

Las implicaciones de la hipermutación somática, en la generación de la diversidad en la respuesta inmunológica

José A. García
 Coordinación General de Investigación, Universidad La Salle
 <jgarcia@ci.ulsal.mx>

RESUMEN

Se presenta un breve análisis de las implicaciones del fenómeno de hipermutación somática en los receptores linfoides inmunocompetentes. Se destaca la implicación de dicho fenómeno en el receptor de células T (TCR).

Palabras clave: hipermutación somática, receptores linfoides inmunocompetentes.

ABSTRACT

A brief analysis of the implications of somatic hypermutation phenomena in the lymphoid immunocompetent receptors is presented. The implication of this event in the T-cell receptor (TCR) is emphasized.

Keywords: somatic hypermutation, lymphoid immunocompetent receptors.

INTRODUCCIÓN

Una de las propiedades más importantes de la respuesta inmune consiste en la gran diversidad de moléculas que pueden ser reconocidas por sus receptores, especialmente por el anticuerpo. Se puede considerar un repertorio potencial de 10⁹ clonas de linfocitos B específicos que son generados en la médula ósea de los vertebrados adultos.

La generación de la diversidad se produce mediante dos mecanismos. El primero ocurre en el proceso de diferenciación de las células B y está dado por el rearreglo de los genes variables (V), de diversidad (D) y de unión (J) de la cadena pesada del anticuerpo, así como de los genes V y J de la cadena ligera (1). En este proceso se genera la mayor parte del repertorio de células B. El segundo es por la hipermutación somática.

Durante la ontogenia del linfocito B, las células inmaduras al encontrarse con su antígeno

son eliminadas por apoptosis, lo que disminuye el número de células potencialmente autorreactivas (2). Aquéllas que superan este proceso salen a circulación para recorrer los diferentes órganos linfáticos en busca de su antígeno.

Cuando el receptor de células B (BCR) se encuentra con su antígeno, ocurre el proceso de activación y diferenciación a células plasmáticas. Si este proceso se lleva a cabo en los centros germinales y además interviene de manera directa el linfocito T, entonces ocurre el proceso de hipermutación somática, con lo que se aumenta el repertorio original (3). Dada la presencia del antígeno en estas zonas, se favorece la proliferación de las clonas con mayor afinidad, por lo que la hipermutación somática está asociada a un proceso de maduración de la afinidad (4).

La participación del linfocito T CD4⁺ en la hipermutación somática es dosis dependiente y a través de moléculas de adhesión específicas

como el ligando de CD40 y el CD28 que interactúan en la célula B con CD40 y B7 respectivamente (5). El proceso parece activarse en el estadio del centroblasto para que posteriormente las células dendríticas foliculares (FDCs) seleccionen a las células B en el estadio del centrocito (6).

LOS CENTROS GERMINALES (GCs)

En la pulpa blanca del bazo se pueden distinguir 3 regiones: la zona marginal (MZ); la cubierta linfóide periarteriolar (PALS); y el folículo. La primera representa el sitio de entrada de los linfocitos de la circulación al bazo y es también hogar de macrófagos especializados y una subpoblación de linfocitos B IgMhlgDlo. En la PALS encontramos el área de células T, que además es rica en células dendríticas interdigitantes, un tipo de célula presentadora de antígeno (APC). El folículo es el área de células B de la pulpa blanca que contiene además FDCs que actúan "atrapando" de manera eficiente al antígeno (7).

Los linfocitos B y T que se encuentran en circulación entran a la MZ para luego ingresar a la PALS donde los linfocitos T permanecen; las células B continúan hacia el folículo. En ausencia de estimulación antigénica ambos linfocitos regresan a circulación probablemente a través del seno marginal (7).

En la presencia de antígeno el panorama anterior cambia de manera radical. El antígeno se localiza inicialmente asociado a las células dendríticas interdigitantes quienes presentan éste a las células T específicas, deteniendo su migración e induciéndolas a proliferar (8). Los linfocitos B estimulados por el antígeno, migran hacia la PALS donde reciben la cooperación de células T y proliferan en consecuencia. La mayoría de los linfocitos B sufre un proceso de diferenciación a células plasmáticas productoras de anticuerpos de la clase IgM en principio, pero posteriormente pueden hacer el switch a otro isotipo (IgG, IgE, IgA). Estas células tienen un tiempo de vida media relativamente corto y mueren por apoptosis en aproximadamente 2 semanas tras el estímulo antigénico original. Algunas células B y T específicas migran hacia folículos adyacentes, donde el antígeno se encuentra asociado a la membrana de las FDCs (9). Las células B que migran hacia

los folículos proliferan localmente para formar GCs. Dentro de las moléculas que intervienen en el fenómeno se encuentran los factores de transcripción OCA-B/Bob-1/OBF-1 (10) y SPI-B (11); los receptores para el complemento 1 y 2 (CD21/CD35) (12); así como la expresión de las proteínas BCL-6 (13) y OX40 (14).

