

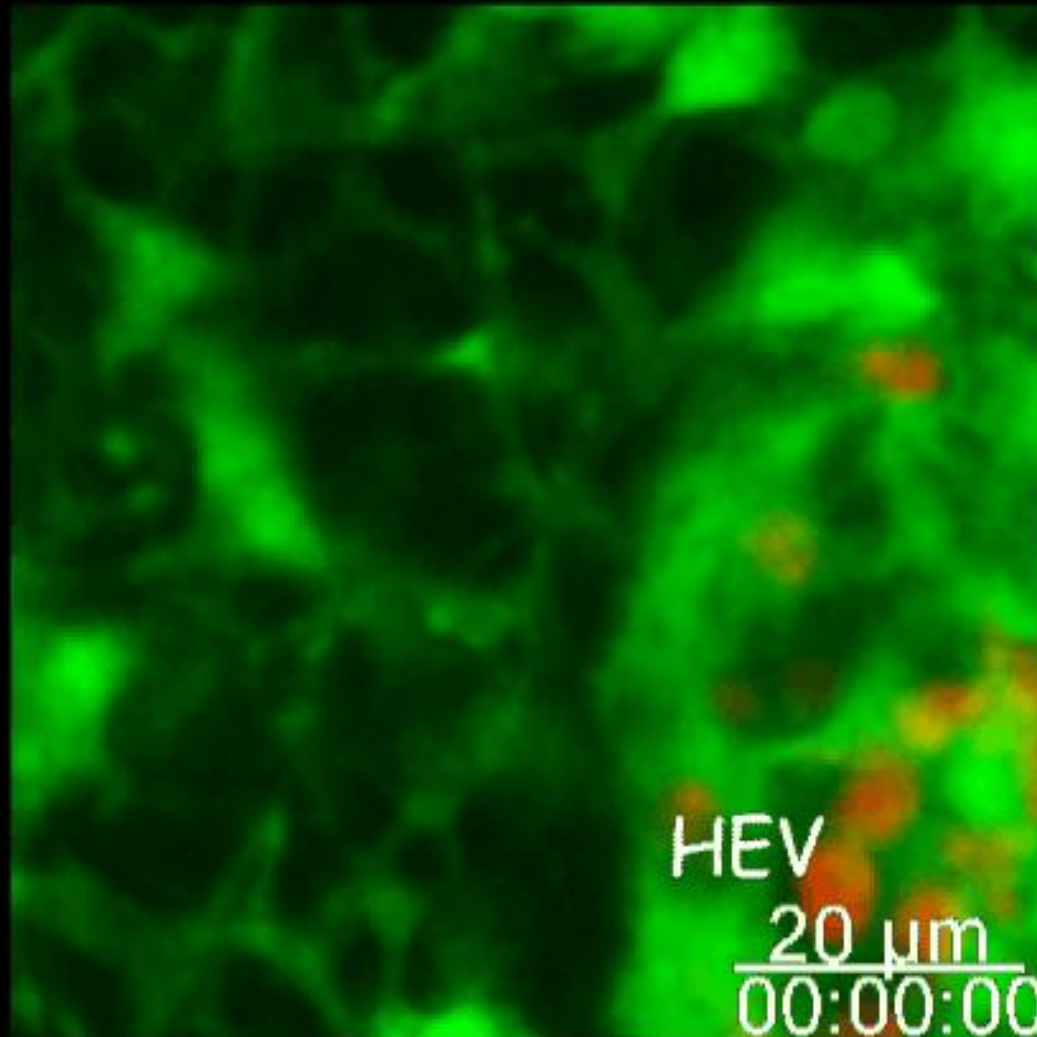
MECANISMOS DE RECIRCULACIÓN Y ALOJAMIENTO DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE

MORELLA BOUCHARD

2017



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

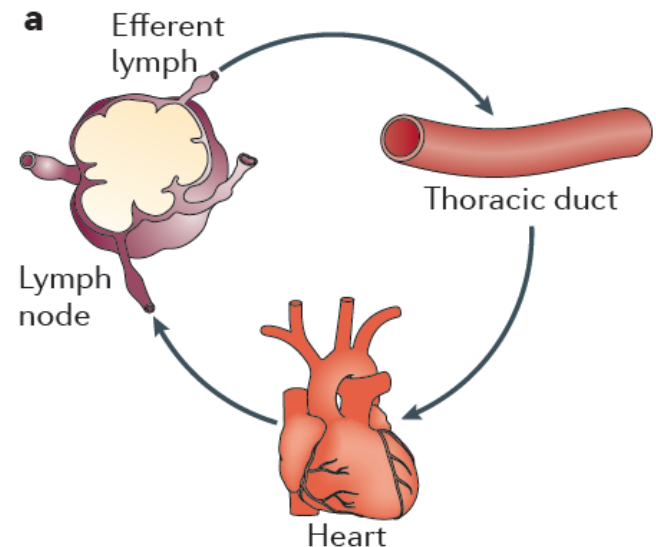
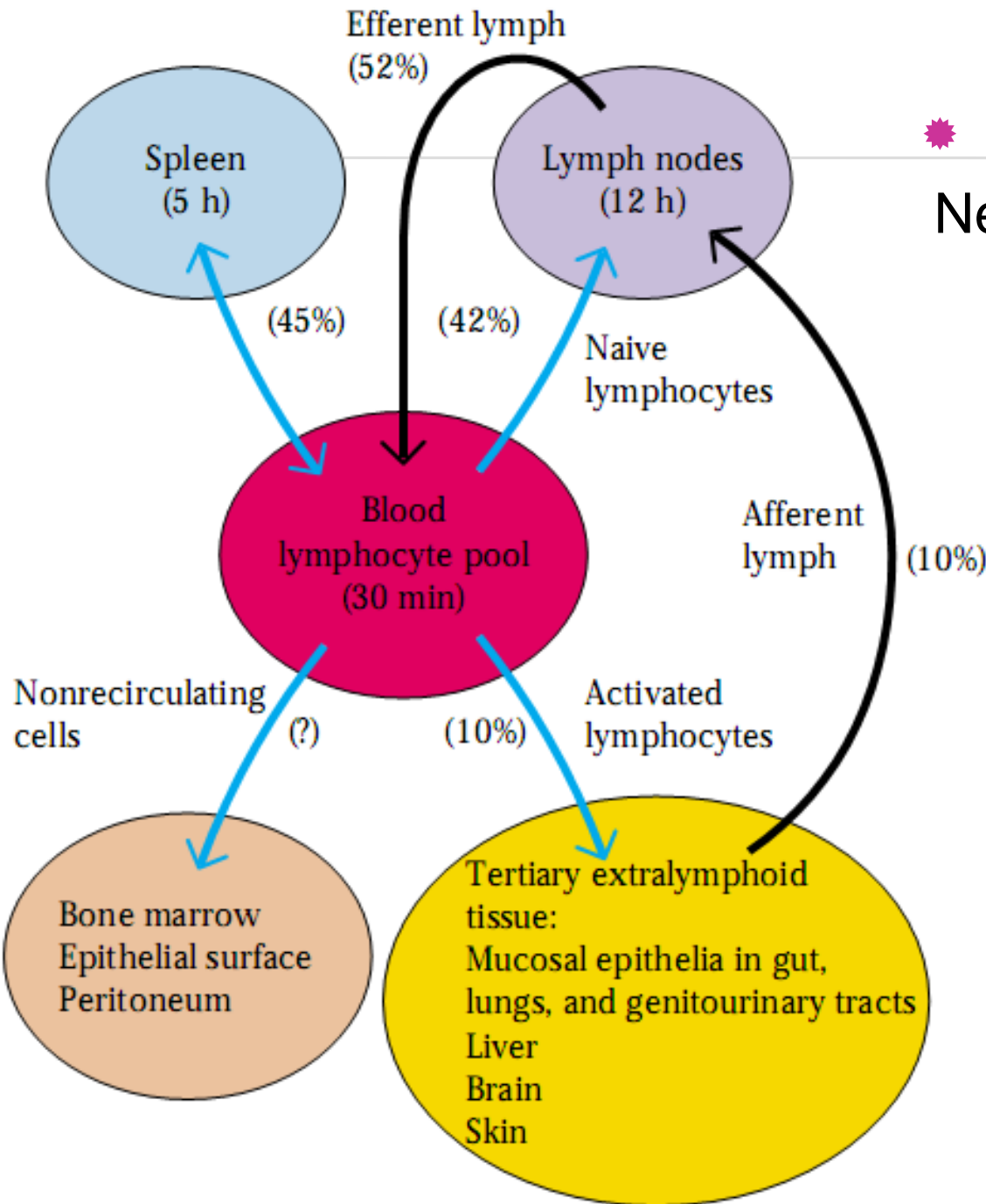
RECLUTAMIENTO

