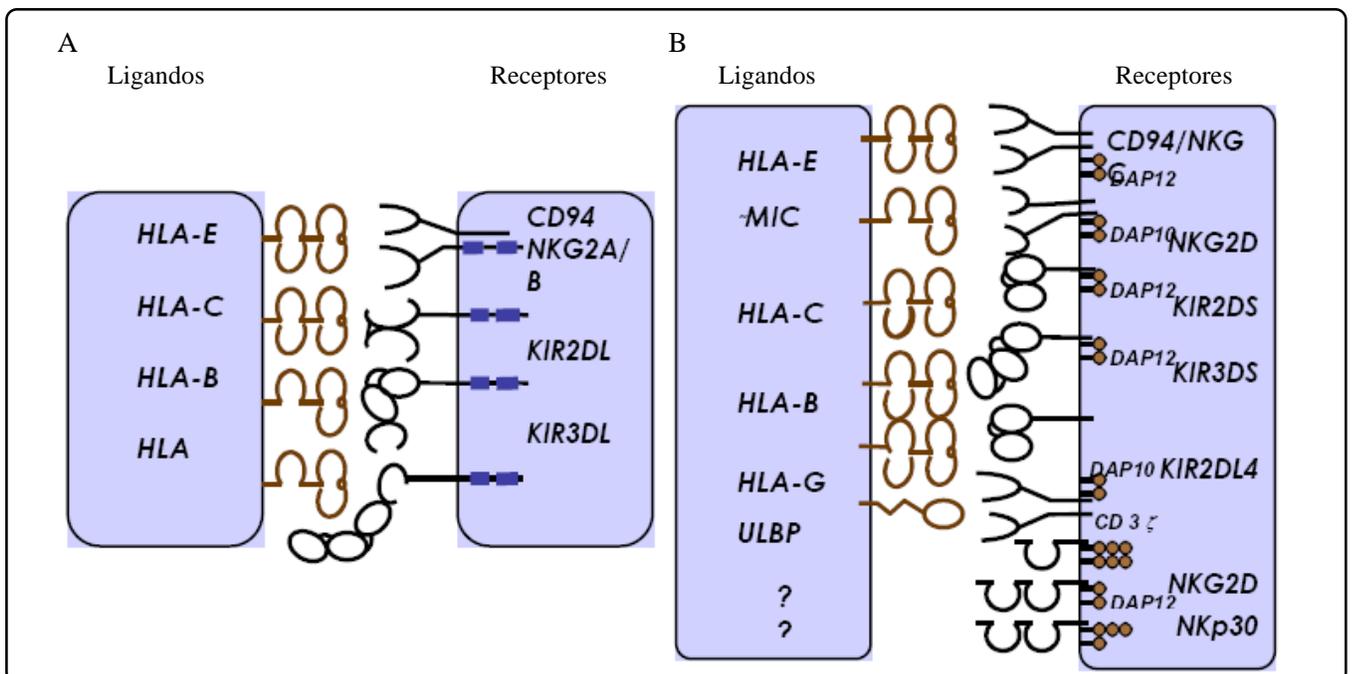


Figura 4. Relación de las proteínas del MHC clase I y los receptores de las células NK: A) Inhibidores B) Activadores²⁵.

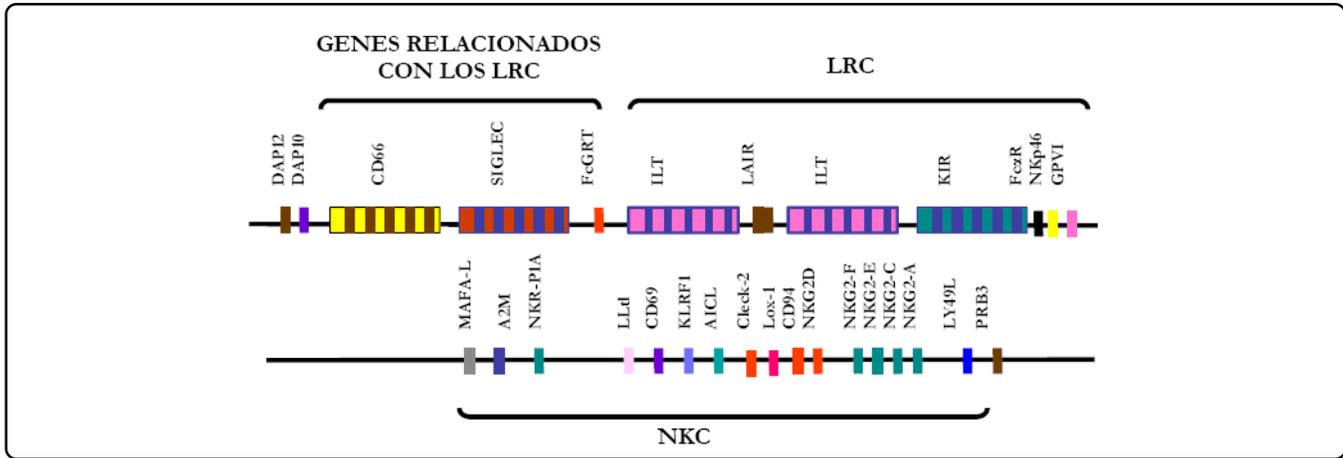


Figura 5. Localización en el humano de las regiones NKC y LRC²⁵ (el dibujo no está a escala).

