

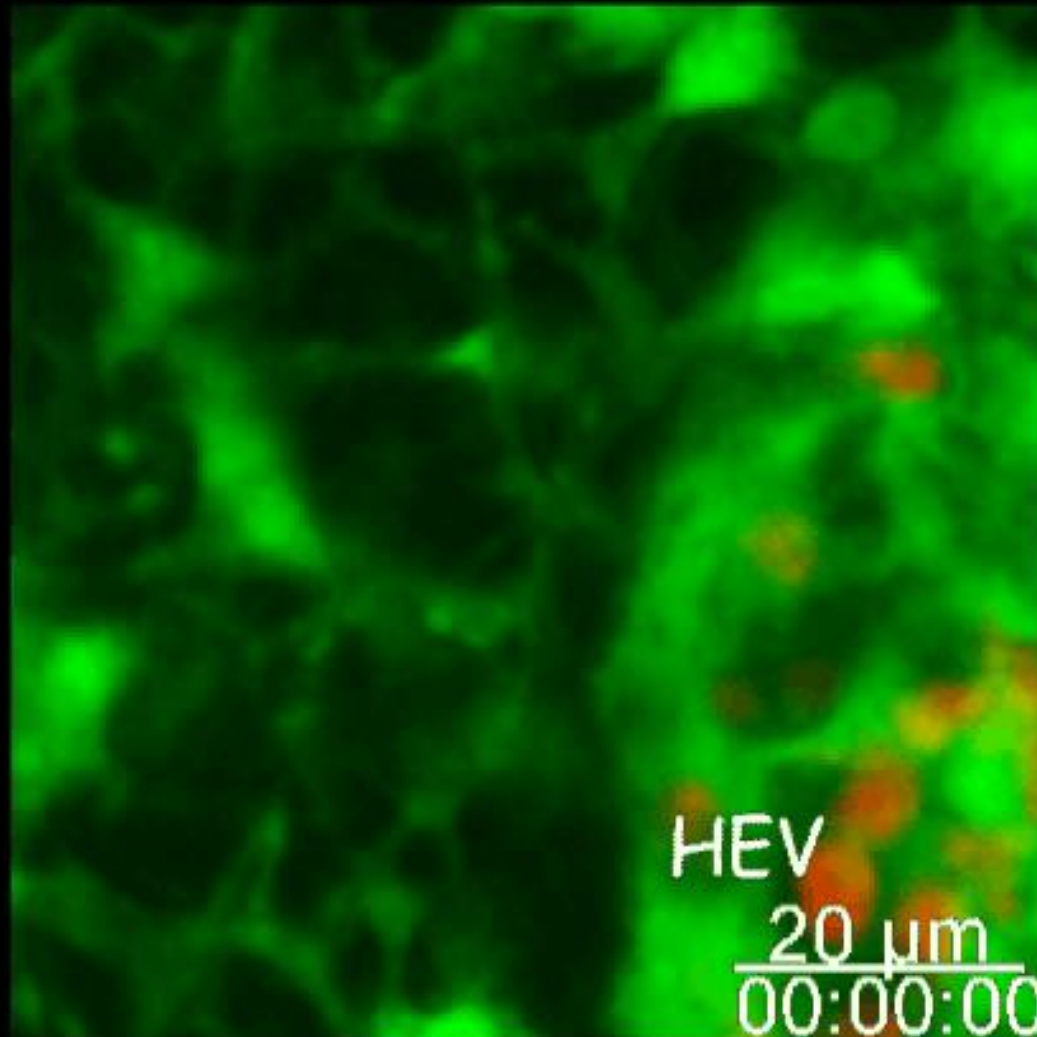
MECANISMOS DE RECIRCULACIÓN Y ALOJAMIENTO DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE

MORELLA BOUCHARD

2018



Linfocito T saliendo de la vénulas de endotelio alto (HEV) hacia la paracorteza en el NLP, a través de la red de células reticulares fibroblásticas



OBJETIVOS

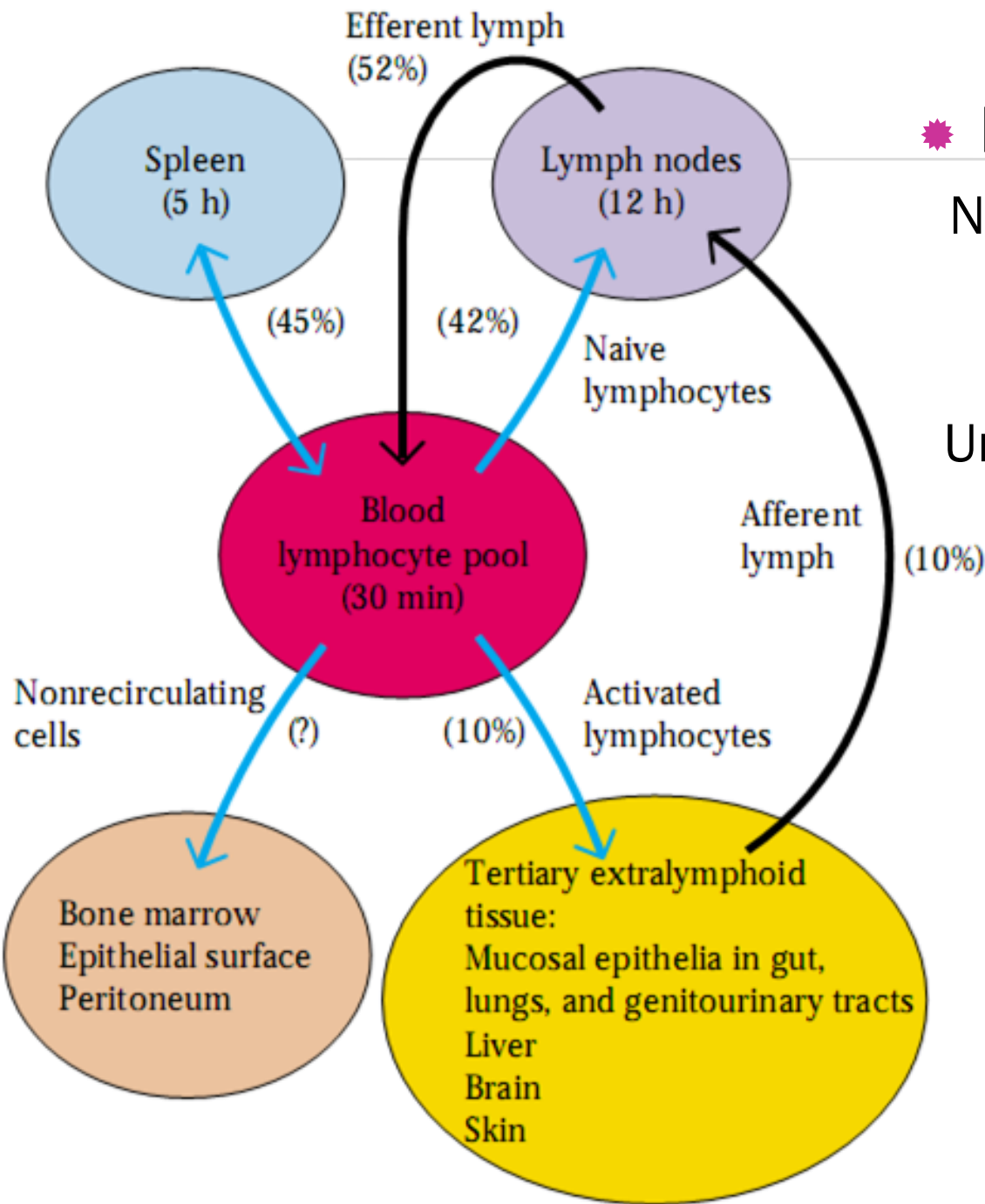
- ✓ Definir los elementos que participan en la migración leucocitaria
- ✓ Describir las selectinas.
- ✓ Describir las vénulas endoteliales altas y su papel en el proceso de recirculación de linfocitos.
- ✓ Describir las integrinas.
- ✓ Describir las quimiocinas y sus receptores.
- ✓ Papel de las quimiocinas en la anatomía funcional de los órganos linfoides secundarios
- ✓ Explicar el proceso de recirculación de las poblaciones linfoides y su papel en la modulación de la respuesta inmune.
- ✓ Explicar el proceso de alojamiento (*homing*) de las poblaciones linfoides y su papel en la modulación de la respuesta inmune.

MIGRACIÓN LEUCOCITARIA

RECIRCULACIÓN

RECLUTAMIENTO

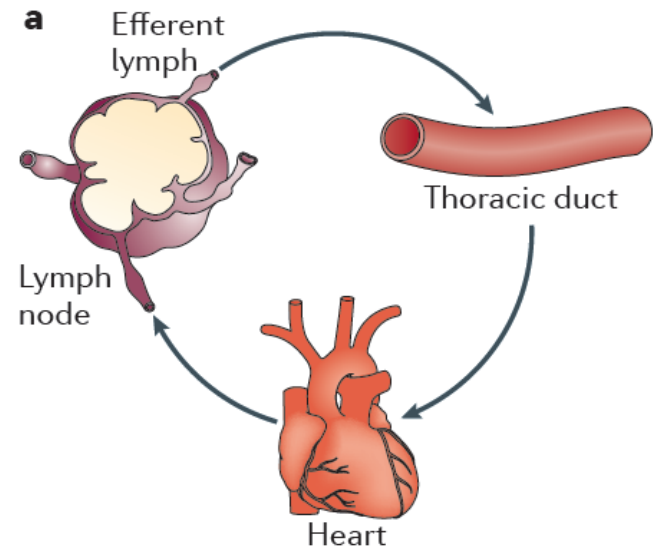
ALOJAMIENTO



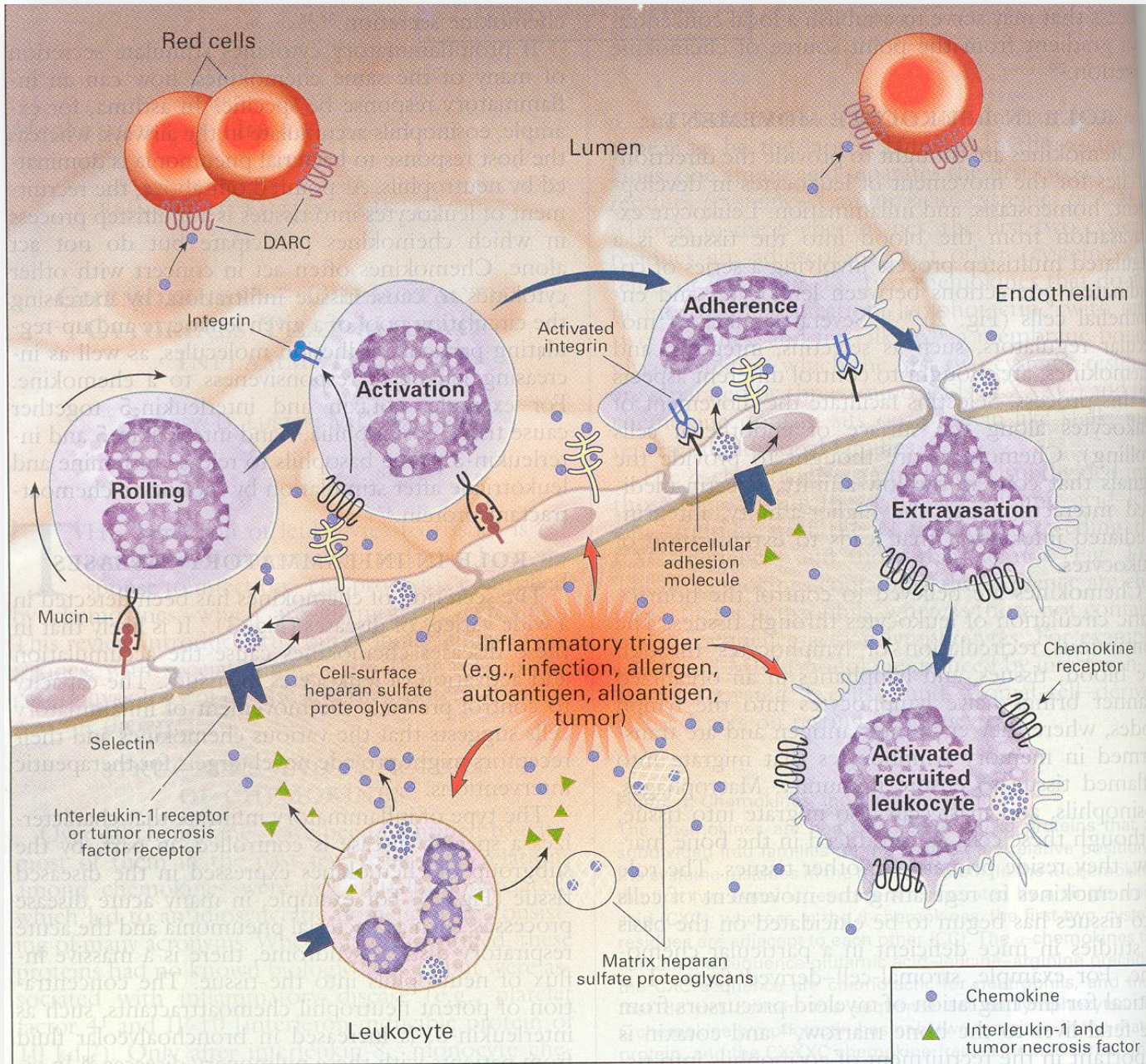
Recirculación

Necesario para la vigilancia inmune

Un linfocito recorre el circuito sangre-tejidos y nódulos linfáticos-sangre 1 a 2 veces por día

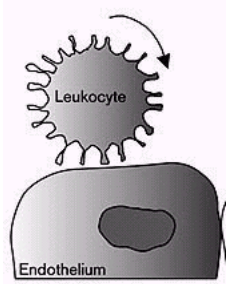


Reclutamiento a los sitios de inflamación



OBJETIVOS DE LA MIGRACIÓN LEUCOCITARIA

- Inmunovigilancia
- Distribución de los leucocitos del linaje mieloide (neutrófilos y monocitos) desde su sitio de maduración en la médula ósea, hacia los lugares donde hay una respuesta inflamatoria
- Distribución de los linfocitos desde sus sitios de maduración (médula ósea o timo) a los órganos linfoides secundarios
- Distribución de los linfocitos efectores desde los órganos linfoides secundarios hacia cualquier tejido
- Dirigir poblaciones de linfocitos hacia los microambientes que controlan su diferenciación y su sobrevivencia.
- Orquestar y preparar el repertorio de células reguladoras y de memoria.