El GC contiene inicialmente sólo centroblastos en división y posteriormente presenta las características zonas oscuras y luminosas que contienen a los centroblastos y a los centrocitos (que no se dividen) respectivamente. La zona luminosa es la región del GC rica en la red de FDCs donde gran parte de los complejos inmunes son "atrapados". Se piensa que la hipermutación somática de los genes variables de las inmunoglobulinas ocurre en los centroblastos Ig- que subsecuentemente migran hacia la zona luminosa donde re-expresan la inmunoglobulina de superficie (7).

En esta zona, aquellas clonas con suficiente afinidad por el antígeno sobreviven, mientras que el resto muere por apoptosis, aunque se ha reportado, que algunas de estas últimas clonas pueden ser rescatadas por una nueva activación de los genes RAG-1 y RAG-2, responsables de la recombinación de los genes en la región variable (15). Dada la alta concentración de células B en los GCs, se presenta el fenómeno de competencia por el antígeno que se encuentra en las FDCs, con lo que aquellas clonas con mayor afinidad se verán favorecidas. Las clonas que fueron seleccionadas positivamente, pueden reingresar a la zona oscura para posteriores eventos de mutación y selección, con lo que se va mejorando la afinidad de la respuesta inmunológica (Fig. 1).

CARACTERÍSTICAS DE LA HIPERMUTACIÓN SOMÁTICA EN CÉLULAS B

La hipermutación somática de los genes V(D)J del anticuerpo es activada en las células B que se encuentran en los GCs, donde son introducidas mutaciones puntuales y, en menor grado, inserciones y deleciones en una región de 1 a 2 kilopares de bases por abajo del sitio de inicio de la transcripción (16).

La característica más sobresaliente de la hipermutación somática, es precisamente el rango