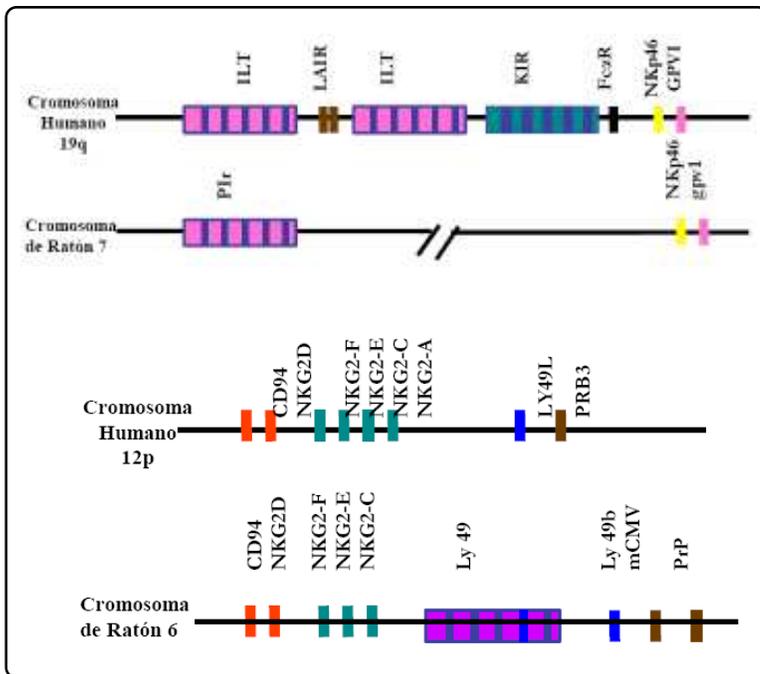


Figura 6. Comparación de los cromosomas donde se codifica la expresión de los receptores KIR en humanos y Ly49 en roedores²⁵.

transmembranal, lo cual le permite asociarse con un adaptador conocido como DAP12 capaz de generar señales de activación para las células NK²⁷. Recientemente ha habido reportes de que KIR2DL4 es un receptor con actividad activadora incapaz de potenciar la actividad citotóxica en las células NK en reposo, aunque parece ser que si es posible en células NK previamente activadas²⁸.

Los receptores KIR tienen una gran afinidad por ciertas moléculas clase I del MHC, por ejemplo HLA-C es ligando para el receptor KIR2D, mientras que HLA-B y HLA-A son ligandos para el receptor KIR3D²⁹.

LOS RECEPTORES ILT

Buscando nuevos miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas, es que se llegó al descubrimiento de un nuevo grupo de receptores conocido

como ILT (también llamada LIR o MIR). A este grupo de receptores se pueden clasificar en tres grupos: aquellos que presentan motivos del tipo ITIMS, los que contienen tallos citoplasmático cortos y poseen residuos de aminoácidos cargados en su región transmembranal, y por último aquellos que no contienen una porción transmembranal y que presumiblemente sean moléculas secretadas³⁰. Los receptores ILT se codifican en el LRC, en el cromosoma 19 (Ver Fig.4 y 5) cerca de los genes KIR. Contrario a los genes KIR, los ILT son más estables en número, excepto por ILT6 que presenta un solo haplotipo³¹. Hay dos grupos de genes ILT los cuales son separados por una región de casi 200 Kb y que se transcriben de manera opuesta.

Estos receptores son expresados de manera natural en células como monocitos, macrófagos, células dendríticas, Linfocitos T y B, así como en las células NK, con excepción de un miembro: ILT2, el cual solo se expresa en las células NK³². ILT2 posee cuatro dominios Ig y cuatro ITIMS en su región citoplasmática. ILT2 puede unirse a una gran gama de moléculas del HLA clase I³².

ILT2 presenta también una afinidad por la proteína del Citomegalovirus UL18, que es parecida a las moléculas clase I del HLA³³. Es de gran importancia señalar que el receptor ILT2 presenta una afinidad mayor por la UL18 que por las moléculas ya mencionadas. Esto presumiblemente podría dificultar la función de reconocimiento por parte de ILT2 de células que presentan una disminución de las moléculas clase I del HLA debido a que han sido infectadas por el CMV³³.

Recientemente se ha propuesto una nomenclatura tanto para los receptores KIR como para los ILT (Tabla 2), la cual se basa en la designación CD de los

miembros de estas familias así como en la posición de los genes en el cromosoma 19³⁴.

RECEPTORES CITOTÓXICOS NATURALES (NCR)

Recientemente se han descubierto tres nuevos receptores de membrana del tipo de las inmunoglobulinas a los que se les denomina NCR (natural cytotoxicity receptors): NKp46, NKp44 y NKp30³⁵.