ALOJAMIENTO

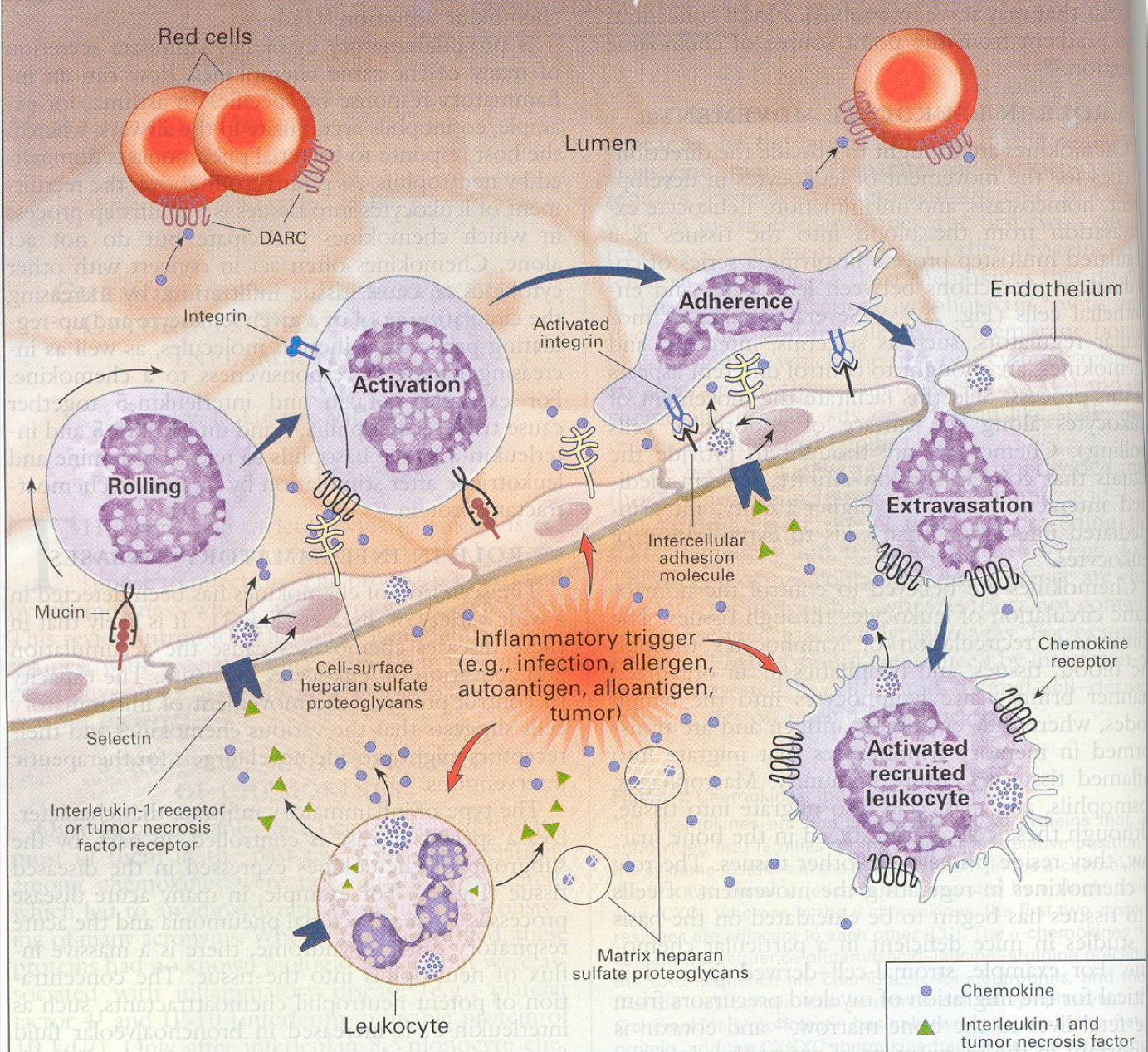
Recirculación

Necesario para la vigilancia inmune

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

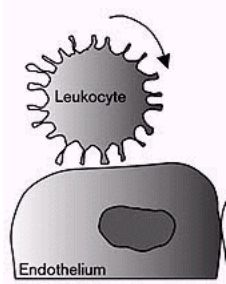


Reclutamiento a los sitios de inflamación



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.



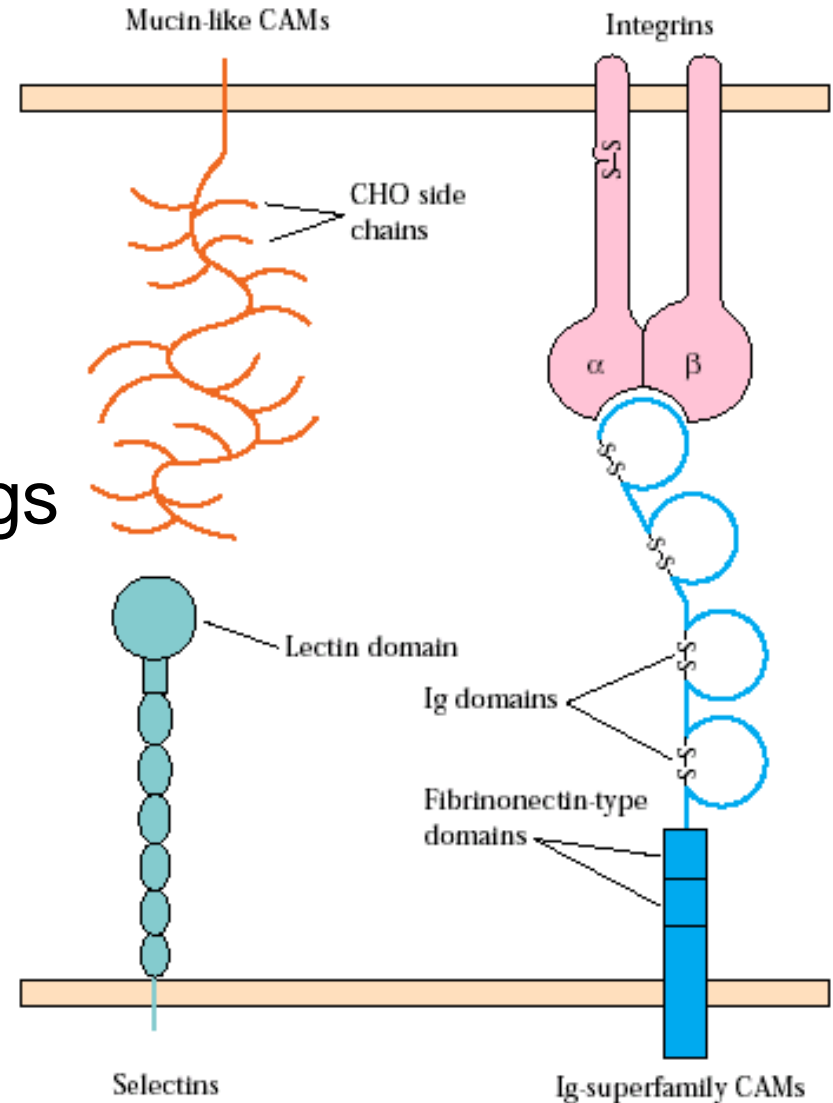
ELEMENTOS QUE PARTICIPAN EN EL PROCESO DE MIGRACIÓN LEUCOCITARIA

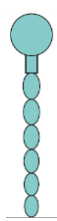
- ✿ MOLÉCULAS DE ADHESIÓN
- ✿ QUIMIOCINAS y otras moléculas quimiotácticas
- ✿ CITOCINAS
- ✿ HEVs