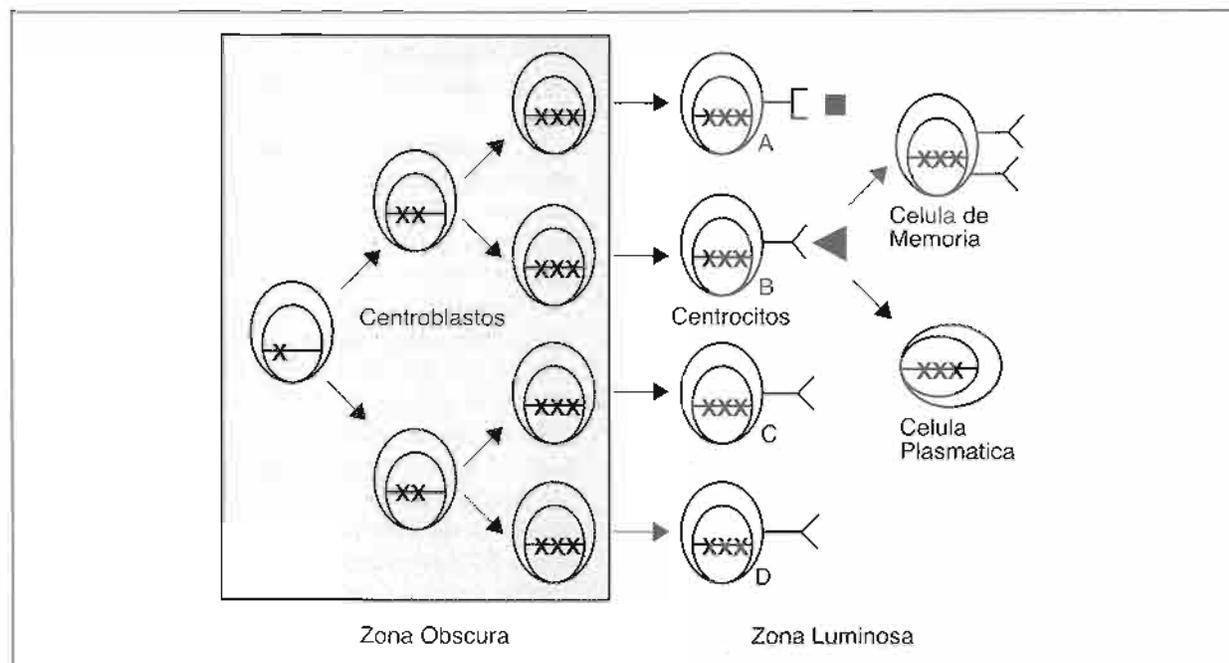


Figura 1 Selección positiva de clones inmunocompetentes tras la hipermutación somática del anticuerpo. A: existe contacto con el antígeno (vía FDC) pero no hay cooperación de T, con la consecuente apoptosis. B: hay contacto tanto con el antígeno (vía FDC) como con el ligando de CD40 (CD40-L) en la superficie del linfocito T; consecuentemente la clona se activa y se generan células de memoria y células plasmáticas productoras de anticuerpos. C y D: no se encuentra el antígeno en el GC o la afinidad del receptor es muy baja; estas clonas se eliminan por apoptosis.

tan alto de mutación que se presenta, y que se estima que puede alcanzar hasta una mutación puntual por cada 1000 bp por generación celular, la cual supera en varios órdenes de magnitud a la mutación espontánea (3). Casi todas las mutaciones encontradas son por sustitución, con muy pocas inserciones o deleciones de nucleótidos. Existe evidencia de que sólo una de las cadenas del DNA sufre el proceso, lo que descarta la posibilidad de atribuir el fenómeno a la acción de la DNA polimerasa (3).

En el proceso de la hipermutación somática, se ha reportado una mayor frecuencia de mutación en ciertas regiones llamadas hot spots, las cuales se encuentran concentradas en las regiones hipervariables (CDRs) más que en las regiones del armazón (framework). La presencia de hot spots parece estar dada por los codones de serina AGY (donde Y = ?) en las regiones hipervariables (17).

HIPERMUTACIÓN SOMÁTICA EN EL RECEPTOR DE CÉLULAS T (TCR)

El fenómeno de la hipermutación somática se ha considerado por años que sólo ocurre en los genes variables del anticuerpo. En uno de los primeros intentos por tratar de observar este proceso en el TCR se transfirieron células B con un transgén del TCR bajo el control del amplificador de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (18). En este modelo no se reportaron mutaciones en las regiones variables del TCR, a pesar de que los anticuerpos sí los llevaron a cabo.

La hipermutación somática en el TCR se reportó por primera vez en las cadenas alfa de un receptor murino (19). En estos experimentos no se encontró hipermutación somática en las cadenas beta y tanto la frecuencia como la naturaleza de las sustituciones de las mutaciones de las cadenas alfa fueron similares al caso del

anticuerpo. Este grupo reportó evidencia directa de que una pequeña población de células T antígeno-específicas que son reclutadas de centros germinales del bazo, adquieren mutaciones en las regiones que codifican para los genes variables de la cadena α del TCR (Va), pero no en las cadenas β . Aseveraron que las mutaciones locus-específicas encontradas alcanzan frecuencias comparables con los exones de VH de inmunoglobulinas mutadas recuperadas del mismo sitio y que presentan una substitución de bases similar y polaridad en las cadenas del DNA. Linfocitos T que presentan mutaciones idénticas aparecen en múltiples GCs, lo que posiblemente implique que algunas células que llevan TCRs mutados puedan recircular a través del sistema linfático.

Posteriormente se reportaron mutaciones en la cadena beta de otro receptor murino, aunque no se reportaron estos cambios como hipermutación somática (20). Cabe notar que el grado de mutación en este caso no fue del mismo grado que el reportado por el grupo de Kelsoe (19), donde la frecuencia de hipermutaciones puede deberse al hecho de que las células T fueron aisladas de los centros germinales (GC) donde se sabe que ocurre este fenómeno en el caso del anticuerpo.

Más recientemente se reportó la presencia de hipermutación somática en la cadena beta 3 (Vb3) del TCR en muestras de bazo microdisccionado de pacientes seropositivos para el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (21). En dichas muestras se encontró que tanto la frecuencia de mutaciones como de la naturaleza de las sustituciones era similar al caso del anticuerpo. Este representa el primer reporte del fenómeno en humanos, ya que artículos anteriores sólo habían estudiado receptores murinos.

IMPLICACIONES DE LA HIPERMUTACIÓN SOMÁTICA

La hipermutación somática genera nuevas especificidades en el repertorio de la respuesta inmunológica. Como consecuencia de este fenómeno, pueden producirse clones potencialmente autorreactivos. En el caso de las células B, las clones autorreactivas son eliminadas dada su susceptibilidad elevada a las señales de apoptosis que no pueden ser revertidas

debido tanto a la ausencia de antígeno específico en la superficie de las FDCs, como de la falta de cooperación con las células T (Figura 1).