NKp46

NKp46 fue el primer NCR en ser identificado³⁶, es el principal receptor responsable de la citotoxicidad natural y se encuentra en todas las células NK, incluidas CD56^{bright} CD16^{neg}. Estructuralmente es una proteína que contiene 2 dominios Ig del tipo C2³⁷ (Fig. 7) en su porción extracelular, en su porción transmembranal contiene aminoácidos cargados positivamente (Arginina) que contribuye a la estabilidad de la interacción con

moléculas asociadas del tipo ITAMS. El locus para NKp46 se conserva también en roedores (Ratón y rata)³⁸. Parece ser que NKp46 tiene algún efecto sobre la movilización de Ca⁺⁺, citotoxicidad y liberación de citoxinas³⁶.

Se ha observado que NKp46 esta involucrado en la lisis de diferentes células ya sean normales y/o tumorales así como de origen alogénico y xenogénico³⁹. En particular se ha encontrado que NKp46 se encuentra implicado en la lisis mediada por células NK en contra de células tumorales humanas de diversos tipos: pulmón, hígado y mama así como en líneas de células infectadas por el VEB. La densidad de NKp46 es variable de un individuo a otro.

Por lo anterior la magnitud de la respuesta citotóxica mediada por las células NK en un individuo se correlaciona con los niveles de NKp46 presentes sobre la superficie de las células NK³⁶.

NKp44

Es otro receptor de la familia de los NCR, posee un peso molecular de 44 KDa. Este receptor se caracteriza por poseer un solo dominio Ig del tipo V (Fig. 7). NKp44 es codificado en el humano en el cromosoma 6⁴⁰. La porción transmembranal contiene residuos de Lys que presumiblemente implican a NKp44 con los polipéptidos KARAP/DAP12. Estos péptidos son adaptadores moleculares que contienen un solo ITAM en su fragmento citoplasmático y son expresados como homodímeros unidos por puentes disulfuro⁴⁰.

Al igual que NKp46, este receptor se encuentra ausente en cualquier otro tipo celular y se expresa solamente en las células NK. Aunque se ha reportado una leve expresión de NKp46 en algunos clones de linfocitos $\gamma\delta$ T provenientes de un paciente con melanoma⁴¹. La expresión de NKp44 parece estar solamente restringida a células NK activadas y cultivadas en presencia de IL2, encontrándose ausente en las células NK en muestras de sangre periférica recién analizadas. Esto significa que NKp44 es el primer marcador específico de las células NK activadas en el humano⁴¹. En este mismo contexto, es bien sabido que las células NK cultivadas en presencia de IL2 aumentan su capacidad citolítica en contra de células blanco, que pudieran presentar resistencia a células NK frescas⁴²⁻⁴³. Esto como una consecuencia de la nueva expresión de un receptor estimulador, que pudiera ser NKp44, el cual lleva a células NK a reconocer nuevos ligandos y llevar a cabo la lisis de células blanco.

NKp30

NKp30 es el tercer NCR descubierto que presenta una actividad semejante a las de NKp46. Al igual que este, se expresa en todas las células NK. Su peso aproximado es de 30 KDa. Este receptor al igual que NKp46 se expresa en todas las células NK además de que produce efectos similares a los llevados a cabo vía NKp46, esto es, aumento en la movilización de Ca⁺⁺, citotoxicidad y liberación de citocinas⁴⁰. Este receptor presenta un solo dominio Ig de tipo V en su porción extracelular y una región transmembranal que se caracteriza por un residuo de Arginina⁴⁴.

Nombre común		Designación CD
ILT5	LIR3	CD85a
ILT8		CD85b
	LIR8	CD85c
ILT4	LIR2 MIR10	CD85d
ILT6	LIR4	CD85e
ILT11		CD85f
ILT7		CD85g
ILT1	LIR7	CD85h
	LIR6	CD85i
ILT2	LIR1, MIR7	CD85j
ILT3	LIR5	CD85k
ILT9		CD85l
ILT10		CD85m
KIR3DL7	KIRC1	CD158z
KIR2DL2/L3	P58.2/p58.3	CD158b1/b2
KIR2DL1	P58.1	CD158a
KIR2DS6	KIRX	CD158c
KIR2DL4		CD158d
KIR3DL1/S1	P70	CD158e1/e2
KIR2DL5		CD158f
KIR2DS5		CD158g
KIR2DS1	P50.1	CD158h
KIR2DS4	P50.3	CD158i
KIR2DS2	P50.2	CD158j
KIR3DL2	P140	CD158k

Tabla 2. Nombres comunes y la designación CD de los receptores KIR e ILT. Para su designación se baso en la localización de los genes en el cromosoma 19. El orden alfabético se designó de acuerdo a su localización centromérica-telomérica en el gen.19.

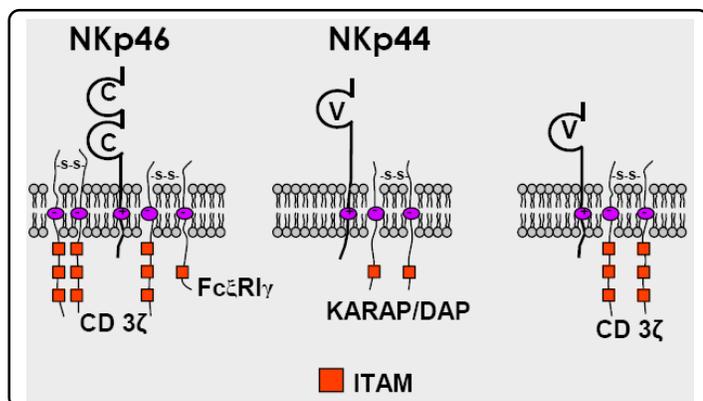


Figura 7. Estructura de los NCR (NKp46, NKp44 y NKp30) y su asociación con distintas moléculas transductoras de señales. Observese como la estructura de los tres receptores es la característica de la familia de las inmunoglobulinas³⁸.