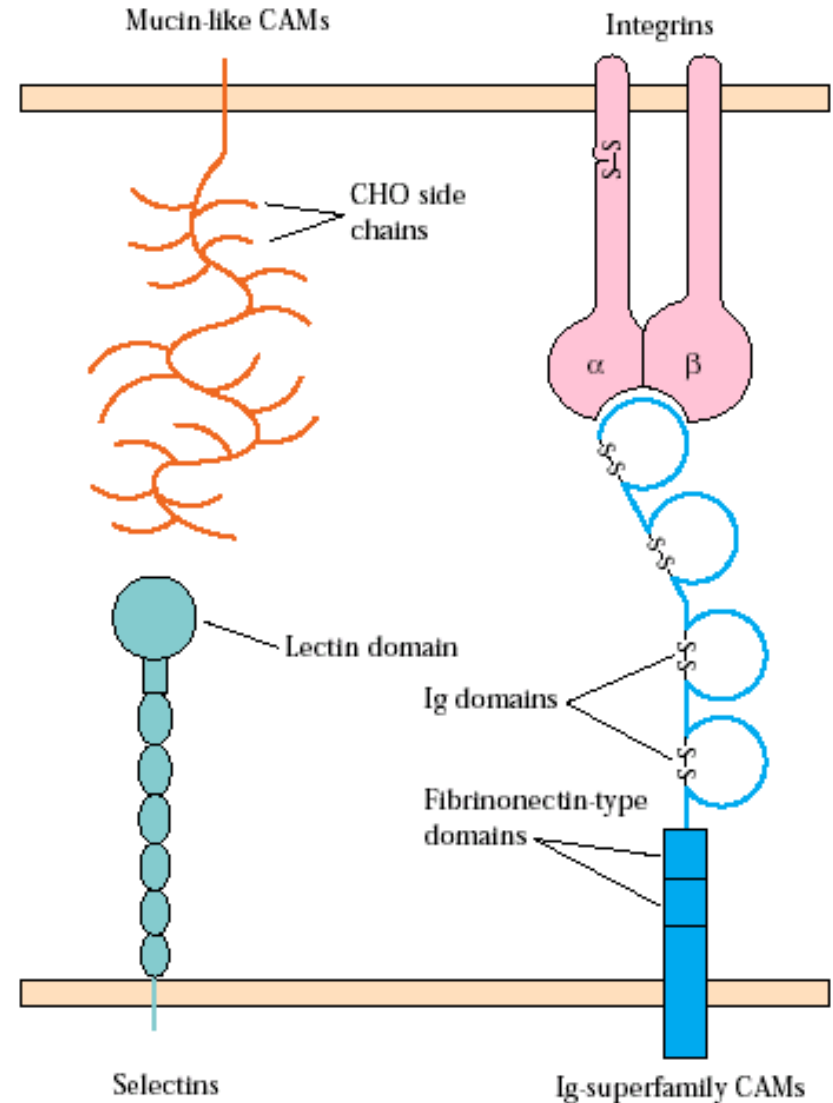
ELEMENTOS QUE PARTICIPAN EN EL PROCESO DE MIGRACIÓN LEUCOCITARIA

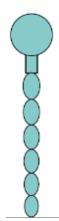
- ✿ MOLÉCULAS DE ADHESIÓN
- ✿ QUIMIOKINAS y otras moléculas quimiotácticas
- ✿ CITOCINAS
- ✿ HEVs

MOLÉCULAS DE ADHESIÓN

- ✿ Selectinas
- ✿ Mucinas
- ✿ Integrinas
- ✿ CAMs Superfamilia de las Igs

(a) General structure of CAM families





SELECTINAS

■ Interactúan con mucinas

L Selectina (CD62-L)	E Selectina (CD62-E)	P Selectina (CD62-P)
<ul style="list-style-type: none">-Expresada sobre LT naive-Ligandos<ul style="list-style-type: none">PNAdGlyCAM-1CD34MadCAM-1PSGL-1-Induce incremento de IL-8, TNFα y β2 integrinas	<ul style="list-style-type: none">-Expresada sobre endotelio activado-Ligandos<ul style="list-style-type: none">Ag Sialyl Lewis^xCLAPSGL-1- Acúmulo de células en sitio de la inflamación	<ul style="list-style-type: none">-Expresada sobre plaquetas y endotelio activado-Ligandos<ul style="list-style-type: none">Ag Sialyl Lewis^xPSGL-1-Recluta PMN y monocitos en sitios de inflamación



MUCINAS O ADRESINAS

- Proteínas ricas en serina y treonina altamente glicosiladas
- Ligandos de selectinas

PNAd

GlyCAM-1

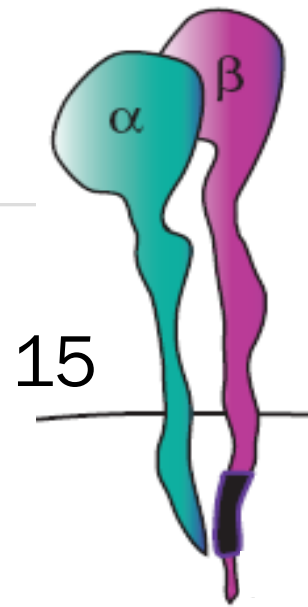
CD34

PSGL-1

MadCAM-1

INTEGRINAS

- Proteínas heterodiméricas:
tipos de cadena α y 7 tipos de cadena β
- Subfamilias de acuerdo a la cadena β
- Ligandos: CAMs superfamilia de las Igs



Integran matriz extracelular con citoesqueleto intracelular para mediar funciones de adhesión y migración

CAMS SUPERFAMILIA DE LAS IGS

- Contienen dominios similares a Igs
- Ligandos de integrinas

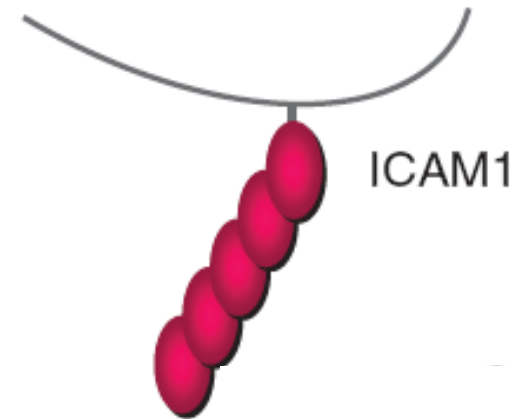
ICAM-1

ICAM-2

ICAM-3

VCAM

PECAM-1



- Citocinas quimiotácticas, de 8-12 kd
- Homología 20-70% en la secuencia de sus aa

QUIMIOCINAS

α Quimiocinas

β Quimiocinas

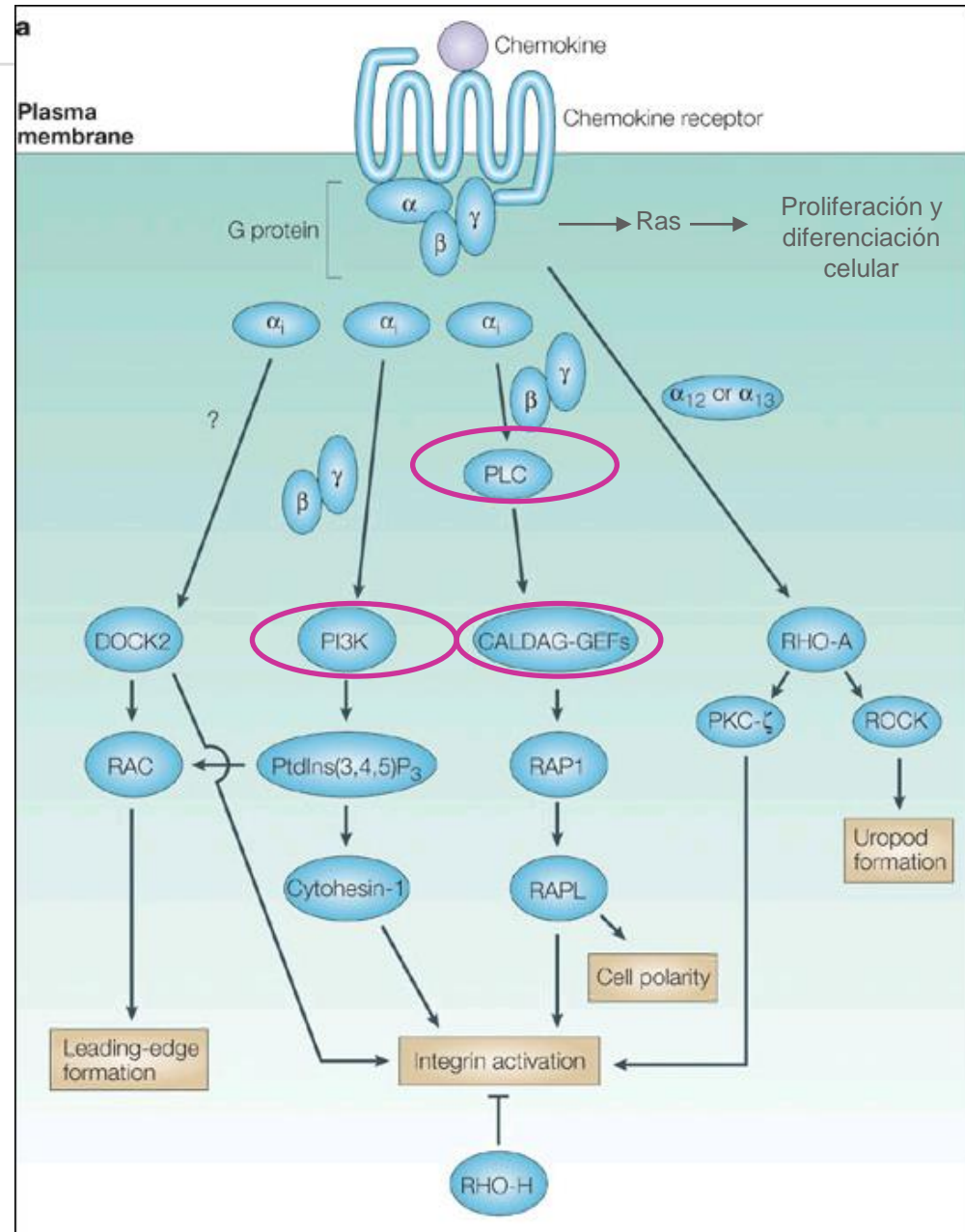
γ Quimiocinas

δ Quimiocinas

Family	Chromosome	Chemokine	Receptor	Main leukocyte targets	
		Old name	New name		
CXC	4q13-q21	IL-8	CXCL8	CXCR1	PMN
		GCP-2	CXCL6		
	4q21	NAP-2	CXCL7		
	4q12-q13	ENA-78	CXCL5	CXCR2	PMN
		GRO α	CXCL1		
		GRO β	CXCL2		
		GRO γ	CXCL3		
	4q21	PF4	CXCL4	CXCR3B	Th1, NK
		IP-10	CXCL10		
		Mig	CXCL9	CXCR3A	
		I-TAC	CXCL11		
	4q21.2	SDF-1 α/β	CXCL12	CXCR4	Widespread
	10q11.1	BCA-1	CXCL13	CXCR5	
	4q21		CXCL16	CXCR6	
	17p13			Unknown	T act
	5q31	BRAK	CXCL14		Mo
CC	17q11.2	MCP-1	CCL2	CCR2	Mo, NK, Ba, iDC, T act, B
		MCP-4	CCL13		
		MCP-3	CCL7		
		MCP-2	CCL8		
	17q12	MIP-1 β	CCL4	CCR5	Mo, M ϕ , Th1, T act, NK
		17q11	MIP-1 α S		
	17q11.2	MIP-1 α P	CCL3		
	17q12	RANTES	CCL3LI		
	17q12	MPIF-1	CCL23	CCR1	Mo, M ϕ , iDC, NK
		HCC-1	CCL14		
		HCC-2	CCL15		
		HCC-4	CCL16		
	17q11.2	Eotaxin	CCL11	CCR3	Eo, Ba, Th2
		Eotaxin-2	CCL24		
		Eotaxin-3	CCL26		
	7q11.23	TARC	CCL17	CCR4	iDC, Th2, NK, T skin,
16q13	MDC	CCL22	CCR6	iDC, T act, B	
2q33-q37	MIP-3 α	CCL20			
9p13	ELC	CCL19	CCR7	mDC, M ϕ , T naive, T act	
9p13	SLC	CCL21			
17q12	I-309	CCL1	CCR8	Mo, iDC, th2, T req	
19p13.2	TECK	CCL25	CCR9		
9p13	CTACK	CCL27	CCR10	T act, T muc, T skin	
17q11.2	MEC	CCL28			
17q11.2	PARC	CCL18	Unknown	mDC, T naive	
XC	1q23	Lymphotactin	XCL1	XCR1	T, NK
		SCM-1 β	XCL2		
CX ₃ C	16q13	Fractalkine	CX3CL1	CX3CR1	Mo, iDC, NK, Tc1, Th1

RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

- ✖ Estructura de 7 dominios transmembrana
- ✖ Acoplado a proteína G ($\alpha\beta\gamma$)
- ✖ Proteínas unidas a GTP:
 - Ras** proliferación y diferenciación celular
 - Rho** motilidad celular



EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

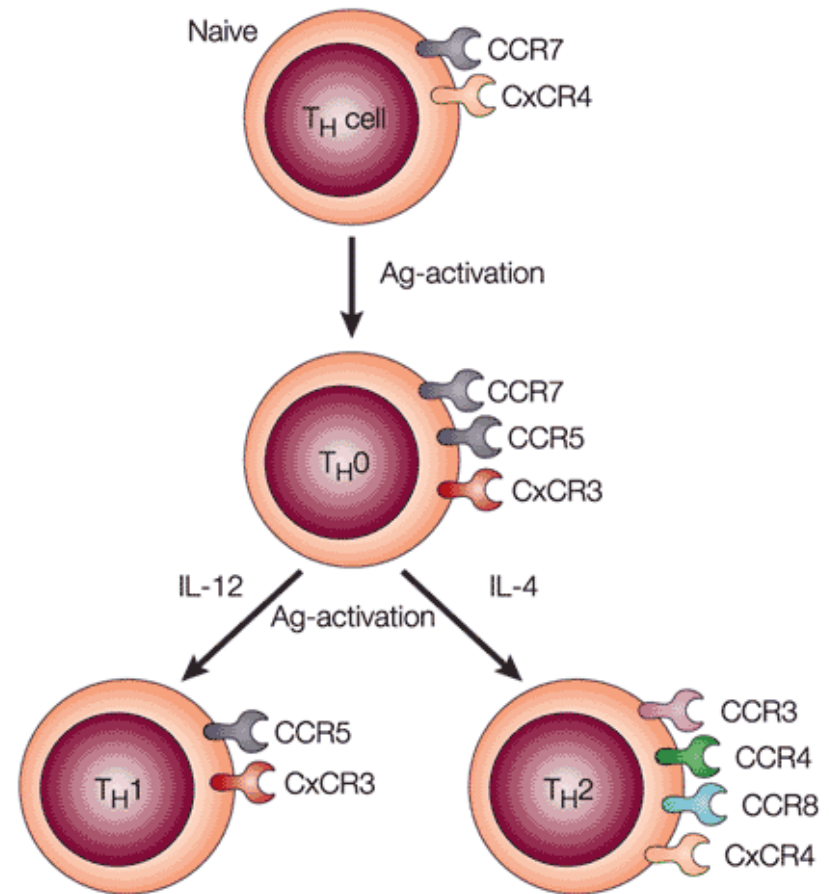
Expresión constitutiva o inducida por inflamación

• Homeostáticas

- Migración de los precursores leucocitarios en la MO y el timo
- Tráfico celular en bazo y NL
- Vigilancia en los tejidos periféricos sanos

• Inflamatorias

- Reclutamiento de leucocitos efectores
- Determinan composición del infiltrado inflamatorio
- Actúan en células de SI innato y adaptativo



Nature Reviews | Immunology

Ebert L et al. Mol Immunol. 2005.

OTRAS MOLÉCULAS QUIMIOTÁCTICAS

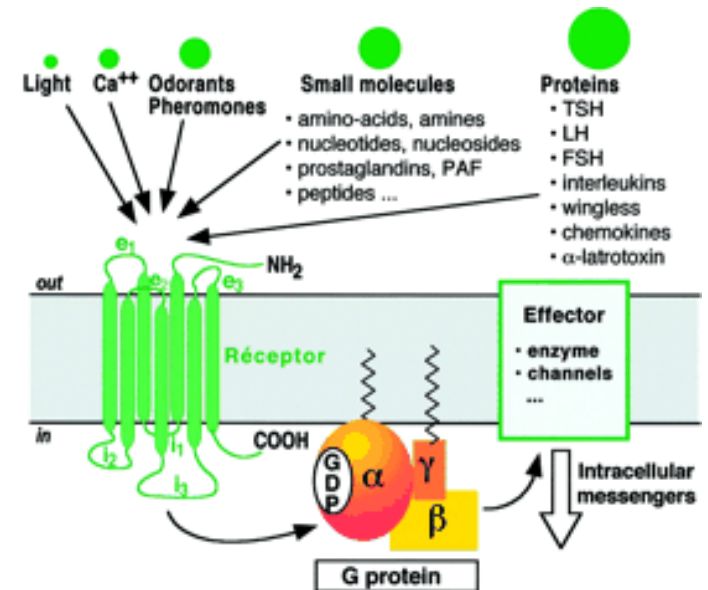
- Proteínas del complemento

C3a, C5a

- Péptidos bacterianos

fMLP

- PAF
- LTB4
- Cadherinas
- Defensinas



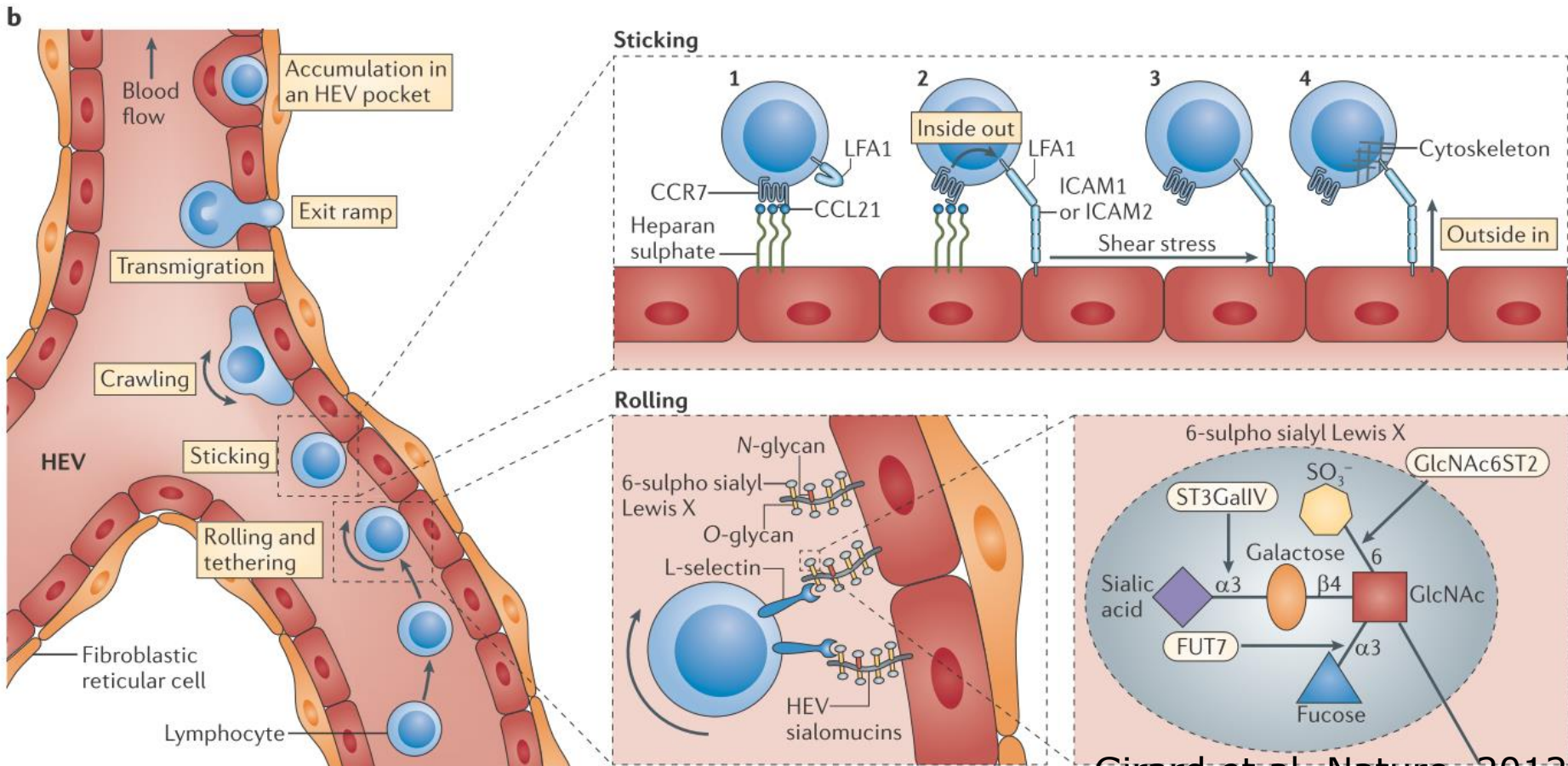
- Células endoteliales altas en vénulas postcapilares de todos los órganos linfoides excepto bazo, pulmón, hígado

HEVs

- Expresan PNA_d (CD34, GlyCAM1, MadCAM1) y adhesinas tejido específicas, reconocidas por receptores de *homing* sobre los linfocitos

- Producen CCL19

- Se desarrollan por la presencia de linfoquinas



Girard et al. Nature, 2012.

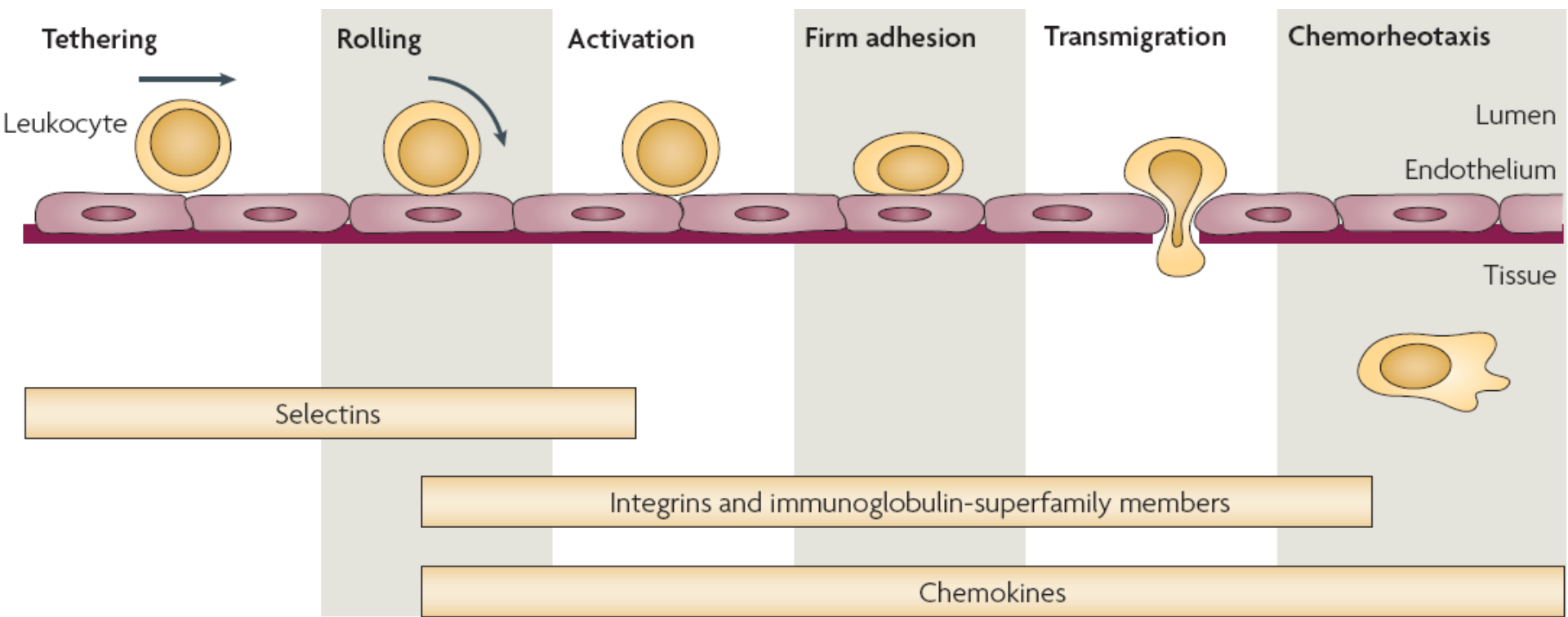
PASOS EN LA MIGRACIÓN DEL LEUCOCITO

1 *Rolling*
dependiente de
selectinas

2 Activación
dependiente de
quimiocinas

4 Adhesión firme
dependiente de
integrinas

3 Migración
transendotelial



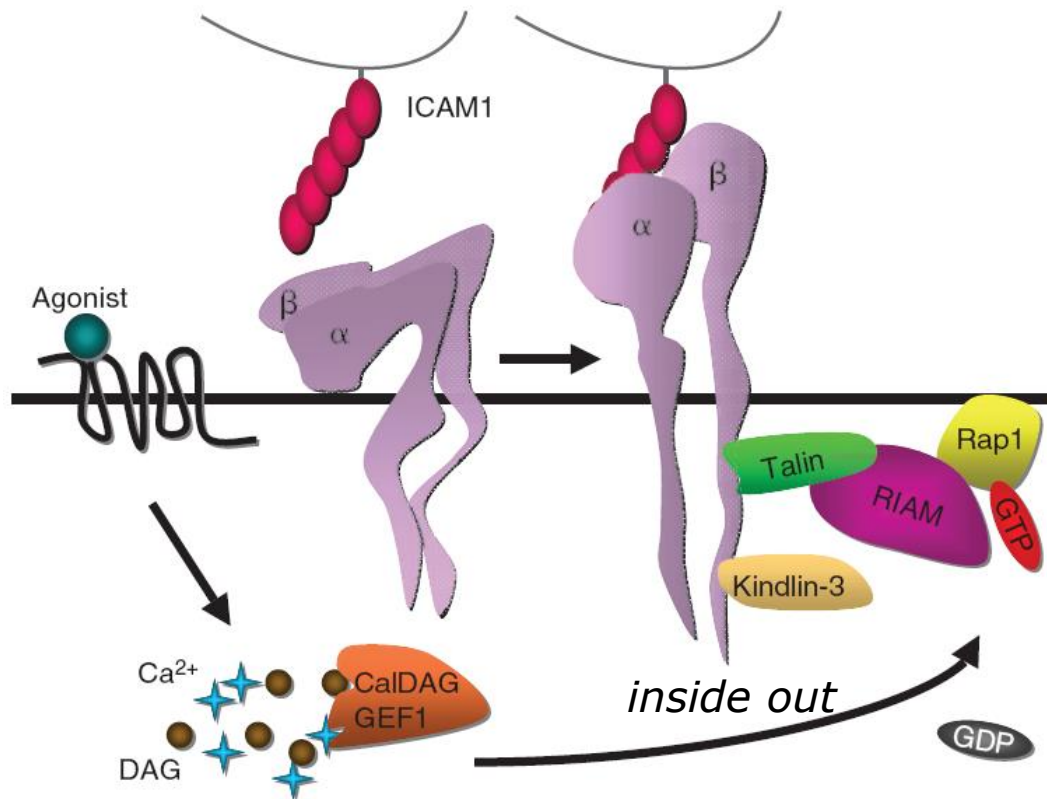
① ROLLING

- × Mediado por las selectinas
- × Interacciones de baja afinidad selectina – mucina
- × L- Selectina (constitutiva sobre leucocitos)
reconoce sialyl Lewis
- × P y E Selectinas (endotelio activado)
se unen a PSGL-1 (leucocito)
- × Contribuyen a la señalización:
 - Estimula producción de IRO
 - Influjo de Ca
 - Polimerización de actina
 - Colocalización de $\beta 2$ integrina