En el caso de las células T el mecanismo de hipermutación somática ha sido descrito recientemente, por lo que se dificulta su interpretación. Es posible que este fenómeno también genere clones potencialmente autorreactivos, que en principio tendrían que ser eliminadas vía apoptosis. Sin embargo, permanece la posibilidad de que se generen clones autorreactivos de células B y T de manera simultánea (es decir, para el mismo antígeno) y que esta especificidad se encuentre representada dentro de las moléculas presentadas por las FDCs. En este último caso quedaría latente el desarrollo de una enfermedad autoinmune.

REFERENCIAS

- (1) Bernard, O., N. Hozumi, & S. Tonegawa, "Sequences of mouse immunoglobulin light chain genes before and after somatic changes", *Cell* 15, pp. 1133-1144, 1978.
- (2) Burnet, F.M., *The clonal selection theory of acquired immunity*, The University Press, Cambridge, UK., 1959.
- (3) Storb, U. "The molecular basis of somatic hypermutation of immunoglobulin genes", *Curr. Opin. Immunol.* 8, pp. 206-214, 1996.
- (4) Pierre, D.M., et al. "Somatic evolution in the immune system: the need for germinal centers for efficient affinity maturation", *J. theor. Biol.* 186, pp. 159-171, 1997.
- (5) Han, S., et al., "Cellular interaction in germinal centers. Roles of CD40 ligand and B7-2 in established germinal centers", *J. Immunol.* pp. 155, 556-567, 1995.
- (6) Kelsoe, G. "In situ studies of germinal center reaction", *Adv. Immunol.* 60, pp. 267-288, 1995.
- (7) Tarlinton, D. "Germinal centers: form and function", *Curr. Opin. Immunol.* 10, pp. 245-251, 1998.
- (8) Kearney, E.R., et al. "Visualization of peptide-specific T cell immunity and peripheral tolerance induction *in vivo*", *Immunity* 1, pp. 327-339, 1994.
- (9) Jacobs, J. & G., Kelsoe, "In situ studies of the primary immune response to 4-hydroxy-3-nitrophenyl acetyl II. A common clonal origin for periaarteriolar lymphoid sheath-asso-

- ciated foci and germinal centers", *J. Exp. Med.* 176, pp. 679-687, 1992.
- (10) Kim, U., *et al.*, "The B cell specific transcription coactivator OCA-B/OBF-1/Bob-1 is essential for normal production of immunoglobulin isotypes", *Nature* 383, pp. 542-547, 1996.
- (11) Su, G.H., *et al.*, "Defective B cell receptor-mediated responses in mice lacking the ETS protein, SPI-B", *EMBO J.* 16, pp. 7118-7129, 1997.
- (12) Molina, M., *et al.*, "Markedly impaired humoral immune response in mice deficient in complement receptors 1 and 2". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, pp. 3357-3361, 1996.
- (13) Fukuda, T., *et al.*, "Disruption of the Bcl6 gene results in impaired germinal center formation", *J. Exp. Med.* 186, pp. 439-448, 1997.
- (14) Stüber, E. & W. Strober, "The T cell-B cell interaction via OX40-OX40L is necessary for the T cell-dependent humoral immune response", *J. Exp. Med.* 183, pp. 979-989, 1996.
- (15) Han, S., *et al.*, "V(D)J recombinase in a subset of germinal center B lymphocytes", *Science* 278, pp. 301-305, 1997.
- (16) Kelsoe, G., "V(D)J hypermutation and receptor revision: coloring outside the lines", *Curr. Opin. Immunol.* 11, pp. 70-75, 1999.
- (17) Wagner, S., C. Milstein & M. Neuberger, "Codon bias targets mutation", *Nature* 376, pp. 732, 1995.
- (18) Hackett, J.Jr., *et al.* "Analysis of a T cell receptor gene as a target of the somatic hypermutation mechanism". *J. Exp. Med.* 176, pp. 225-231, 1992.
- (19) Zheng, B., W. Xue & G. Kelsoe, "Locus-specific somatic hypermutation in germinal center T cells", *Nature* 372, pp. 556-559, 1994.
- (20) MacHeyzer-Williams, M.G. & M.M. Davis, "Antigen-specific development of primary and memory T cells *in vivo*", *Science* 268, pp. 106-111, 1995.
- (21) Cheynier, R., S. Henrichwark & S. Wain-Hobson, "Somatic hypermutation of the T cell receptor Vb gene in microdissected splenic white pulps from HIV-1 positive patients". *Eur. J. Immunol.* 28, pp. 1604-1610, 1998.