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

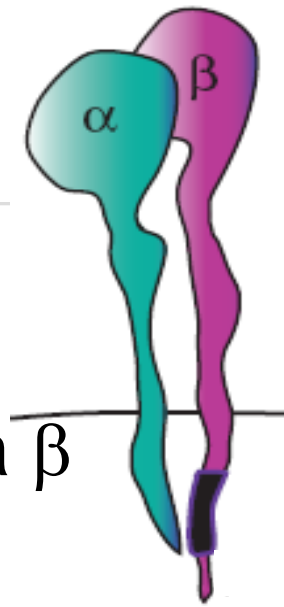
CD34

PSGL-1

MadCAM-1

INTEGRINAS

- Proteínas heterodiméricas:
15 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

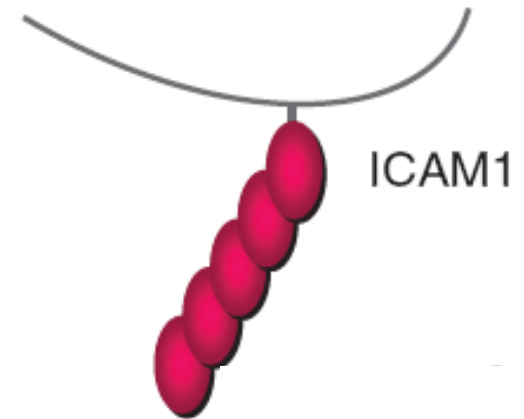
ICAM-1

ICAM-2

ICAM-3

VCAM

PECAM-1



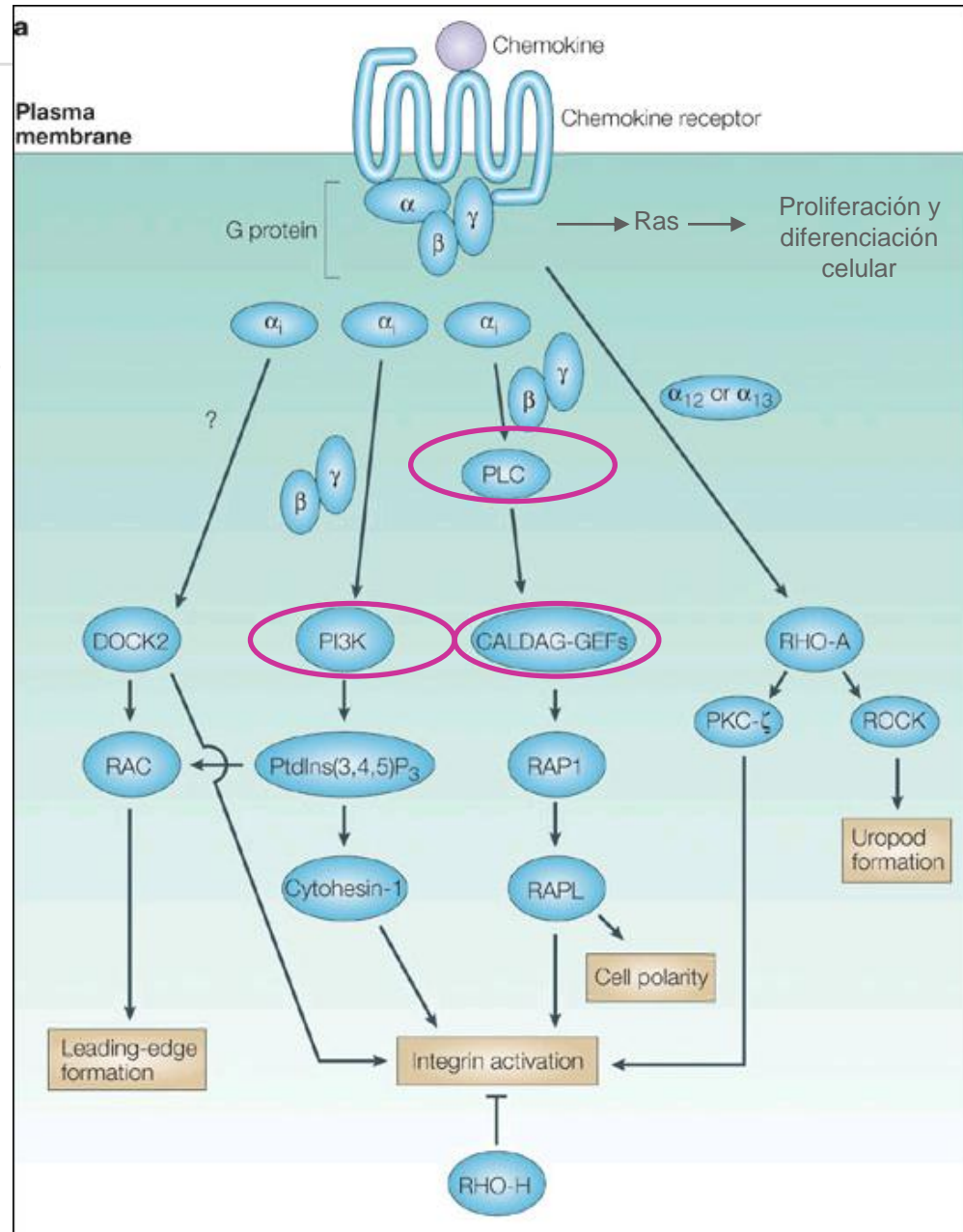
- Citocinas quimiotácticas, de 8-12 kd
- Homología 20-70% en la secuencia de sus aa

QUIMIOCINAS

	Family	Chromosome	Chemokine	Receptor	Main leukocyte targets			
			Old name	New name				
α Quimiocinas	CXC	4q13-q21	IL-8	CXCL8	CXCR1	PMN		
			4q21	GCP-2			CXCL6	
		4q12-q13	NAP-2	CXCL7				
			ENA-78	CXCL5	CXCR2			
		4q21	GRO α	CXCL1				
			GRO β	CXCL2				
			GRO γ	CXCL3				
			PF4	CXCL4	CXCR3B	Th1, NK		
			IP-10	CXCL10				
			Mig	CXCL9	CXCR3A			
		4q21.2	I-TAC	CXCL11	CXCR4	Widespread		
		10q11.1	SDF-1 α/β	CXCL12				
		4q21	BCA-1	CXCL13			CXCR5	
		17p13		CXCL16	CXCR6	T act		
		5q31	BRAK	CXCL14	Unknown	Mo		
		β Quimiocinas	CC	17q11.2	MCP-1	CCL2	CCR2	Mo, NK, Ba, iDC, T act, B
					MCP-4	CCL13		
					MCP-3	CCL7		
17q12	MCP-2			CCL8	CCR5	Mo, M \emptyset , Th1, T act, NK		
	MIP-1 β			CCL4				
17q11	MIP-1 α S			CCL3				
17q11.2	MIP-1 α P			CCL3LI				
17q12	RANTES			CCL5	CCR1	Mo, M \emptyset , iDC, NK		
17q12	MPIF-1			CCL23				
17q11.2	HCC-1			CCL14				
17q11.2	HCC-2			CCL15	CCR3	Eo, Ba, Th2		
17q11.2	HCC-4			CCL16				
17q21.1	Eotaxin			CCL11				
7q11.23	Eotaxin-2			CCL24	CCR4	iDC, Th2, NK, T skin,		
	Eotaxin-3			CCL26				
16q13	TARC			CCL17	CCR6	iDC, T act, B		
2q33-q37	MDC			CCL22				
2q33-q37	MIP-3 α			CCL20	CCR7	mDC, M \emptyset , T naive, T act		
9p13	ELC	CCL19						
9p13	SLC	CCL21	CCR8	Mo, iDC, th2, T req				
17q12	I-309	CCL1						
19p13.2	TECK	CCL25	CCR9	T, T muc				
9p13	CTACK	CCL27						
γ Quimiocinas	XC	17q11.2	MEC	CCL28	CCR10	T act, T muc, T skin		
			PARC	CCL18				
			Unknown	Unknown				
δ Quimiocinas	CX ₃ C	1q23	Lymphotactin	XCL1	XCR1	T, NK		
			SCM-1 β	XCL2				
			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