NKp30 traduce señales de activación vía su asociación con la cadena CD3ζ (Fig. 7).

Algunos ensayos han demostrado que NKp30 al igual que NKp46 son de suma importancia en el reconocimiento de una gran variedad de células tumorales, aunque otros estudios han revelado que NKp30 tiene un papel mucho más importante que el que pudieran tener NKp46 y Nkp44 en el reconocimiento algunas líneas tumorales⁴⁴.

CD94/NKG2

De manera similar a los receptores KIR, los receptores de la familia CD94/NKG2D presentan receptores con actividad activadora e inhibidora que se correlacionan con su estructura en la región transmembranal y citoplasmática⁴⁵. Los receptores CD94/NKG2D son codificados en el cromosoma 12p12.13 dentro de la región NKC⁴⁶. La organización de los genes NKG2 y CD94 es muy similar en humanos y en ratón. En primates el gen para CD94 se encuentra conservado entre distintas especies, mientras que el de NKG2 presenta un mayor polimorfismo⁴⁷.

Los miembros inhibidores de esta familia son NKG2A y una isoforma de este denominada NKG2B. De acuerdo con su función inhibitoria, ellos poseen en su porción citoplasmática dos ITIMS. Las formas activadoras corresponden a NKG2C, -E y -F, los cuales carecen de motivos del tipo ITIMS, y que al poseer aminoácidos con carga en la región transmembranal hacen posible su asociación con el adaptador DAP12⁴⁵.

Ya se ha mencionado la importancia que tiene la IL-15 para el desarrollo de las células NK. Ha habido reportes en el sentido de que la expresión de CD94/NKG2 es inducida por ciertas citocinas, especialmente la IL-15. Cultivando timocitos humanos inmaduros con IL-15 se obtienen células NK que expresan el receptor CD94/NKG2, pero no los receptores KIR⁴⁸. Se ha encontrado que NKG2A y C presentan una afinidad por la proteína no clásica del HLA-E⁴⁹.

NKG2D

NKG2D es un miembro de la superfamilia de las lecitinas tipo C⁵⁰⁻⁵¹, el

cual se relaciona muy poco con los receptores de la familia NKG2 y que no tiene asociación con CD94, ya que se expresa como un homodímero⁵⁰. Para que se lleve a cabo la unión *NKG2D-MIC* requiere de una proteína denominada DAP10⁵⁰, la cual funciona como adaptador transmembranal (Fig. 8) NKG2D está codificado por un gen que se encuentra dentro del NKC, en el cromosoma humano 12 y en el 6 en el caso del ratón. NKG2D se encuentra en todas las células NK tanto en humanos como en ratones⁵².

En ratones NKG2D, se encuentra expresado por todas las células NK, en algunos subtipos $\gamma\delta$ T en el bazo, en todas las células $\gamma\delta$ T epidérmicas, pero no en las células $\gamma\delta$ T provenientes del intestino⁵²⁻⁵³.

En el caso de los humanos NKG2D no está confinada a las células NK, se ha descubierto que la mayoría de los linfocitos $\gamma\delta$ T así como los $\alpha\beta$ T y los macrófagos presentan en su superficie al receptor NKG2D⁵⁴. Se ha observado que la expresión de NKG2D se ve aumentada en células NK por la acción de IFN α , IL-15 e IL12⁵⁵.

El receptor NKG2D tiene como ligandos varios grupos de proteínas que guardan una semejanza con las proteínas del MHC clase I, las cuales se encuentran presentes en células tumorales, células infectadas por virus y en células bajo condiciones de estrés fisiológico⁵⁶⁻⁵⁷: RAE-1 y H60 en ratones y MICA, MICB y ULBP en humanos⁵².

Los primeros ligandos para NKG2D en ser descubiertos en humanos fueron las proteínas relacionadas con las moléculas clase I del MHC: MICA y MICB⁵¹. Estas moléculas fueron inicialmente identificadas como ligandos para un subtipo de células $\gamma\delta$ T humanas⁵⁸⁻⁵⁹. Existe una gran semejanza entre MICA y MICB (cerca de un 85%)⁶⁰, pero existe una similitud muy pobre con respecto a las moléculas del MHC clase I (28–35%). Estas proteínas se encuentran conservadas en todos los mamíferos, excepto en los roedores⁶¹. Como ya se mencionó MICA y MICB son inducidas por estrés y difieren a las moléculas del MHC clase I en que no se asocian a la β -2 microglobulina, además de que no se ven involucradas en la presentación de antígenos⁶². MICA y MICB son muy polimórficos, pues se conocen más de 50 alelos diferentes para MICA y 13 para MICB, cifras que tal vez irán en aumento⁶³.