② ACTIVACIÓN DEPENDIENTE DE QUEMOQUINAS

- ✗ Señales a través de receptor de quimiocinas
- ✓ Inducen cambios conformacionales en las moléculas integrinas e incrementan la afinidad por su ligando
- ✓ Inducen agrupamiento de integrinas incrementando la avidéz

Señales *inside out*



Dominios citoplasmáticos interactúan con vinculina, talina, actina y tropomiosina

③ ADHESIÓN FIRME

× Integrinas responsables de la adhesión firme

CD11 a , b y c subunidades α

CD18 subunidad β común

CD11a/CD18 (LFA-1, α L β 2) (PMNs) se une a ICAM-1 y 2 (endotelio)

CD11b/CD18 (MAC-1, CR3, α M β 2) se une a ICAM-1 y 2

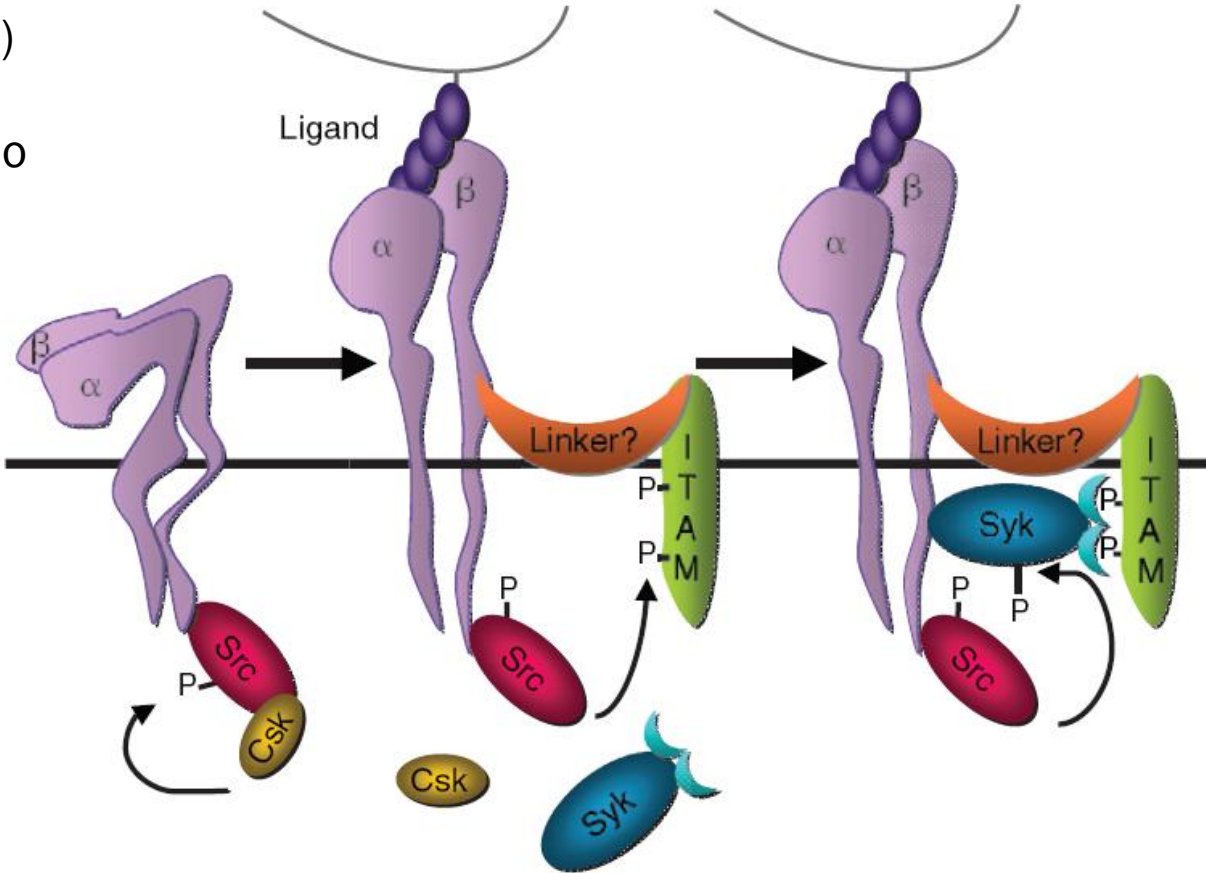
CD49d/CD29 (VLA-4, α 4 β 1) (Ls) se une a VCAM (endotelio)

③ ADHESIÓN FIRME

Señalización *outside in*

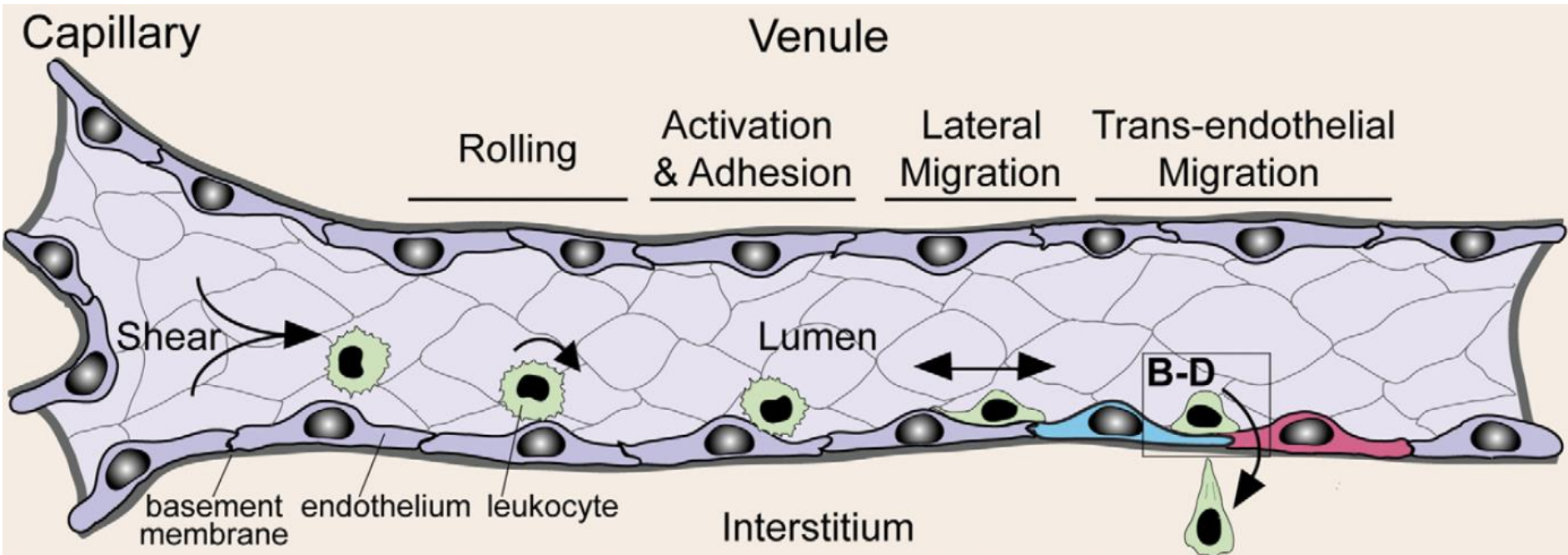
- Mediadas por Rac, CDC42 y Kinasa de la cadena liviana de miosina (MLCK)

Regula lamelipodio y filopodio
Polimerización de actina



④ MIGRACIÓN TRANSENDOTELIAL

- ✗ Quimiocinas e integrinas controlan la migración del leucocito
- ✗ Quimiocinas responsables de la polarización:
 - Lamelipodio *Leading edge* (frente de avance)
 - Urópodo *Trailing edge* (cola de contracción)

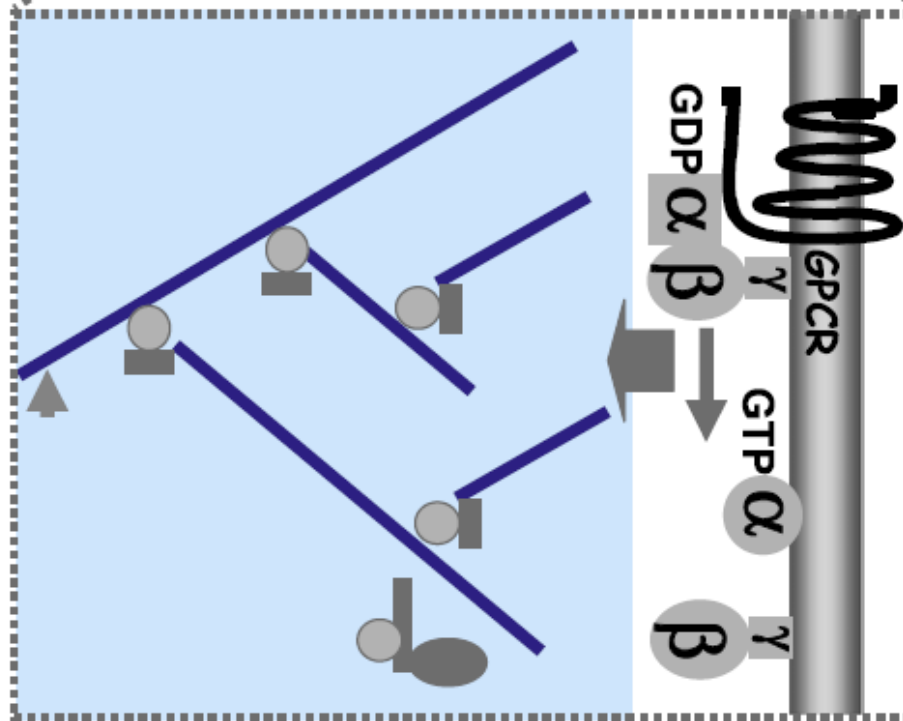
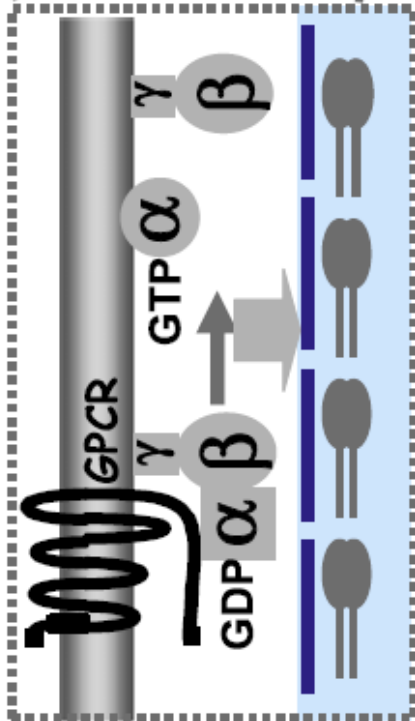


Back

Front

QUIMIOTAXIS

haptotaxis vs quimiotaxis



Células Quimiotácticas

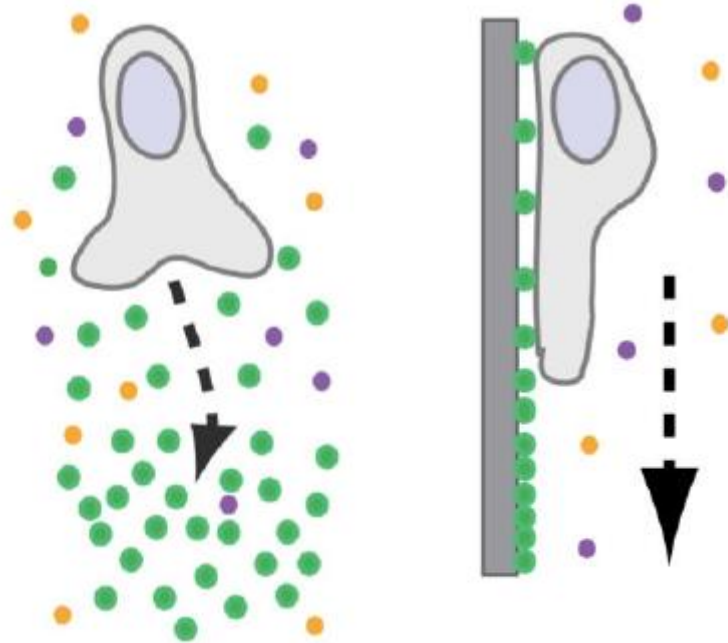
- Polaridad
- Motilidad
- Percepción de gradiente