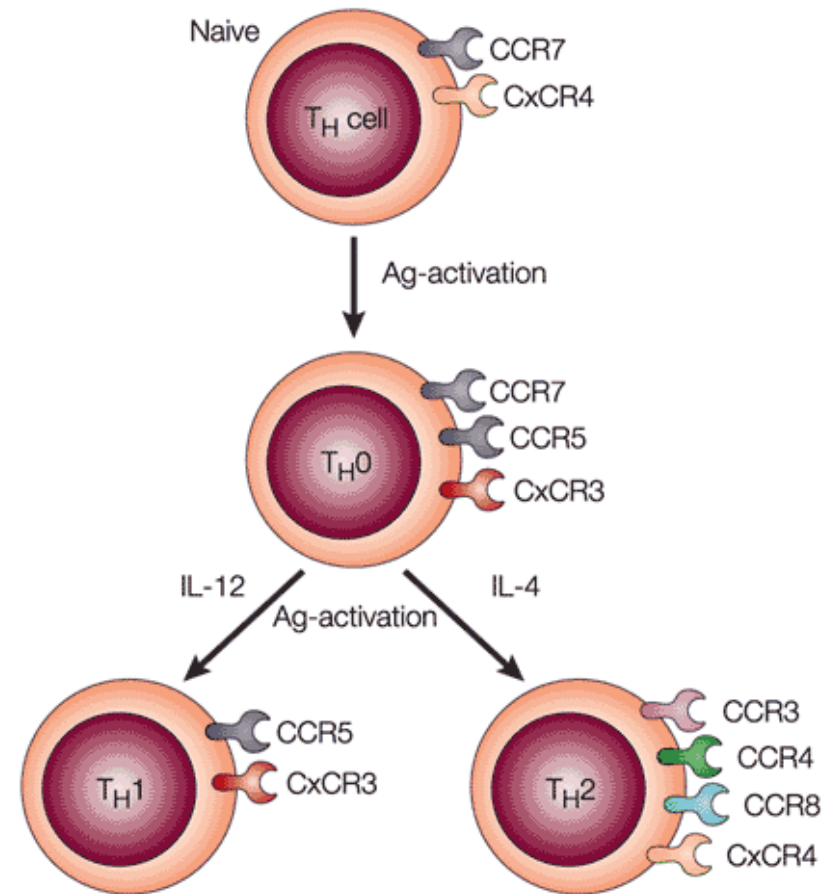
Expresión constitutiva o inducida por inflamación

•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

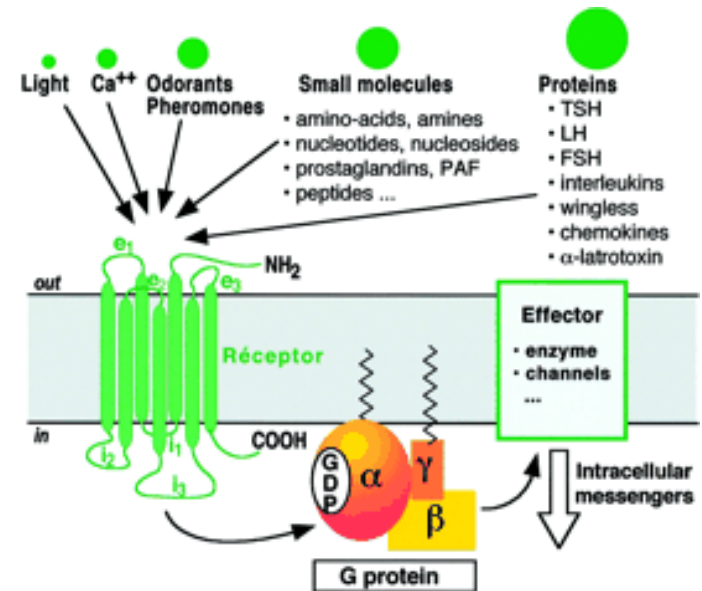
Ebert L et al. Mol Immunol. 2005.

OTRAS MOLÉCULAS QUIMIOTÁCTICAS

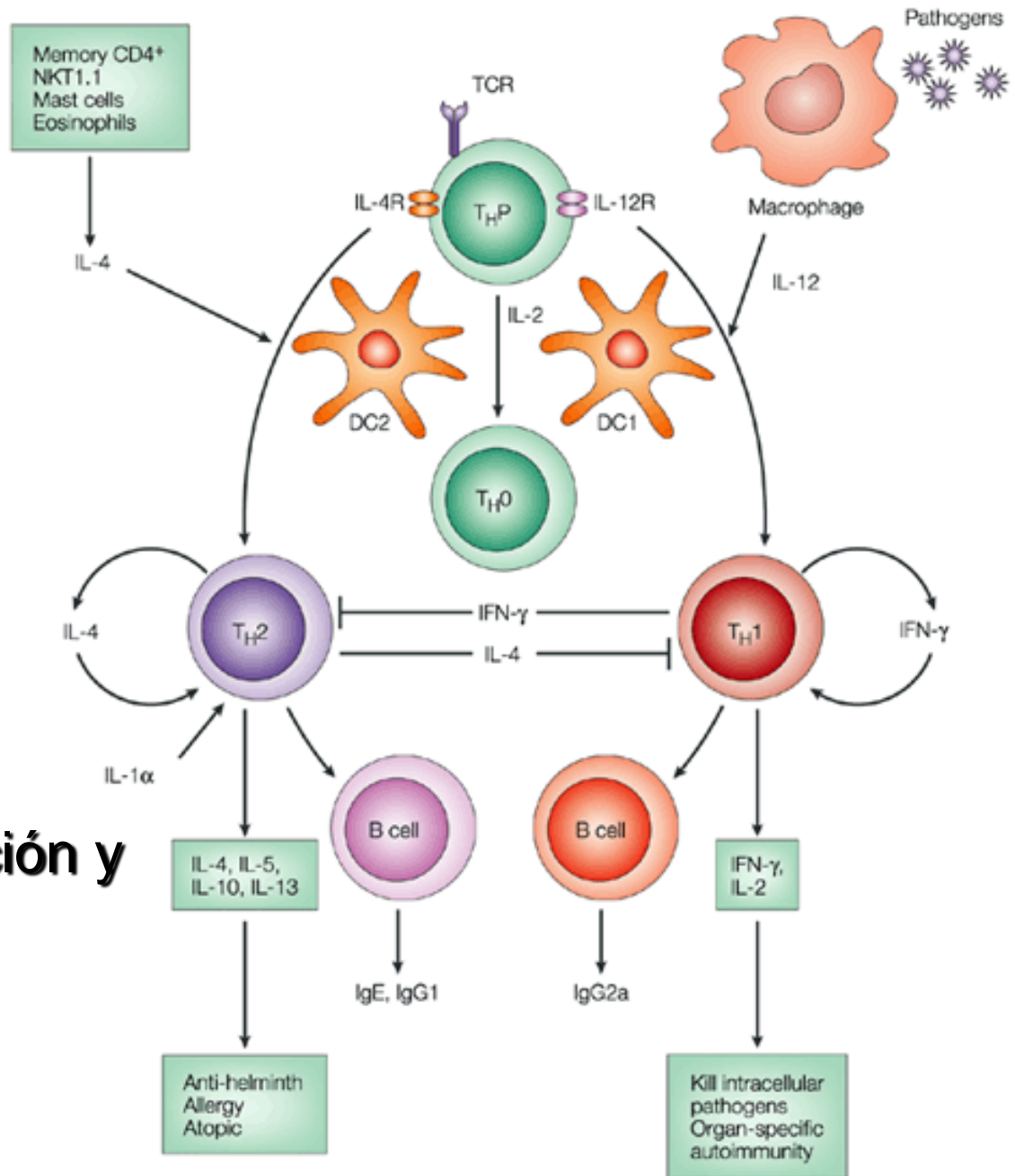
- Proteínas del complemento C3a, C5a
- Péptidos bacterianos