Las células NK y los linfocitos Vd1T los cuales son un subtipo de los linfocitos $\gamma\delta$ T, expresan este receptor en su superficie y puede esta unión *NKG2D-MIC* (Fig. 9) por sí sola desencadenar una respuesta citotóxica en contra de las células que presentan en su superficie las proteínas MIC⁶¹. Por otro lado se han reportado evidencias de que la presencia del receptor *NKG2D* funciona como un co-estimulador en la actividad citotóxica de las células

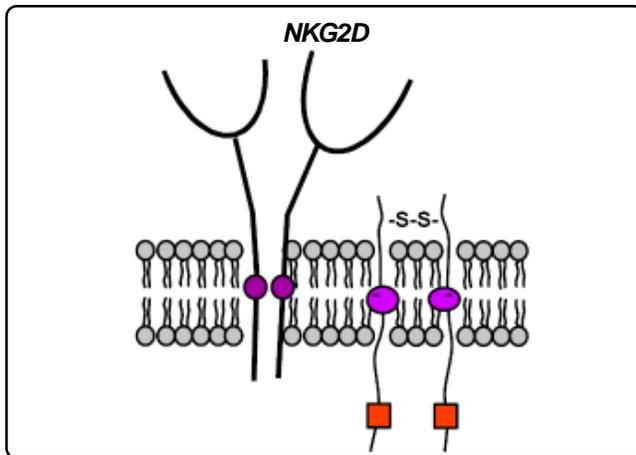


Figura 8. NKG2D y su adaptador molecular DAP 10.

$\gamma\delta T^{51,58,64}$. Las proteínas ULBPs son homólogos en sus dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ a las proteínas del MHC clase I, pero carecen de un dominio $\alpha 3$. ULBP1, 2 y 3 son entre 23 y 27% idénticas a MICA y MICB o a las proteínas del MHC clase I⁶⁵.

Se han encontrado transcritos para estas moléculas en células normales, pero se ha observado un aumento en tumores de colon y estómago, contrario a lo que sucede en tumores de riñón, en los cuales parece que hay una disminución de la ULBP. Cabe resaltar que la UL16, una proteína producida por el CMVH se une a las ULBPs y a MICB y una isoforma soluble de UL16 puede bloquear el reconocimiento entre NKG2D-MICB/ULBP sugiriendo esto un mecanismo de defensa viral interfiriendo en el reconocimiento de las proteínas de estrés fisiológico por parte del receptor NKG2D⁶⁵.

CONCLUSIÓN

Es evidente que el conocimiento sobre las células NK no es el mismo que hace 10 años, aunque aún no se termina de dilucidar completamente la manera en que se lleva a cabo la eliminación de células infectadas y/o tumorales, pero si es un hecho que el descubrimiento de la inmensa gama de receptores con los que cuenta esta estirpe celular ha ayudado a comenzar a comprender mecanismos que hasta hace poco eran un misterio. En un futuro se pretende entender a la perfección de que manera interactúan todos los receptores de las células NK con sus ligandos, de que mecanismos se valen ciertos virus para escapar de la vigilancia del sistema inmune y poder desarrollar los tumores, aún con la presencia de las células NK y todo su arsenal de receptores. Posiblemente existan otros receptores que aún no se han descubierto o quizá algunos ligandos no que se expresan evitando así la vigilancia de las células NK. En fin, que aún falta mucho por entender sobre la fascinante actividad de las células NK, pero alentados con los descubrimientos que se han dado hasta la fecha es posible en tiempos futuros resolver todo el misterio de las células NK.

REFERENCIAS

1. Robertson, MJ, Ritz J. Biology and clinical relevance of human

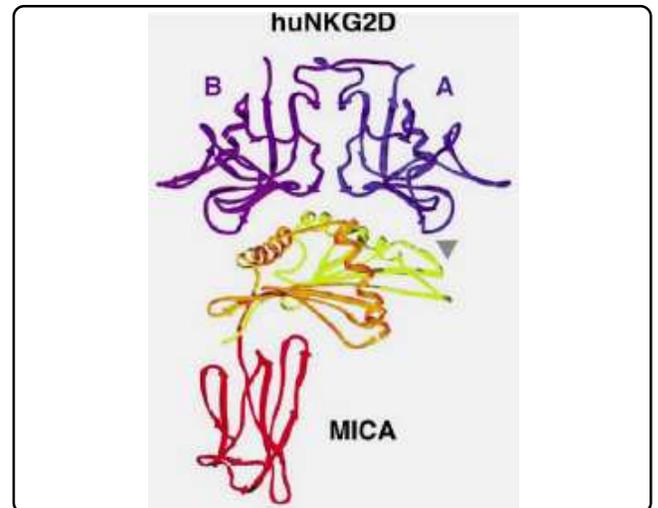


Figura 9. Estructura cristalográfica del complejo formado entre NKG2D y MICA⁶⁶.

natural killer cells. Blood 1991; 76:2421-2438.

2. García CA, Robinson J, Madrigal A, Marsh SGE. 2003. Natural killer cell receptors: Functional roles. Immunología. 2003; 22:190-202.

3. Baum, C. M., Weissman, I. L., Tsukamoto, A. S., Buckle, A-M., and Peault, B. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992; 89: 2804-2808.