Diferentes señales al frente y atrás

— F-actin
 Myosin II

— F-actin
 Arp2/3
 WASp/Scar
 CARMIL
 Myosin I
 ADF/cofilin

QUIMIOTAXIS

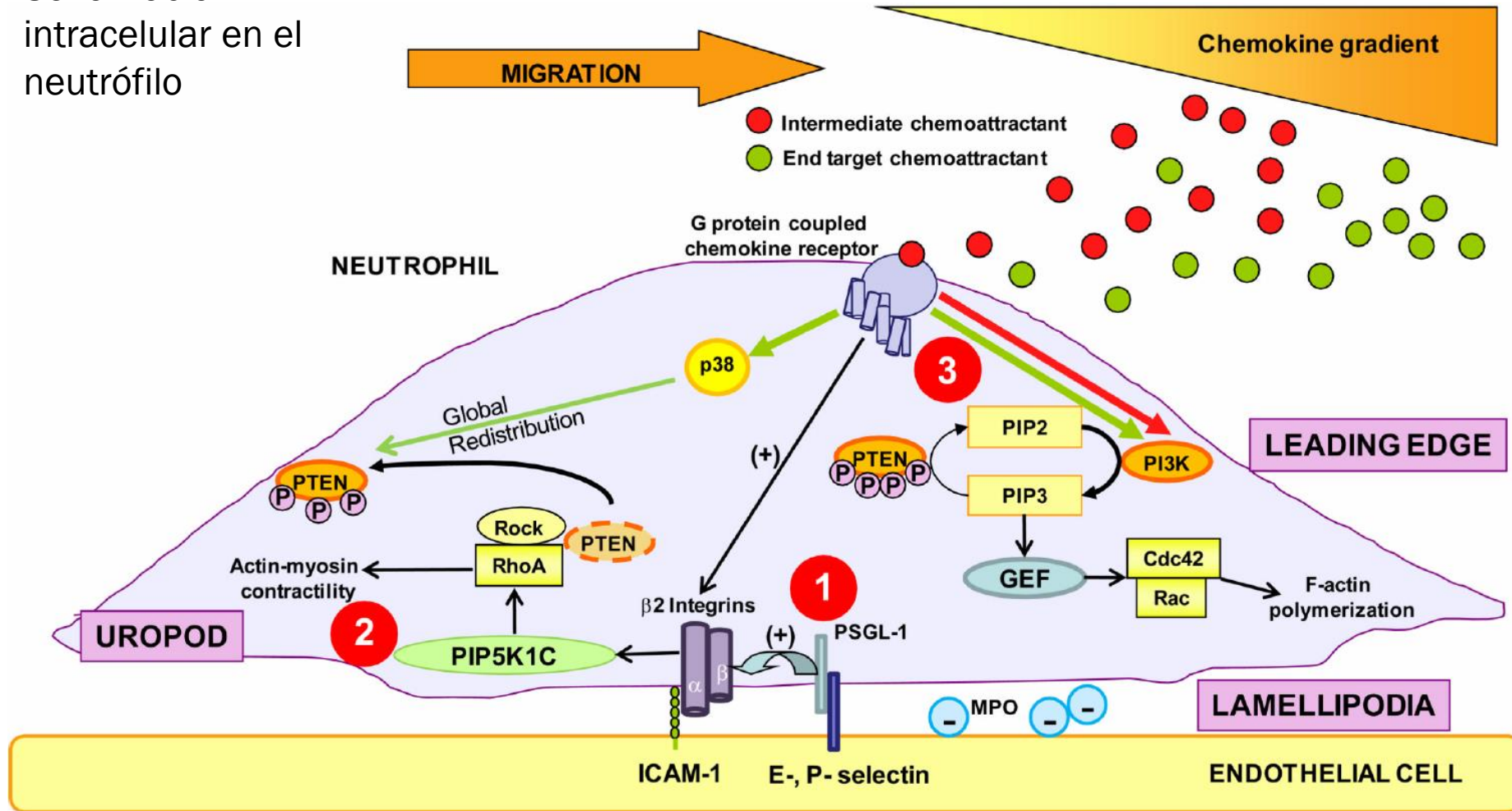


CHEMOTAXIS

HAPTOTAXIS
surface-bound
chemokine
gradient

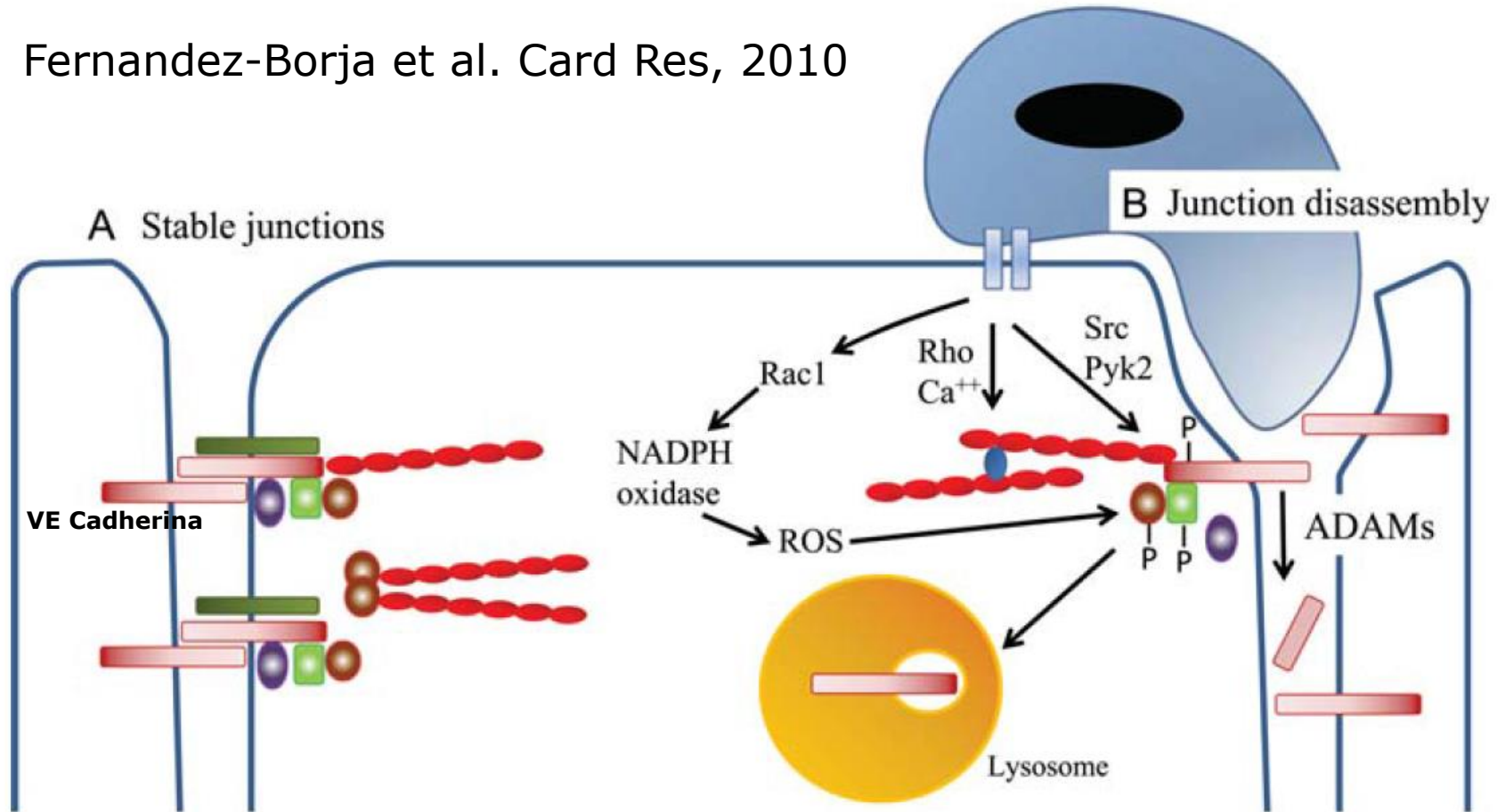
MIGRACIÓN TRANSENDOTELIAL

Señalización intracelular en el neutrófilo

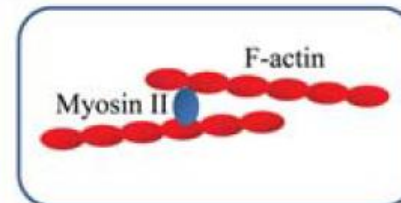


MIGRACIÓN TRANSENDOTELIAL

Fernandez-Borja et al. Card Res, 2010

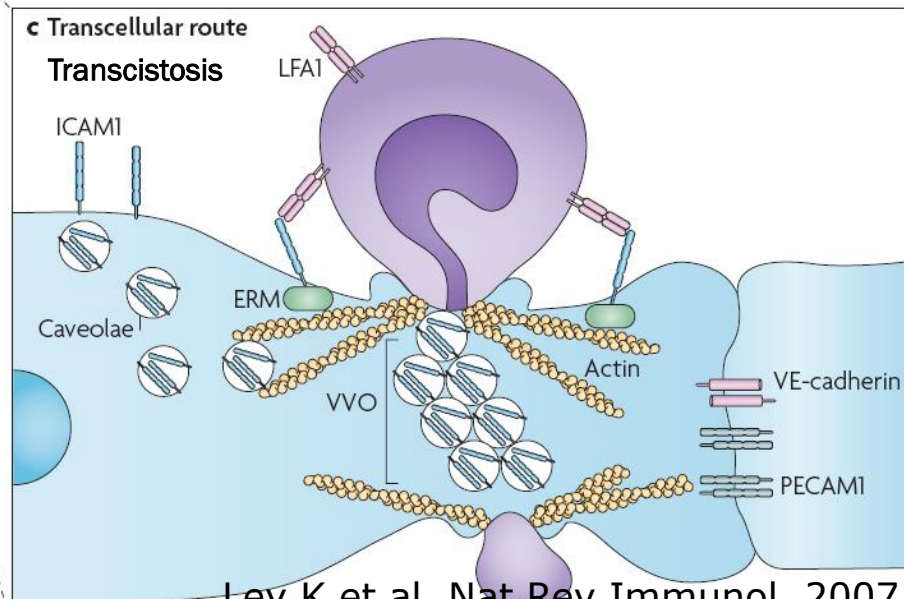
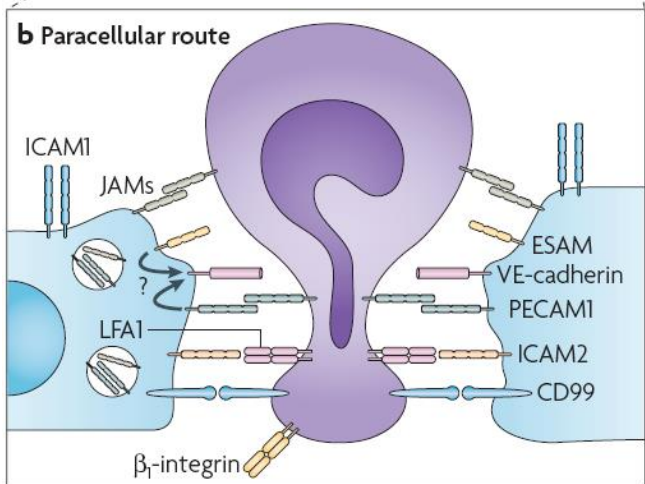
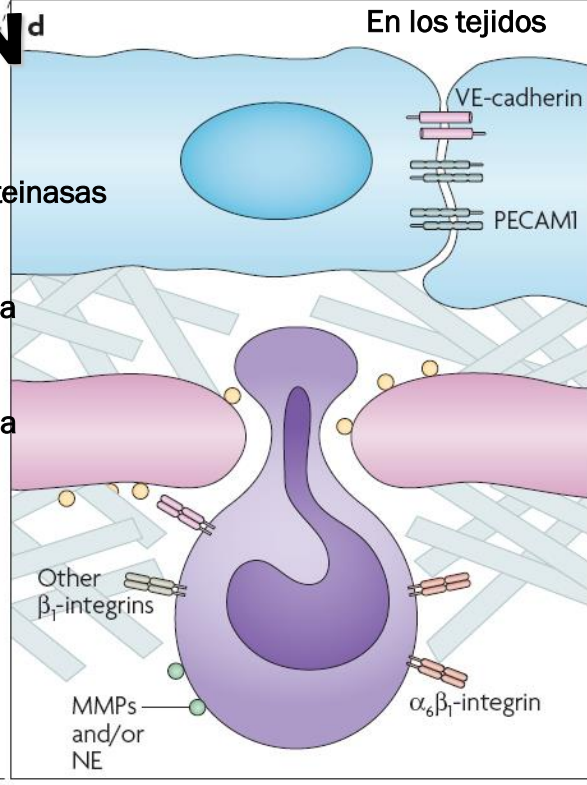
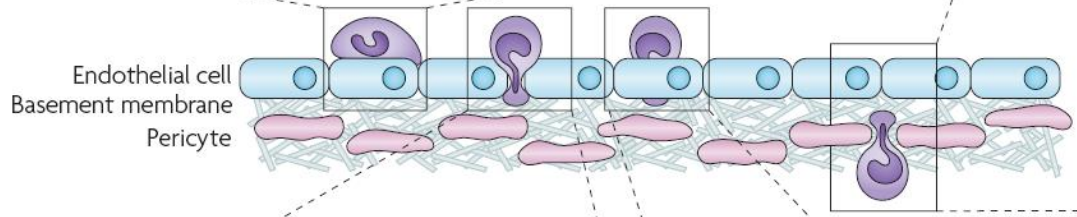
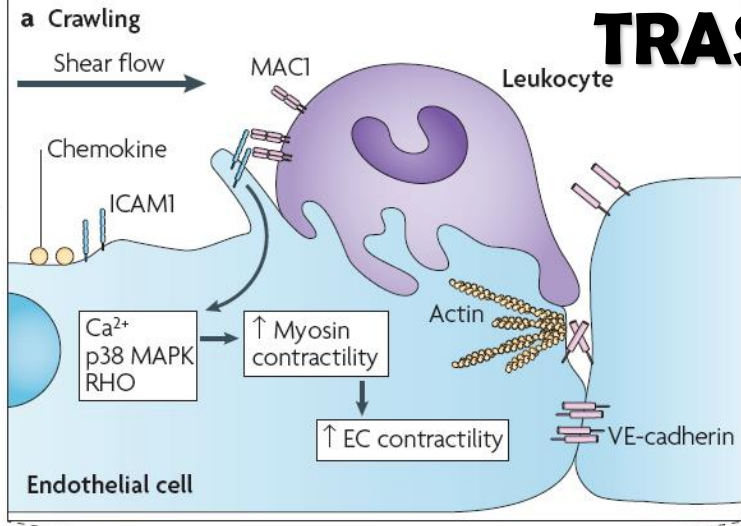