fMLP

- PAF
- LTB4
- Cadherinas
- Defensinas



CITOCINAS



• Funciones:

✓ Desarrollo de una RI

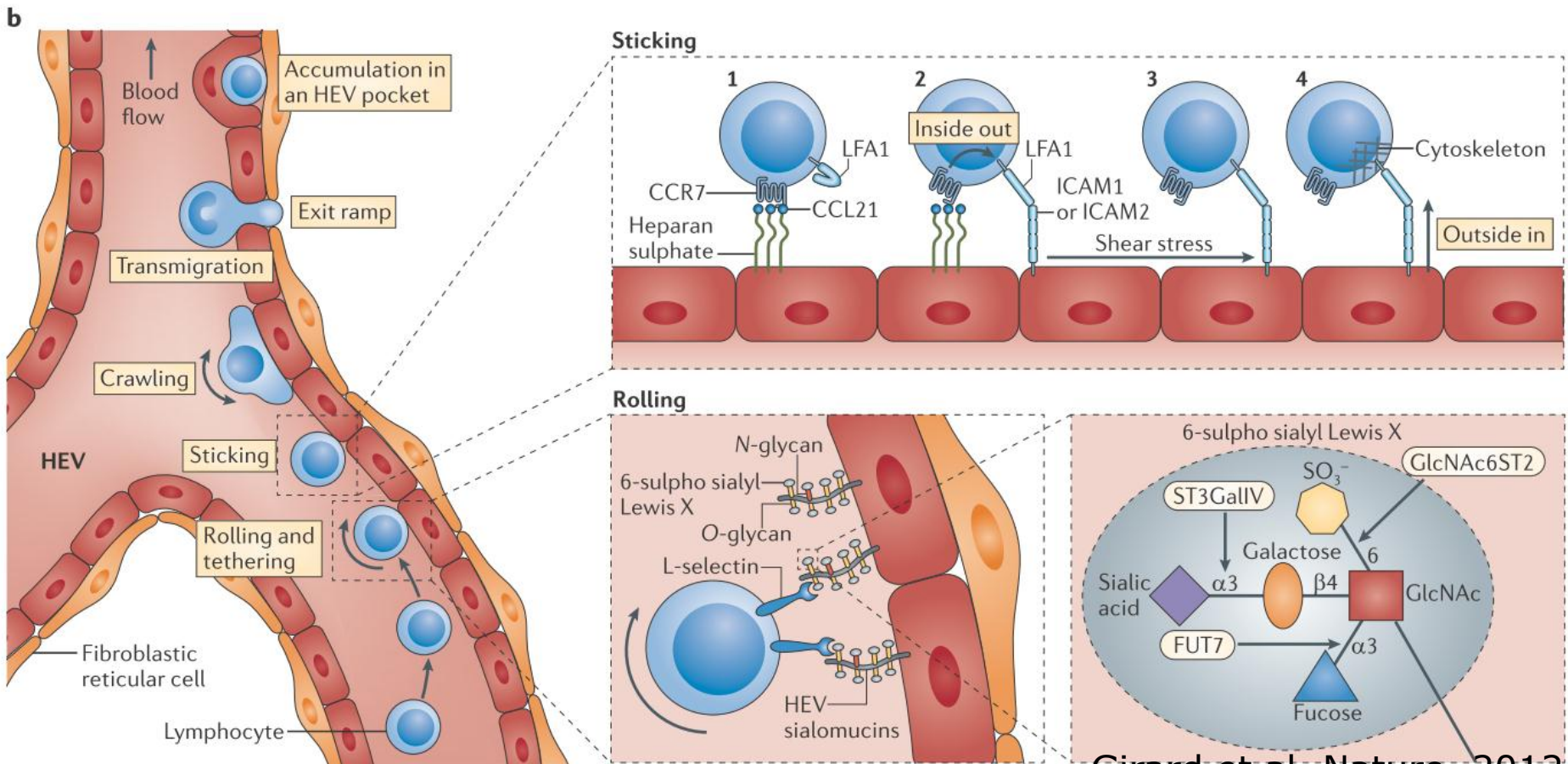
✓ Regulación de la hematopoyesis, proliferación y diferenciación celular