4. Ayroldi, E., Sorci, G., Cannarile, L., and Riccardi, C. Effect of recombinant murine tumor necrosis factor on the generation of natural killer cells in bone marrow cultures. Nat. Immun. 1992; 11: 92-104.

5. Yung Y.P., Okumura K., and Moore M A.S. Generation of natural killer cell lines from murine long-term bone marrow cultures. J. Immunol. 1985; 134:1462-1468.

6. Sarneva M. Vujanovic NL, Van Den Brink MR, Herberman RB, and Hiserodt J C. Lymphokine-activated killer cells in rats: generation of natural killer cells and lymphokine-activated killer cells from bone marrow progenitor cells. 1989. Cell. Immunol. 1989; 118:448-457.

7. Van Den Brink M.R.M., Boggs S.S., Heberman R.B., and Hiserodt J.C. The generation of natural killer (NK) cells from NK precursor cells in rat long-term bone marrow cultures J. Exp. Med. 1990; 172: 303-313.

8. Spits, H., Lanier, L., and Phillips, J. H. Development of human T and natural killer cells. Blood. 1995; 85: 2654-2670.

9. Sadlack, B., Kuhn, R., Schorle, H., Rajewski, K., Muller, W., and Horak, I. Development and proliferation of lymphocytes in mice deficient for both interleukins-2 and -4. Eur. J. Immunol. 1994; 24:281-284.

10. Pahwa, R., Chatila, T., Pahwa, S., Paradise, C., Day, N. K., Geha, R., Schwarz, S. A., Slade, H., Oyaizu, N., and Good, R. A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990; 86:5069-5073.

11. Noguchi, M., Yi, H., Rosenblatt, H. M., Filipovich, A. H., Adelman, S., Modl, W. S., McBride, O. W., and Leonard, W. J. Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. Cell. 1993; 73: 147-157.

12. Sanchez, M-J., Muench, M. O., Roncarolo, M. G., Lanier, L., and Phillips, J. H. Identification of a common T/natural killer cell progenitor