VE Cadherina
JAM-1 y JAM-2 moléculas de adhesión de unión
CD31
PECAM1



Señalización intracelular en la célula endotelial

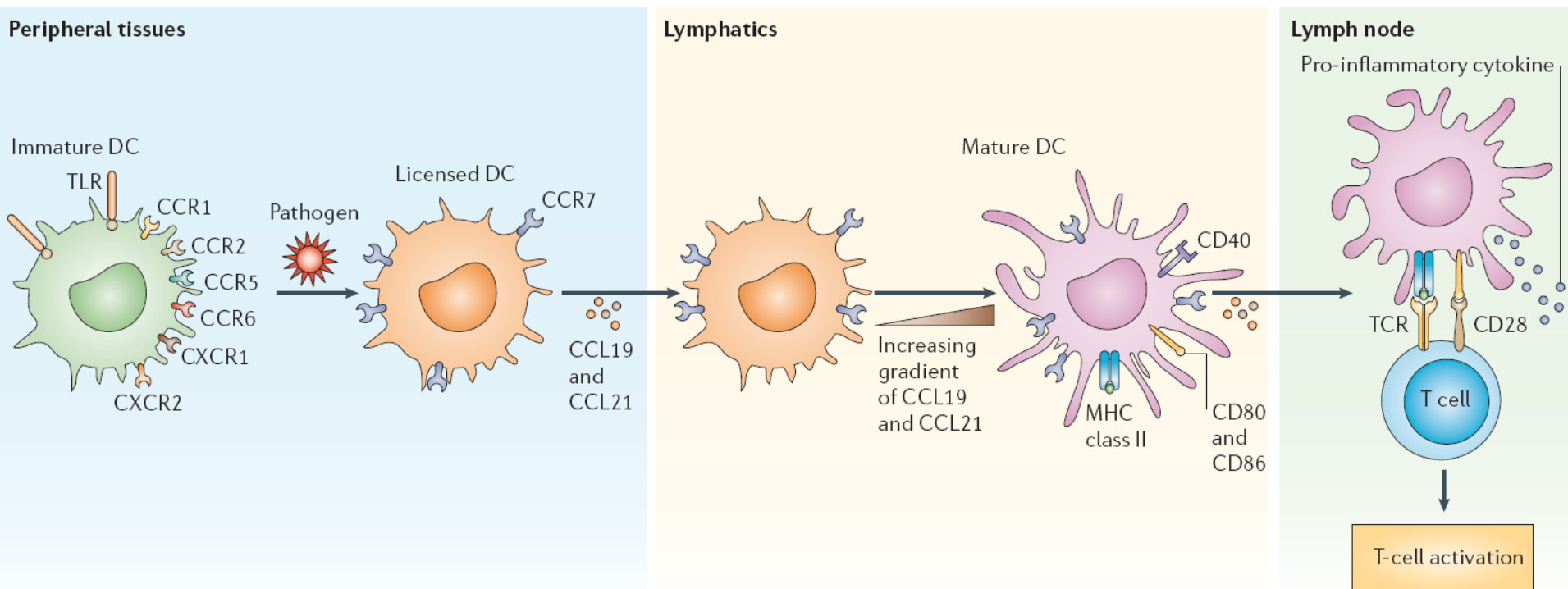
TRASMIGRACIÓN



TRÁFICO DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

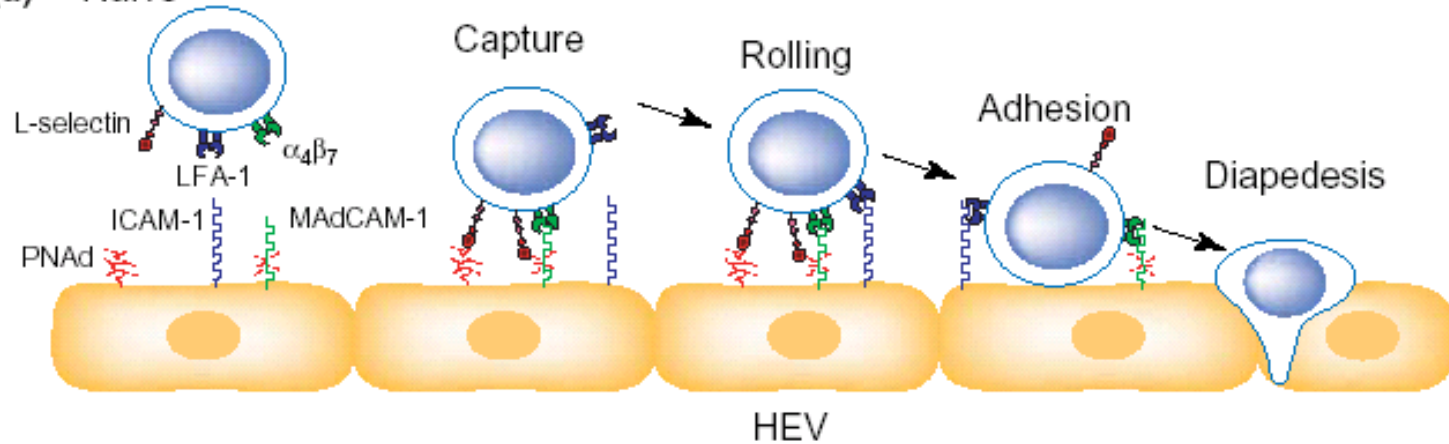
Otras funciones de las quimiocinas:

- Induce expresión de moléculas coestimuladoras (CD80, CD86)
- Incremento en la duración de la sinapsis APC-LT
- Incremento en la producción de citocinas