HEVs

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

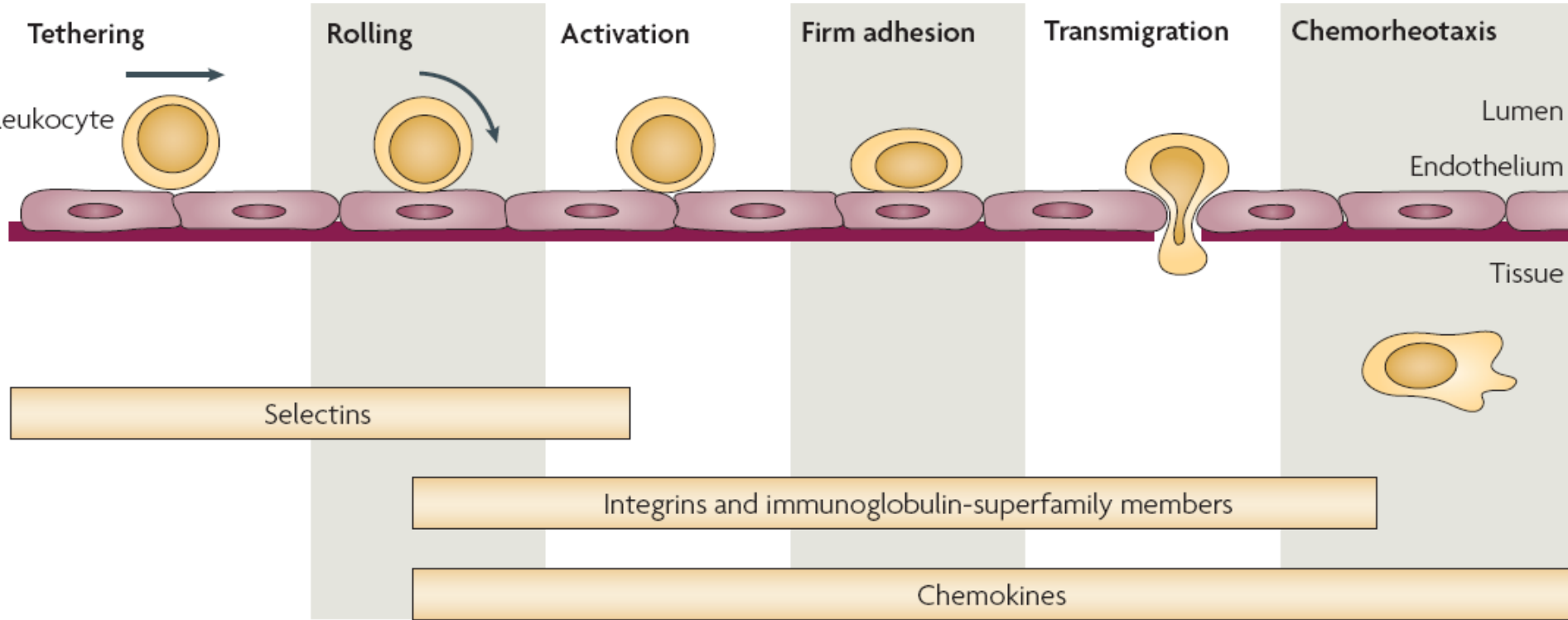
PASOS EN LA MIGRACIÓN DEL LEUCOCITO

1 *Rolling*
dependiente de
selectinas

2 Activación
dependiente de
quimiocinas

4 Adhesión firme
dependiente de
integrinas

3 Migración
transendotelial



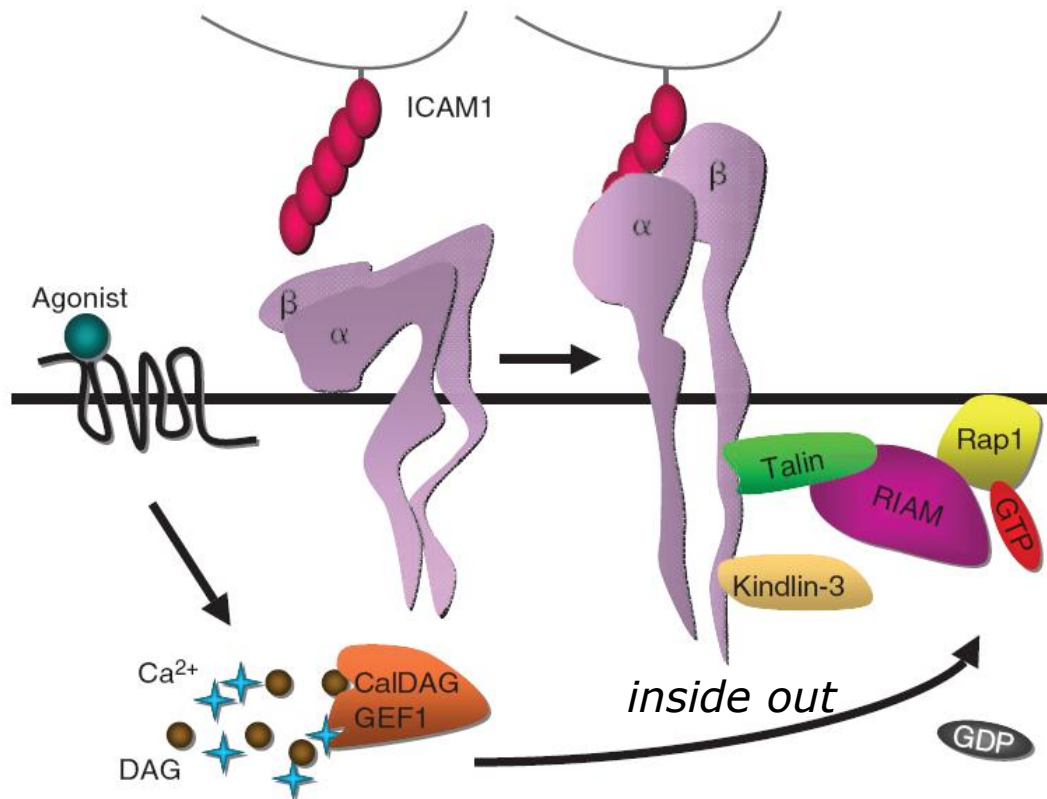
① ROLLING

- × 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 QUIMOQUINAS

- ✗ 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

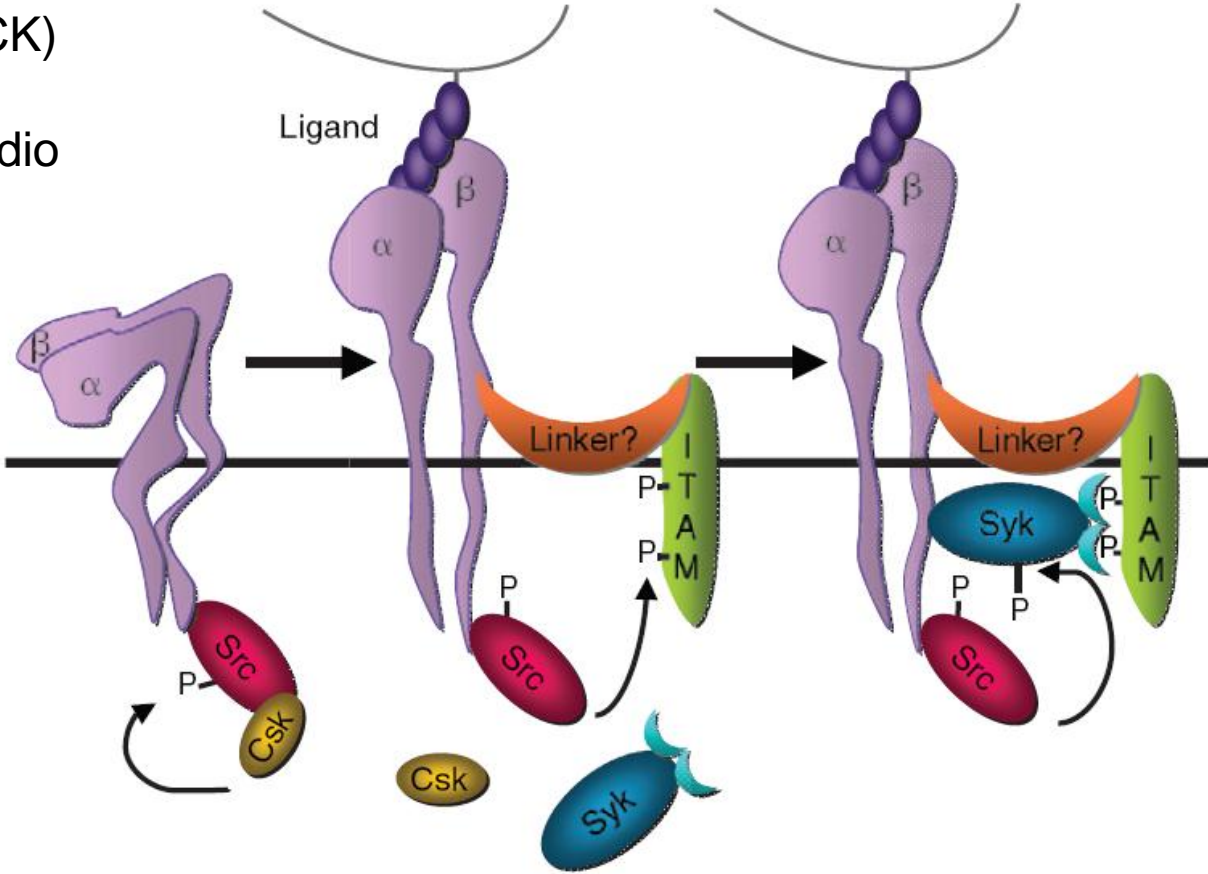
CD49d/CD29 (VLA-4, α 4 β 1) (Ls) se une a VCAM (endotelio)