- in human fetal thymus. *J. Exp. Med.* 1994; 180:569–576.
13. Abbas A.K., Lichtman A. H., Pober J. S. *Inmunología celular y molecular*. 4a. edición. Ed. McGraw-Hill. Madrid España 2003. pp 262.
 14. Trinchieri G. *Biology of natural killer cells*. *Adv. Immunol.* 1989; 47:187-376.
 15. Perussia B., Acuto A., Terhorst C., Faust J., Lazarus R., Fanning V., and Trinchieri G. Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. I. Characterization of the lymphocyte subset reactive with B73.1. *J. Immunol.* 1983; 130: 2142-2148.
 16. Nagler A., Lanier L.L., Cwirla S., and Phillips J.H.,. 1989. *J Immunol.* 143. 3183-3191.
 17. Bix M., Lia O N., Zijlstra M., Loring J., Jaenisch R., Raulet D. Rejection of class I MHC-deficient hemopoietic cells by irradiated MHC-matched mice. *Nature.* 1991; 349:329-331.
 18. Karlhofer F.M., Ribaldo R.K., Yokoyama W.M. MHC class I alloantigen specificity of Ly-49+ IL-2 activated natural killer cells. *Nature.* 1992; 358:66-70.
 19. Wagtmann N., Rajagopalan S., Winter C.C., Peruzzi M., Long E.O. Killer cell inhibitory receptors specific for HLA-A and HLA-B identified by direct binding and by functional transfer. *Immunity.* 1995; 3:801-809.
 20. Colonna M., Samaridis J. Cloning of immunoglobulin-superfamily members associated with HLA-C and HLA-B recognition by human natural killer cells. *Science.* 1995; 268:405-408.
 21. Carretero M., Cantoni C., Bellon T., Bottino C., Biassoni R., Rodriguez A., Perez-Villar J.J., Moretta L., Moretta A., Lopez-Botet M. The CD94 and NKG2-A C-type lectins covalently assemble to form a natural Killer cell inhibitory receptor for HLA class I molecules. *Eur. J. Immunol.* 1997; 27:563-567.
 22. Vance R.E., Tanamachi D.M., Hanke T., Raulet D.H. Cloning of a mouse homolog of CD94 extends the family of C-type lectins on murine natural Killer cells. *Eur. J. Immunol.* 1997; 27:3236-41.
 23. Braud VM, Allan D.S., O'Callaghan C.A., Soderstrom K., D'Andrea A., Ogg G.S., Lazetic S., Young N.T., Bell J.I., Phillips J.H., Lanier L.L., McMichael A.J. HLA-E binds to natural killer cell receptor CD94/NKG2A, B y C. *Nature.* 1998; 391:795-799.
 24. Vance RE, Kraft JR, Altman JD, Jensen PE, Raulet DH. Mouse CD94/NKG2A is a natural killer cell receptor for the nonclassical MHC class I molecule Qa-1^b. *J. Exp. Med.* 1998; 188: 1841-1848.
 25. Fan, Q.R., Long, E.O., and Wiley, D.C. Crystal structure of the human natural killer cell inhibitory receptor KIR2DL1-HLA-Cw4 complex. *Nat. Immunol.* 2001; 2:452–460.
 26. Vilches C, Gardiner CM, Parham P. Gene structure and promoter variation of expressed and nonexpressed variants of the KIR2DL5 gene. *J Immunol.* 2000; 165: 6416-6421.
 27. Vilches C, Parham P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 217-251.
 28. Rajagopalan, S., Fu, J., Long, E.O. 2001. Induction of IFN-production but not cytotoxicity by the killer cell Ig-like receptor KIR2DL4 (CD158d) in resting NK cells. *J. Immunol.* 2001; 167: 1877–1881.
 29. Borrego F, Rabat J, Kim D, Lieto L, Mazo K, Peña J, Solana R, Coligan JE. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Molecular Immunology.* 2001; 38: 637-660.
 30. Borges, L., Hsu, M.L., Fanger, N., Kubin, M., Cosman, D. A family of human lymphoid and myeloid Ig-like receptors, some of which bind to MHC class I molecules. *J. Immunol.* 1997; 159:5192–5196.
 31. Wilson, M.J., Torkar, M., Milne, S., Jones, T., Sheer, D., Beck, S., Trowsdale, J. Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000; 97:4778–4783.
 32. Colonna, M., Navarro, F., Bellon, T., Llano, M., Garcia, P., Samaridis, J., Angman, L., Cella, M., López-Botet, M. A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells. *J. Exp. Med.* 1997; 186: 1809– 1818.
 33. Chapman, T.L., Heikeman, A.P., Bjorkman, P.J. The inhibitory receptor LIR-1 uses a common binding interaction to recognize class I MHC molecules and the viral homolog UL18. *Immunity.* 1999; 11: 603–613.
 34. Andre, P., Biassoni, R., Colonna, M., Cosman, D., Lanier, L.L., Long, E.O., López-Botet, M., Moretta, A., Moretta, L., Parham, P., Trowsdale, J., Vivier, E., Wagtmann, N., Wilson, M.J., New nomenclatura for MHC receptors. *Nat. Immunol.* 2001; 2: 661.
 35. Solosky MJ. Recognition of tumor cells by the innate immune system. *Current Opinion in Immunology.* 2001; 13:154–162.
 36. Sivori, S., Vitale, M., Morelli, L., Sanseverino, L., Augugliaro, R., Bottino, C., Moretta, L., Moretta, A. p46, a novel natural killer cell-specific surface molecule which mediates cell activation. *J. Exp. Med.* 1997; 186:1129–1136.
 37. Pessino, A., Sivori, S., Bottino, C., Malaspina, A., Morelli, L., Moretta, L., Biassoni, R., Moretta, A. Molecular cloning of NKp46: a novel member of the immunoglobulin superfamily involved in triggering of natural cytotoxicity. *J. Exp. Med.* 1998; 188:953–960.
 38. Biassoni, R., Pessino, A., Bottino, C., Pende, D., Moretta, L., Moretta, A. The murine homologue of the human NKp46 a triggering receptor involved in the induction of natural cytotoxicity. *Eur. J. Immunol.* 1999; 29:1014–1020.
 39. Sivori, S., Pende, D., Bottino, C., Marcenaro, E., Pessino, A., Biassoni, R., Moretta, L., Moretta, A. NKp46 is the major triggering receptor involved in the natural cytotoxicity of fresh or cultured human natural killer cells. Correlation between surface density of NKp46 and natural cytotoxicity against autologous, allogeneic or xenogeneic target cells. *Eur. J. Immunol.* 1999; 29:1656–1666.
 40. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, Biassoni R, Moretta L. 2001. Activating receptors and coreceptors Involved in human natural killer Cell-mediated cytotoxicity. *Annu. Rev. Immunol.* 2001. 19:197–223.
 41. Vitale, M., Bottino C., Sivori S., Sanseverino L., Castriconi R., Marcenaro E., Augugliaro R., Moretta L., Moretta A. NKp44, a novel triggering surface molecule specifically expressed by activated natural killer cells is involved in non-MHC restricted tumor cell lysis. *J. Exp. Med.* 1998; 187: 2065-2072.
 42. Ferrini S, Miescher S, Zocchi MR, Von Flidner V, Moretta A. Phenotypic and functional characterization of recombinant interleukin-