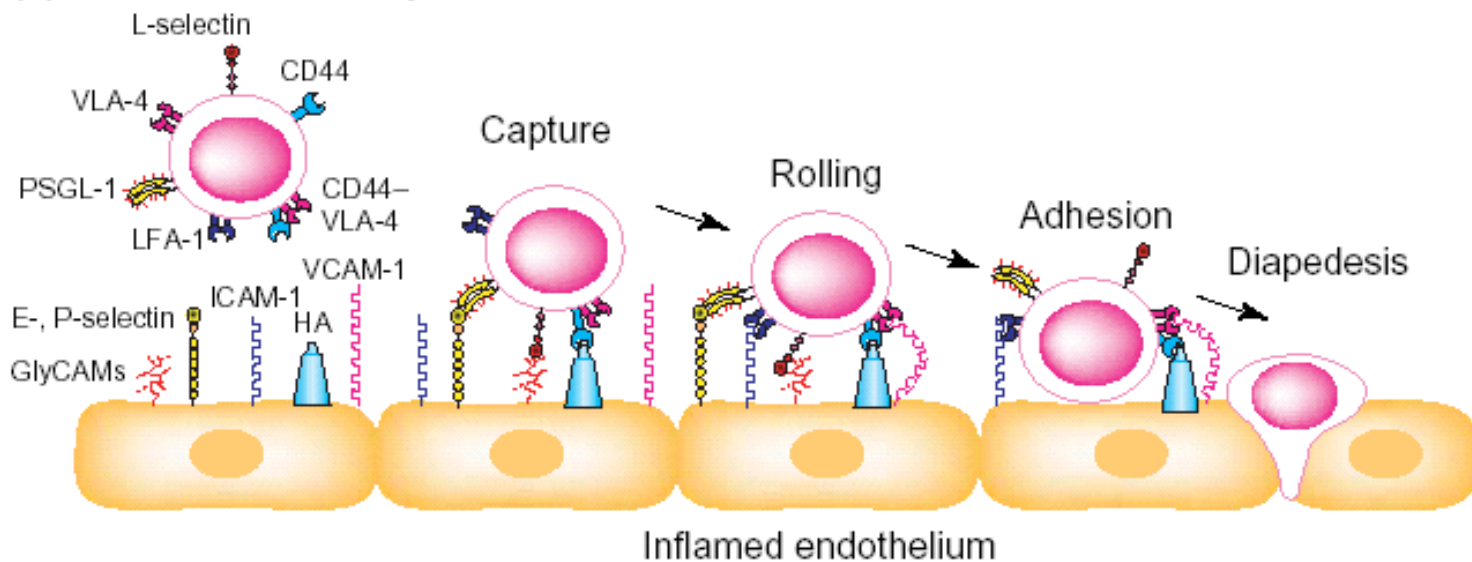


MIGRACIÓN LINFOCITARIA

(a) Naïve



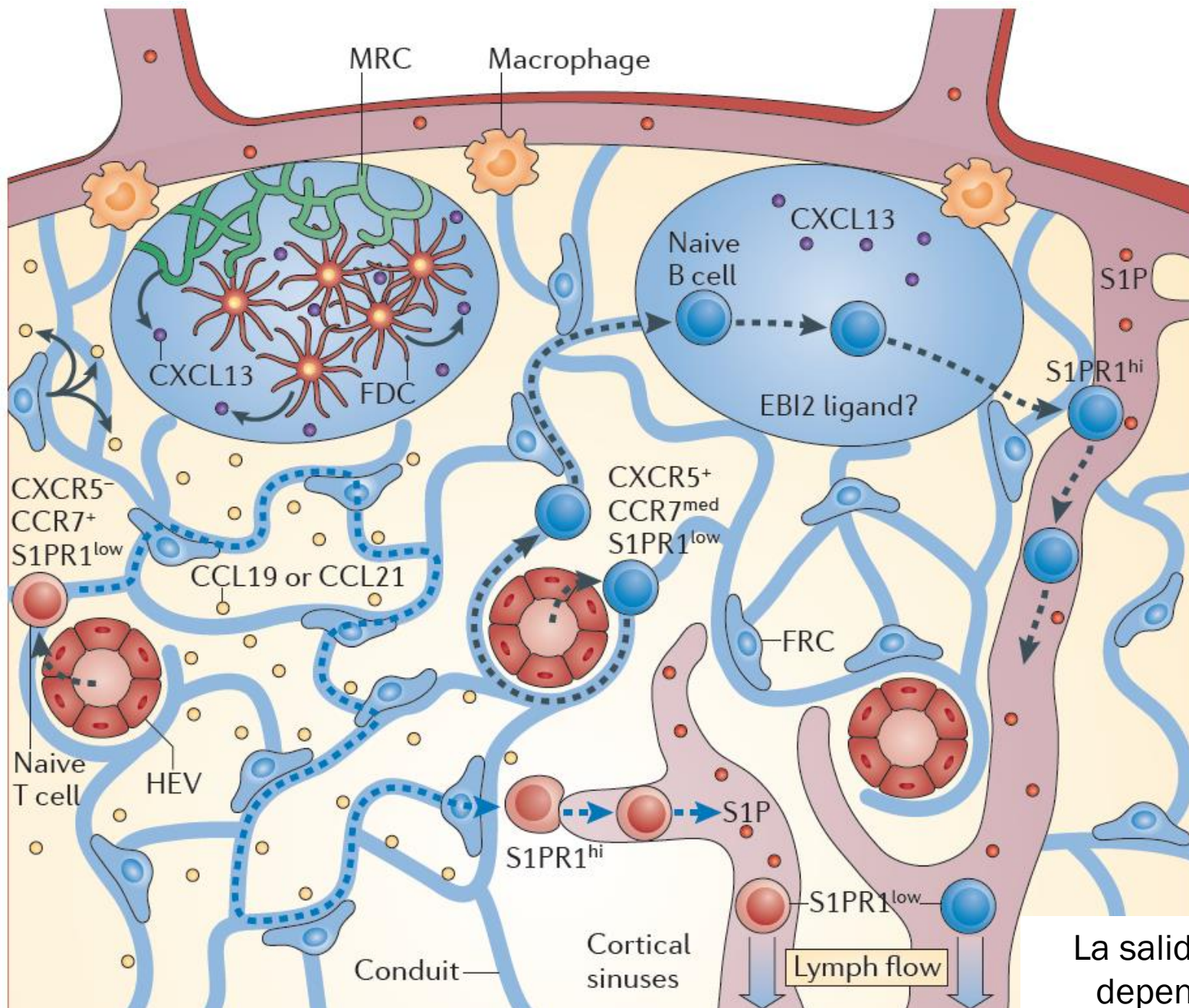
(b) Effector or memory



Inflamed endothelium

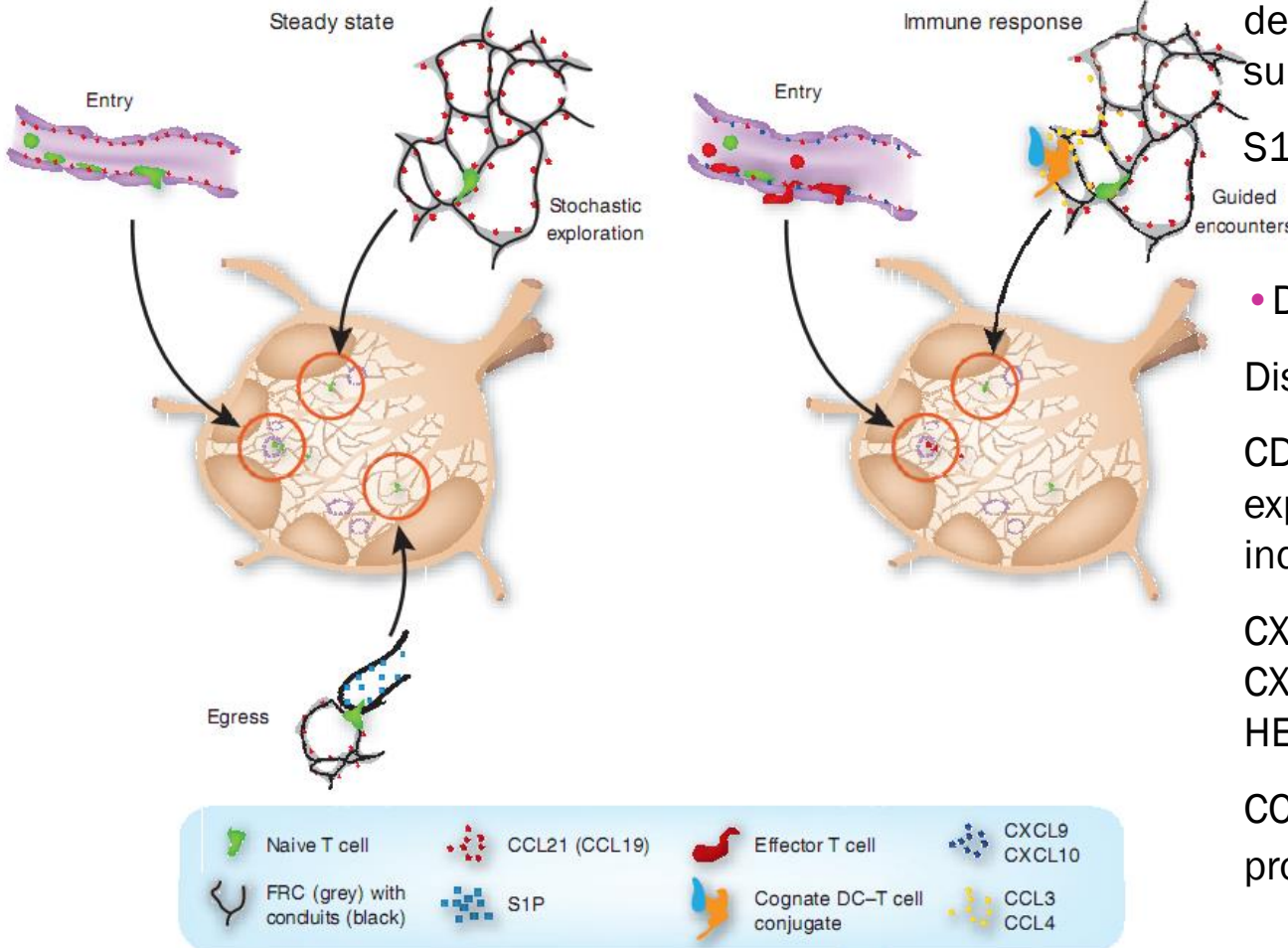
Migración del LT y LB *naïve* en el NLP

Girard et al. Nature, 2012.



La salida de los NL es dependiente de S1P

Control de la migración del LT en el NLP por las quimiocinas



- En reposo:

Células estromales principal origen de CCL21 (ligando CCR7) en la superficie de FRC y HEV

S1P señal de egreso

- Durante la respuesta inmune

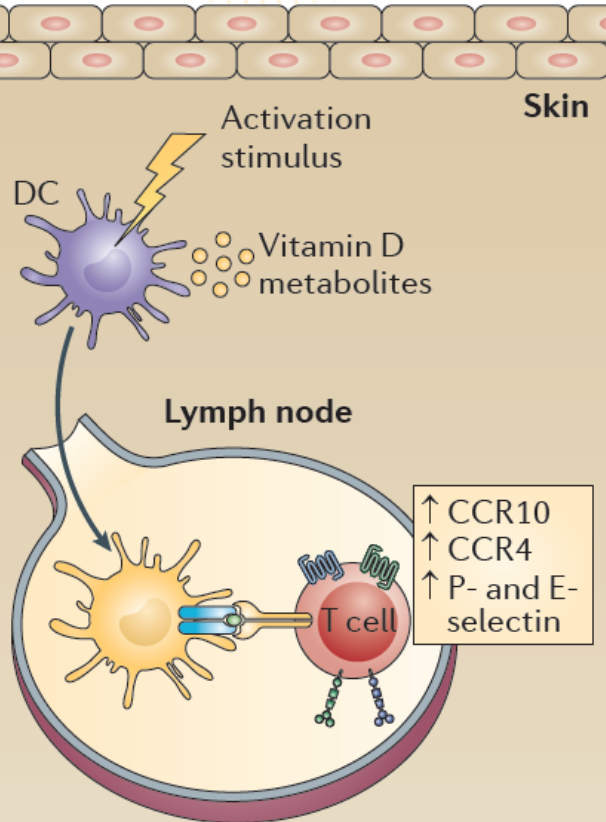
Disminución del egreso

CD69 se asocia a S1PR e impide se expresión en la membrana, inducido por INF

CXCL9 y CXCL10 (ligandos de CXCR3) en la superficie luminal de HEV, inducido por TNF

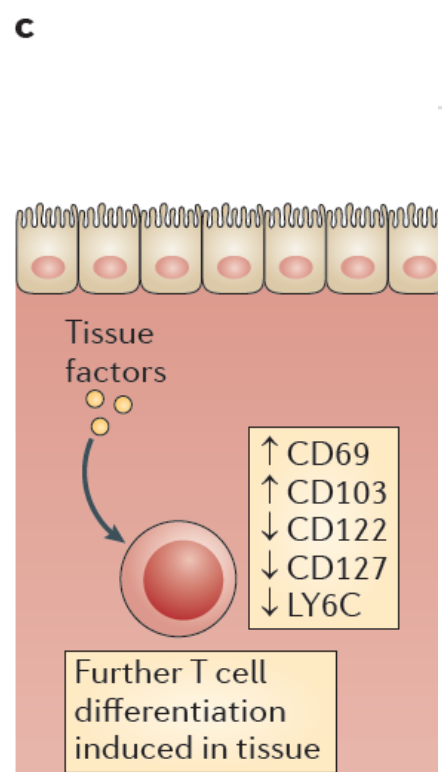
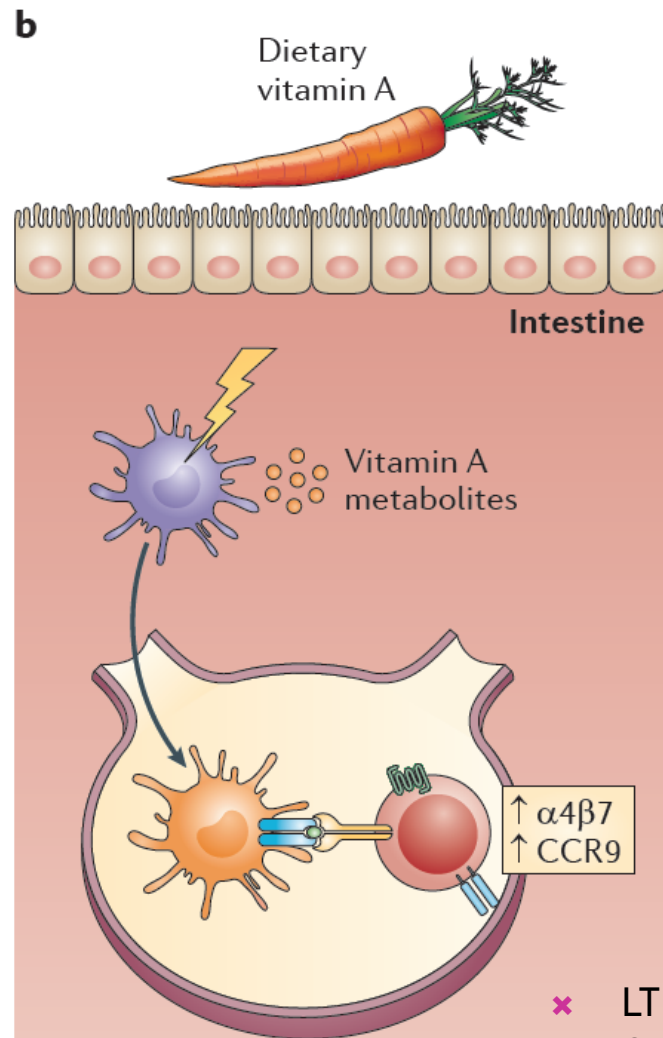
CCL3 y CCL4 (ligandos de CCR5) producidos en la paracorteza

Migración del LT efector Masopust and Schenkel. Nat Rev Immunol, 2013



Homing potential is programmed by:

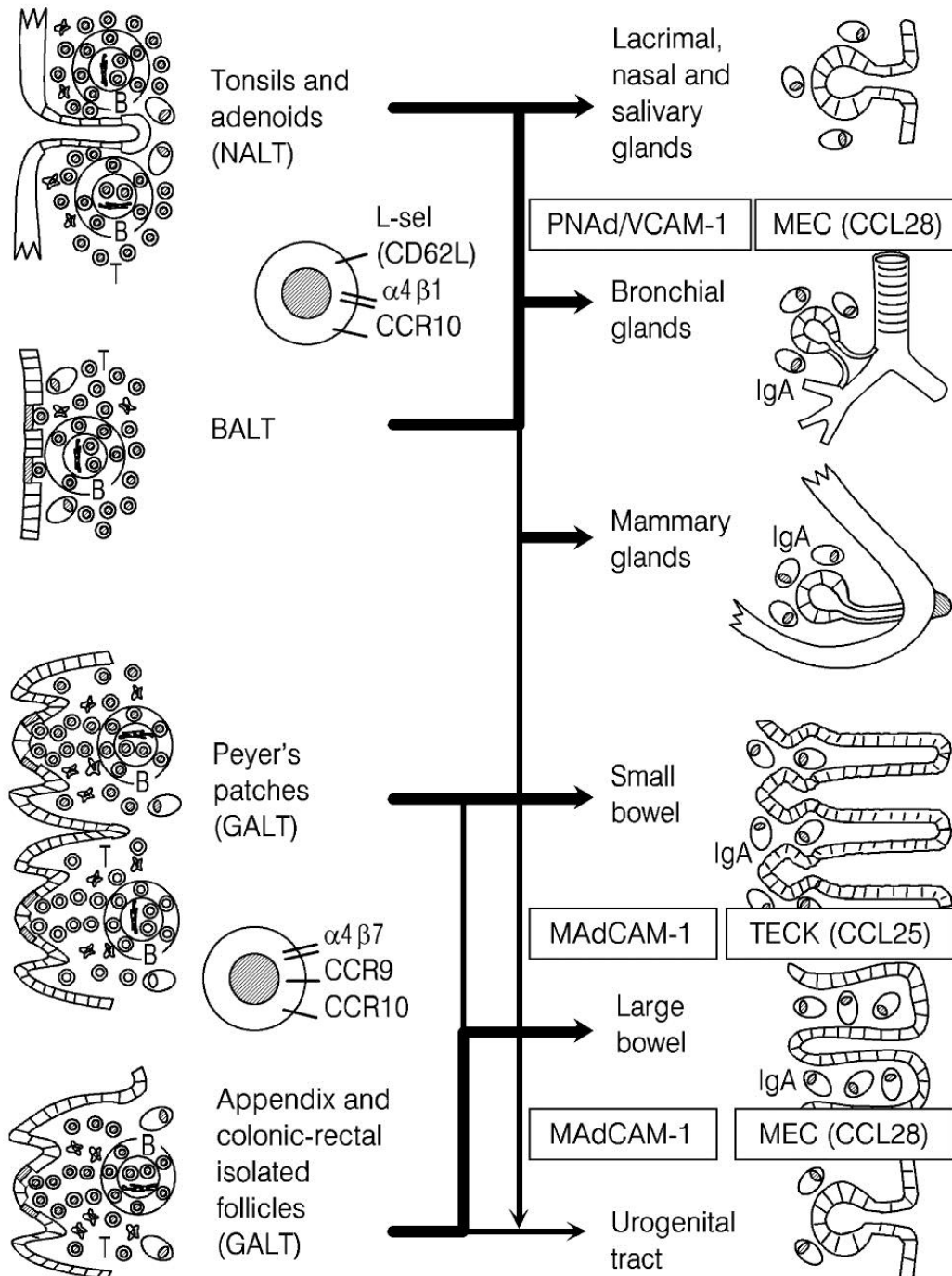
- Tissue-specific cues
- TCR stimulation strength
- Inflammation in SLOs
- Inflammation in peripheral tissues



- ✗ LT de memoria central CD45RO Lselectina y CCR7+
- ✗ LT de memoria efectora CD45RO^{Low} Lselectina^{Low} y CCR7-
- ✗ LT efector :Receptores de *homing*
- ✗ LT ayudador folicular CXCR5+