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

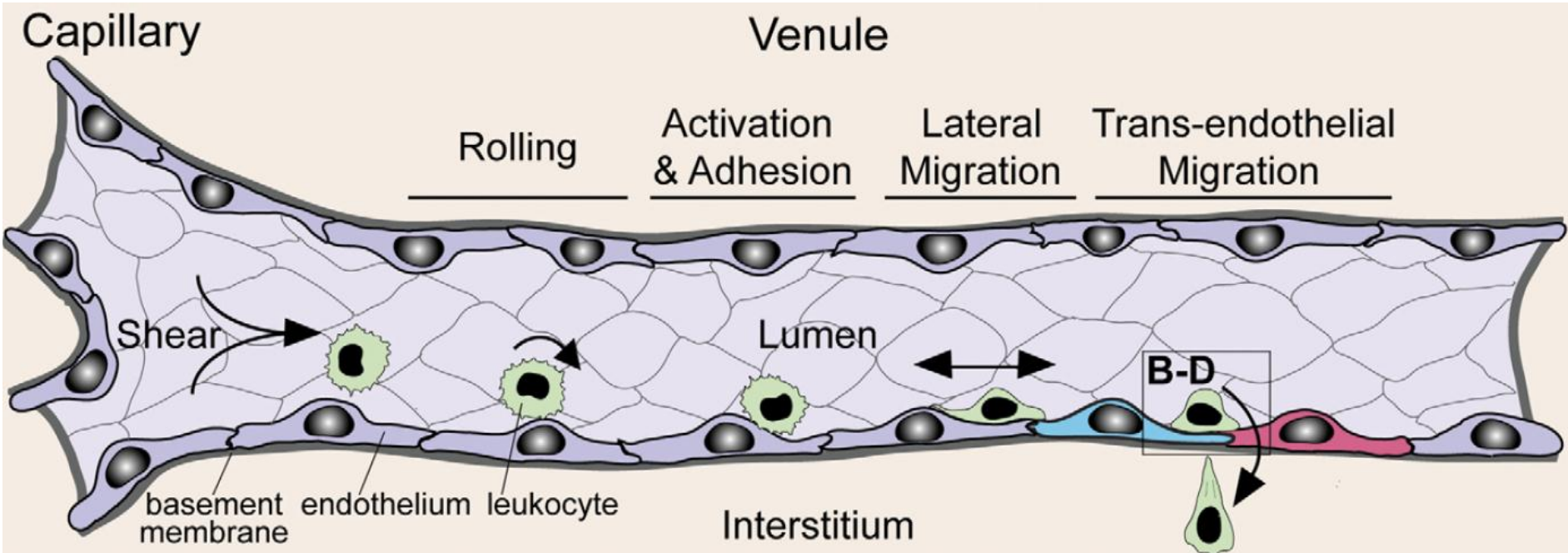
✗ Quimiocinas responsables de la polarización:

Lamelipodio

Leading edge (frente de avance)

Urópodo

Trailing edge (cola de contracción)

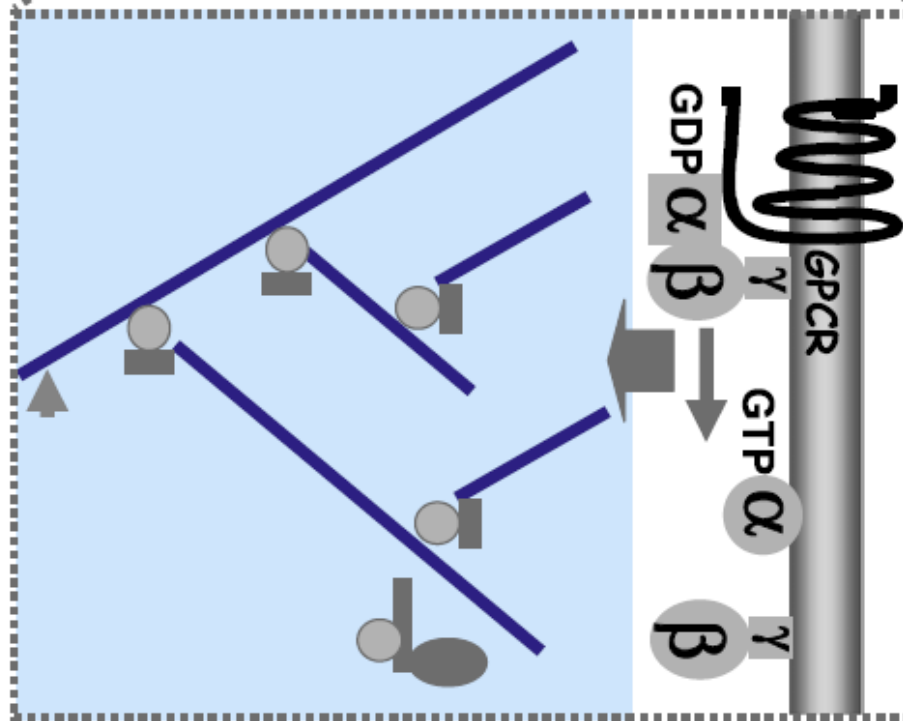
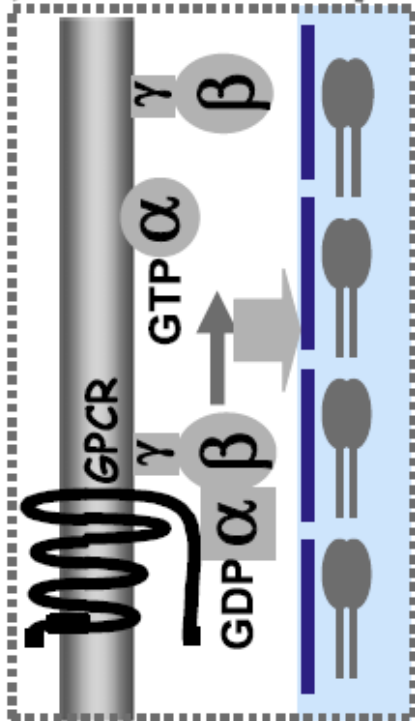


Back

Front

QUIMIOTAXIS

haptotaxis vs quimiotaxis



Células Quimiotácticas

- Polaridad
- Motilidad
- Percepción de gradiente

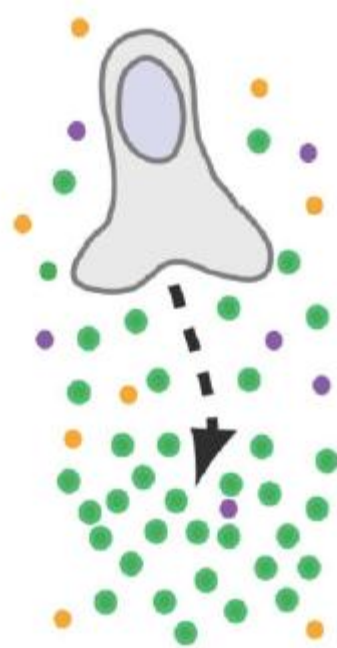
Diferentes señales al frente y atrás

— F-actin
 Myosin II

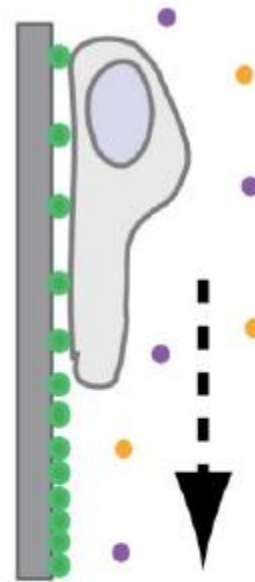
— F-actin
 Arp2/3
 WASp/Scars
 Myosin I
 ADF/cofilin