- 2 (rIL-2)-induced killer cells: analysis at the population and the clonal level. *J. Immunol.* 1987; 138:1297–1302.
43. Rosenberg A, Lotze MT. Cancer immunotherapy-2 and interleukin-2 activated lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.* 1986; 4:681–09.
44. Pende, D., Parolini, S., Pessino, A., Sivori, S., Augugliaro, R., Morelli, L., Marcenaro, E., Accame, L., Malaspina, A., Biassoni, R., Bottino, C., Moretta, L., Moretta, A., 1999. Identification and molecular characterization of Nkp30, a novel triggering receptor involved in natural cytotoxicity mediated by human natural killer cells. *J. Exp. Med.* 1999; 190:1505–1516.
45. López-Botet, M., Bellon, T. Natural killer cell activation and inhibition by receptors for MHC class I. *Curr. Opin. Immunol.* 1999; 11:301–307.
46. Barten, R., Torkar, M., Haude, A., Trowsdale, J., Wilson, M.J. Divergent and convergent evolution of NK-cell receptors. *Trends Immunol.* 2001; 22: 52–57.
47. Guethlein LA, Flodin L, Adams EJ, Parham P. NK cell receptors of the orangutan (*Pongo pygmaeus*): a pivotal species for tracking the co-evolution of killer cell Ig-like receptors and MHC-C. *J Immunol* 2002; 169:220-229.
48. Mingari MC, Vitale C, Cantoni C, Bellomo R, Ponte M, Schiavetti F, Bertone S, Moretta A, Moretta L. Interleukin 15-induced maturation of human natural killer cells from early thymic precursors: selective expression of CD94/NKG2-A as the only HLA class I specific inhibitory receptor. *Eur J. Immunol.* 1997; 27: 1374-1380.
49. Borrego, F., Ulbrecht, M., Weiss, E.H., Coligan, J.E., Brooks, A.G. Recognition of Human Histocompatibility Leukocyte Antigen (HLA)-E complexed with HLA class I signal sequence derived peptides by CD94/NKG2 confers protection from natural killer cell-mediated lysis. *J. Exp. Med.* 1998; 187:813–818.
50. Wu, J., Song, Y., Bakker, A.B., Bauer, S., Spies, T., Lanier, L.L., Phillips, J.H. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10. *Science* 1999; 285:730–732.
51. Bauer, S., Groh, V., Wu, J., Steinle, A., Phillips, J.H., Lanier, L.L., Spies, T. Activation of NK cells and T cells by NKG2D a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 1999; 285:727–729.
52. Diefenbach A., Jamieson A.M., Liu S.D., Shastri N., Raulet D.H. Ligands for the murine NKG2D receptor: expression by tumor cells and macrophages. *Nat. Immunol.* 2000; 1:119-126.
53. Jamieson A.M., Diefenbach A., McMahon C.W., Xiong N., Carlyle J.R., Raulet D.H. The role of the NKG2D immunoreceptor in immune cell activation and natural killing. *Immunity.* 2002; 17:19-29.
54. Vetter C.S., Groh V., Straten P., Spies T., Brocker E., Becker J.C. Expression of stress-induced MHC class I related chain molecules on human melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 2002; 118:600-605.
55. Sutherland CL, Chalupny NJ, Schooley K, VandenBos T, Kubin M, Cosman D. UL16-binding proteins, novel MHC class I-related proteins, bind to NKG2D and activate multiple signaling pathways in primary NK cells. *J Immunol.* 2002; 168:671-679.
56. Mendoza-Rincon J.F., Partida, O., Soto-Cruz, I., Rangel-Corona, R., Corona-Ortega, T., García del Valle, A., Weiss Steider, B. Los genes MIC (MHC class I related genes): su importancia en la respuesta inmune no especifica y en condiciones patológicas. *Vertientes* 2001; 4:7-12.
57. Diefenbach A. and Raulet D.H. Natural killer cells: Stress out, turn on, tune in. *Current Biology.* 1999; 9:22:851-853.
58. Groh V, Steinle A, Bauer S and Spies T. Recognition of stress-induced MHC molecules by intestinal epithelial $\gamma\delta$ T cells. *Science.* 1998; 279:1737-40.
59. Wu J, Groh V, Spies T. 2002. T cell antigen receptor engagement and specificity in the recognition of stress-inducible MHC class related chains by human epithelial $\alpha\alpha$ T cells. *J. immunol.* 2002; 169:1236-1240.
60. Bahram, S., Spies, T.A. Nucleotide sequence of a human MHC class I MICB cDNA. *Immunogenetics* 1996; 43:230–233.
61. Das H., Groh V., Kujil C., Sugita M., Morita C.T., Spies T., & Bukowski J.F. *MICA* Engagement by human $V\gamma 2V\delta 2$ T cells enhances their antigen-dependent effector function. *Immunity.* 2001; 15:83-93.
62. Li P., Wilie ST., Bauer S., Morris DL., Spies T., Strong RK. Crystal structure of the MHC class I homolog MIC-A a $\alpha\alpha$ T cell ligand. *Immunity.* 1999; 10:1-20.
63. Stephens H.A. 2001. *MICA* and *MICB* genes: can the enigma of their polymorphism be resolved?. *Trends Immunology.* 2001; 22:378-85.
64. Kennedy C., Naipal A., Gruis N.A., Struijk L., terSchegget J., Willemze R., Claas F.H., Bouwes Bavinck J.N., Doxiadis II. *MICA* gene polymorphism is not associated with an increased risk for skin cancer. *J. Invest Dermatol.* 2002; 118:686-691.
65. Cosman, D., Mullberg, J., Sutherland, C.L., Chin, W., Armitage, R., Fanslow, W., Kubin, M., Chalupny, N.J. ULBPs, novel MHC class I-related molecules, bind to CMV glycoprotein UL16 and stimulate NK cytotoxicity through the NKG2D receptor. *Immunity.* 2001; 14:123–133.
66. Strong R K. Asymmetric ligand recognition by the activating natural killer cell receptor NKG2D, a symmetric homodimer. *Molecular Immunology.* 2001; 38: 1029–1037.