Inductive sites

Effector sites



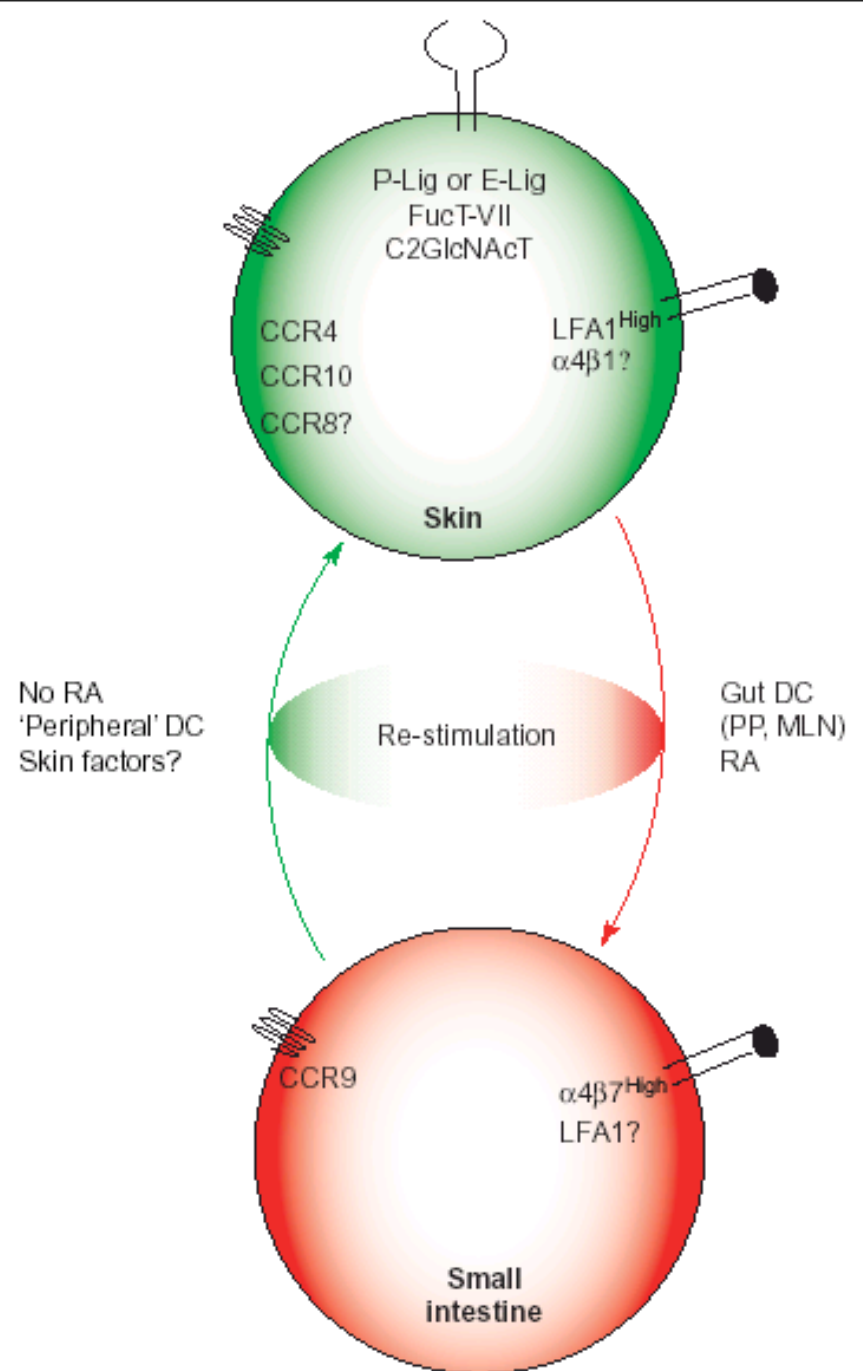
MIGRACIÓN LINFOCITARIA

Receptores de *Homing* Linfocito B

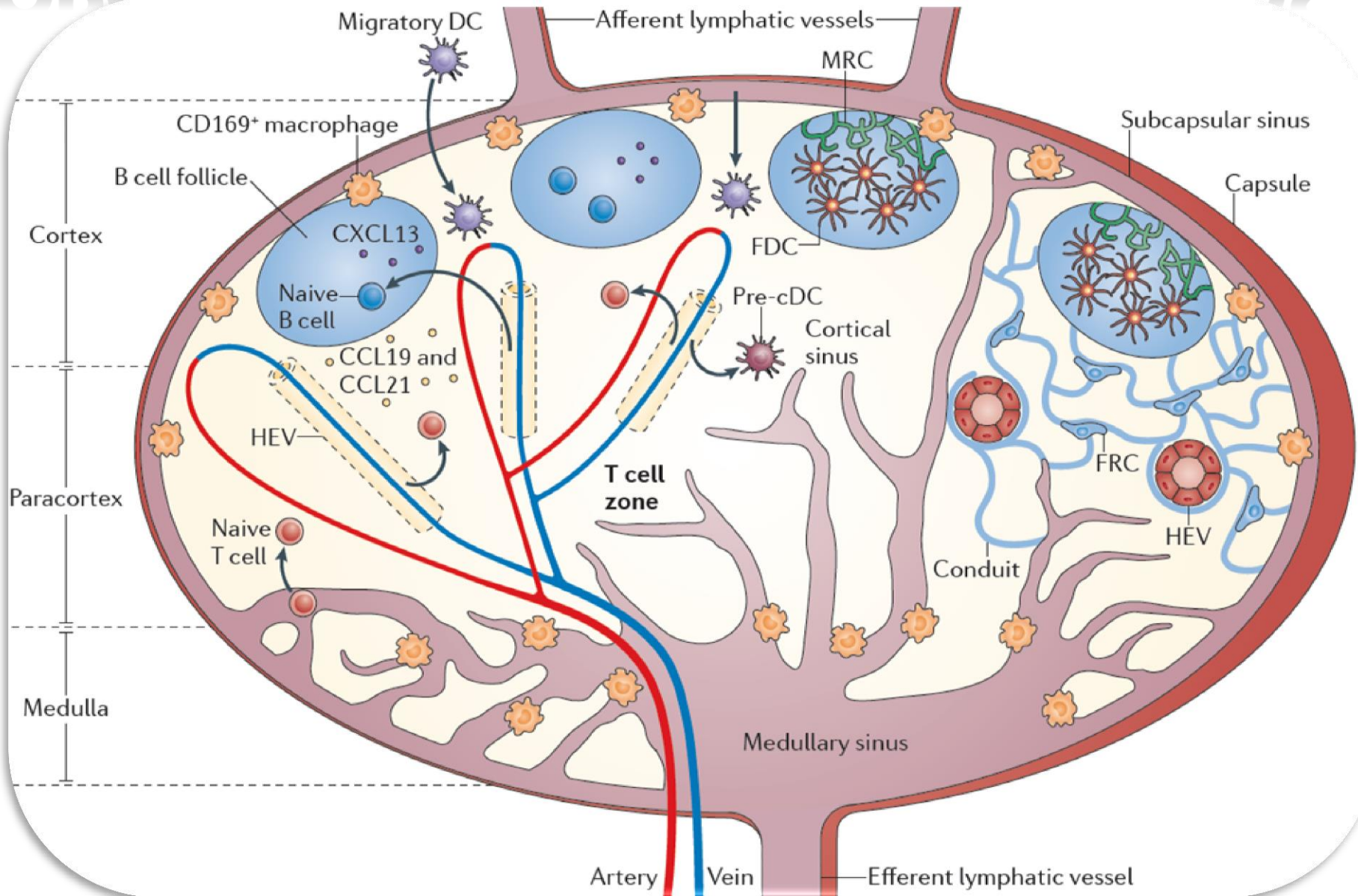
- Plasmocitos productores de IgG en MO expresan VLA4 CXCR4 que se une a VCAM1 CXCL12 en endotelio
- Plasmocitos productores de IgA expresan $\alpha 4 \beta 7$ CCR9 CCR10 que se una a MadCAM1 CCL25 CCL28

MIGRACIÓN LINFOCITARIA

Alojamiento
(*homing*) del LT
memoria/efector
puede ser
reprogramado



ANATOMIA FUNCIONAL DE LOS ÓRGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS



ANATOMIA FUNCIONAL DE LOS ÓRGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS

LT naive y LTmc CCR7+
entrada a NL vía HEVs



Colocalización con CDs CCR7+
Ag específica en la zona T



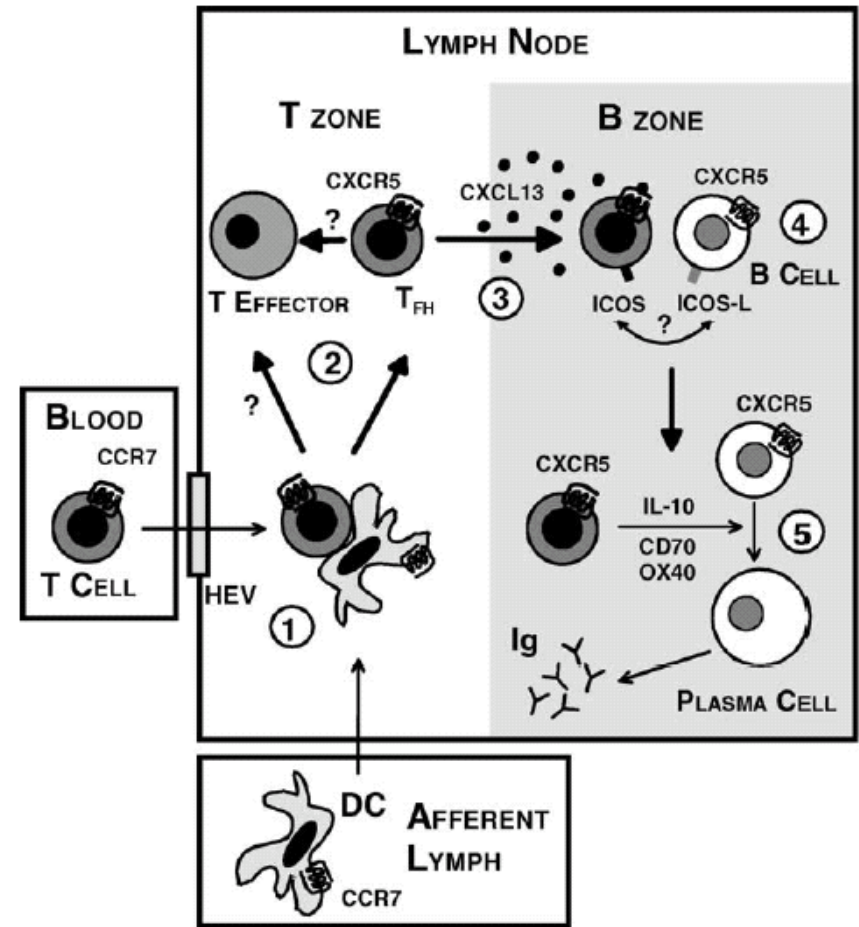
LT activado x CDs → LT_{FH}
expresa CXCR5 que reconoce
CXCL13 en la zona B



Relocalización de LT_{FH} en los
folículos



Ayuda para la Diferenciación
de LB en célula plasmática y
producción de Igs



ANATOMIA FUNCIONAL DE LOS ÓRGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS

(i)
Genomic organization

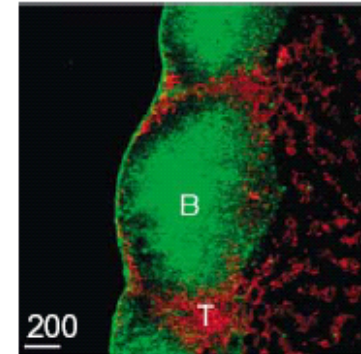
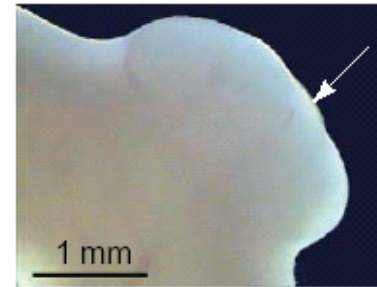
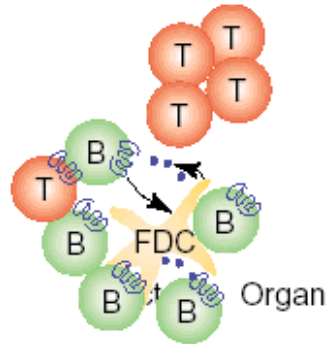
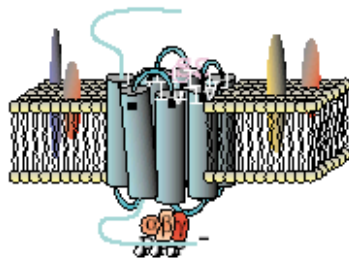
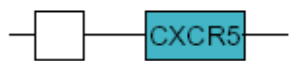
(ii)
Putative structure and topographie of gene product

(iii)
Cells expressing gene product

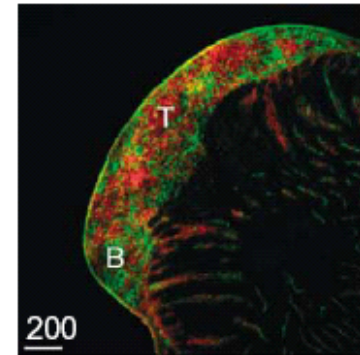
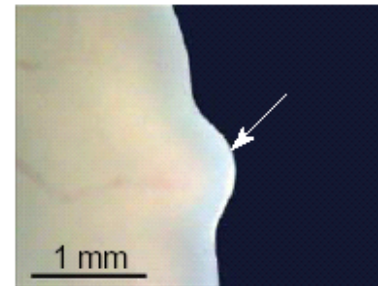
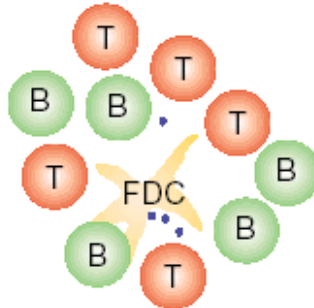
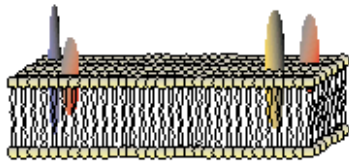
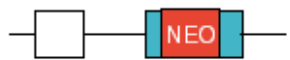
(iv)
Gross morphology of organ of interest

(v)
Immunohistology of affected organ

(a)



(b)



Current Opinion in Immunology

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Rojas W, Anaya JM, Aristizabal B, Cano LE, Gómez LM, Lopera D. Inmunología de Rojas. 16ª Edición. Editorial CIB. 2012. Capítulo 3
- Abul K. Abbas, Andrew H. H. Lichtman, Shiv Pillai. Cellular and Molecular Immunology. Edición: 8 . Editor: Saunders. 2014. Chapter 3
- Girard JP1, Moussion C, Förster R. HEVs, lymphatics and homeostatic immune cell trafficking in lymph nodes. Nat Rev Immunol. 2012 Nov;12(11):762-73.
- Masopust D1, Schenkel JM. The integration of T cell migration, differentiation and function. Nat Rev Immunol. 2013 May;13(5):309-20.

PREGUNTAS

- 1) Mencione los elementos que participan en la migración del neutrófilo a los sitios de inflamación
- 2) Describa el proceso de migración de un linfocito T *naive* desde la circulación hasta su encuentro con la célula presentadora de antígeno específica y su posterior ubicación en los tejidos
- 3) Describa el proceso de migración de un linfocito B *naive* desde la circulación hasta su ubicación en el nódulo linfático mesentérico
- 4) Explique a qué se refiere el término señales de *homing* o alojamiento de los linfocitos. Dé un ejemplo