— CARMIL
 Myosin I

QUIMIOTAXIS



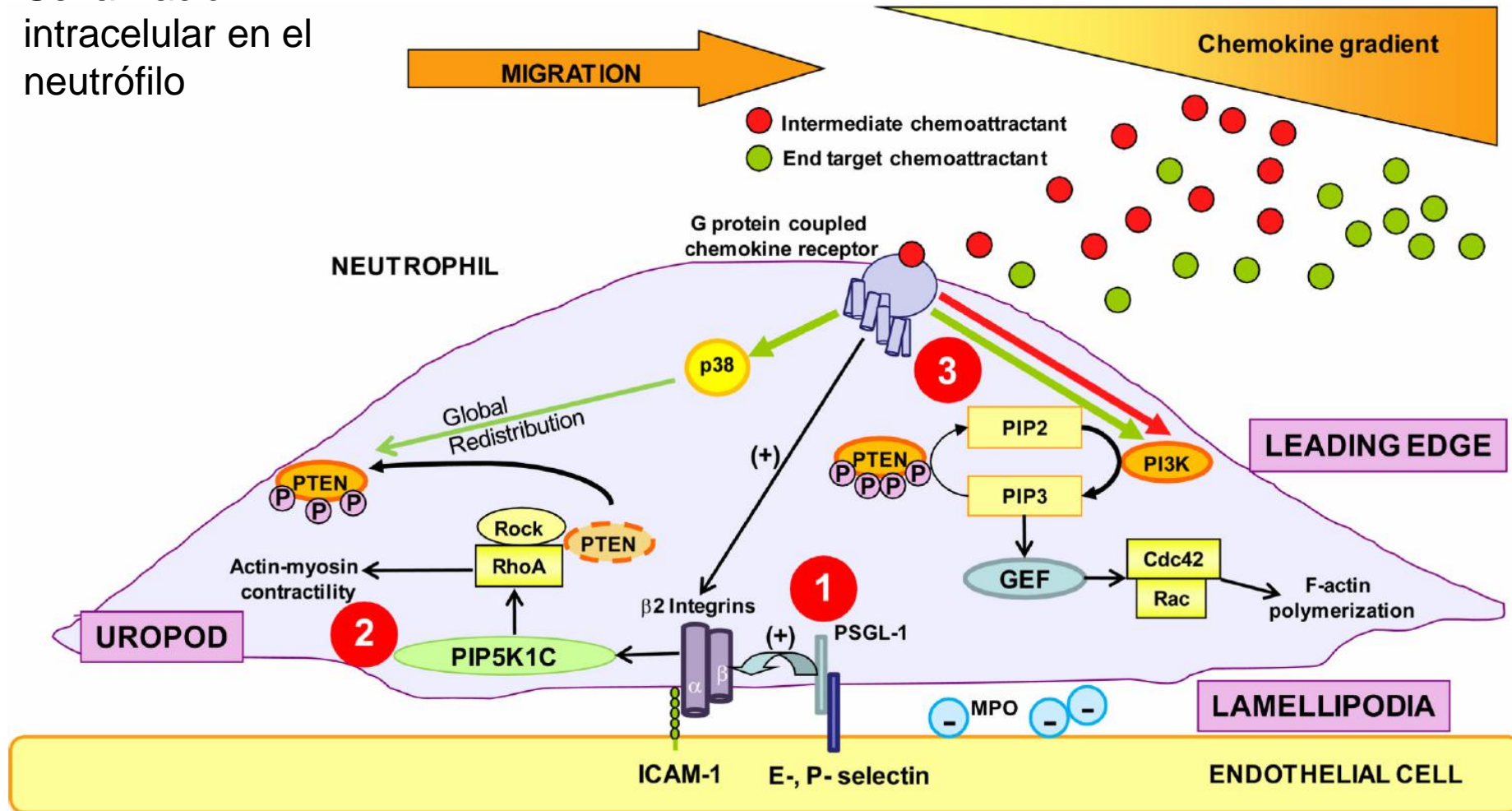
CHEMOTAXIS



HAPTOTAXIS
surface-bound
chemokine
gradient

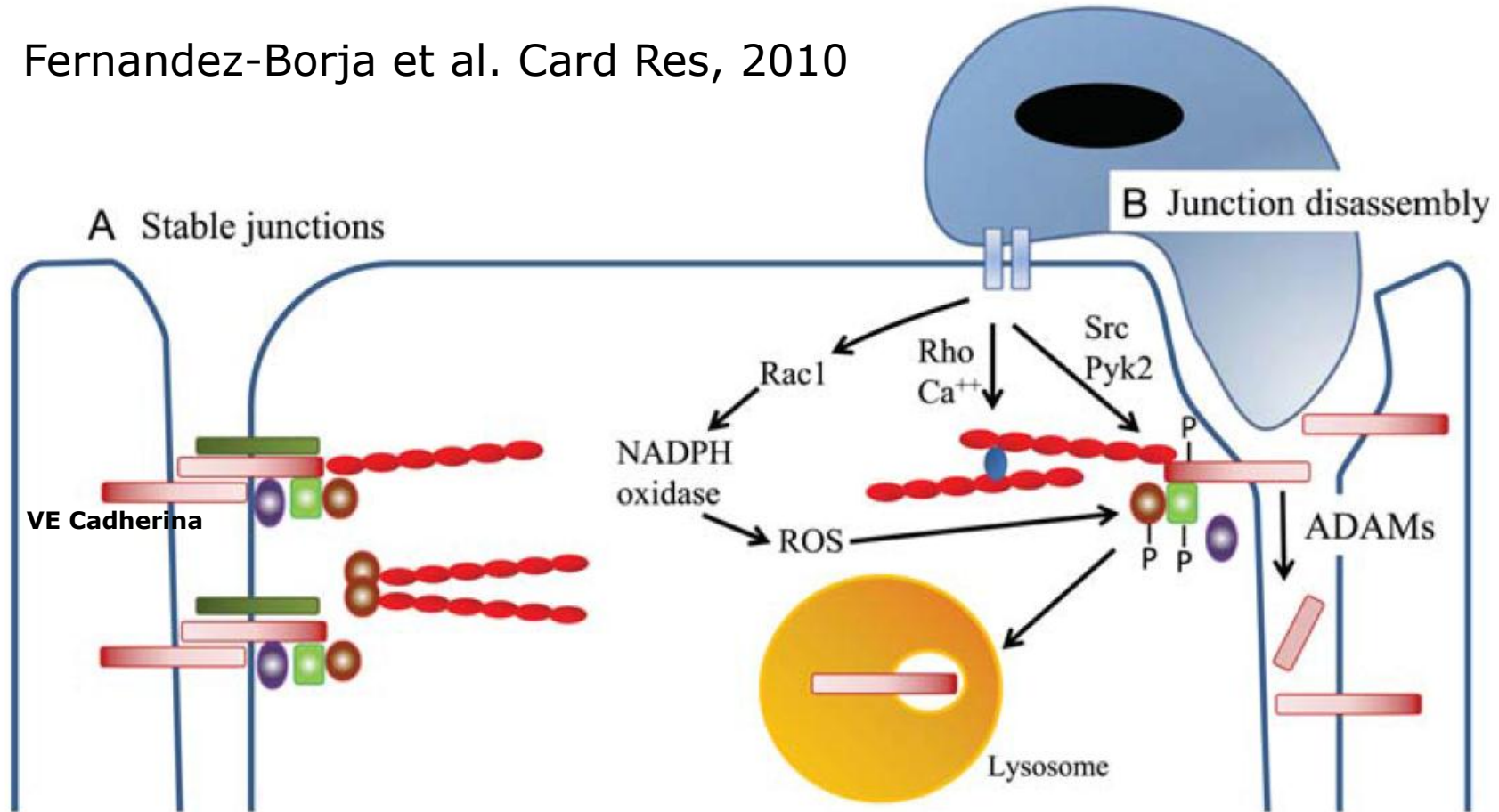
MIGRACIÓN TRANSENDOTELIAL

Señalización intracelular en el neutrófilo

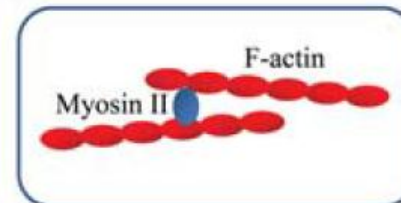


MIGRACIÓN TRANSENDOTELIAL

Fernandez-Borja et al. Card Res, 2010

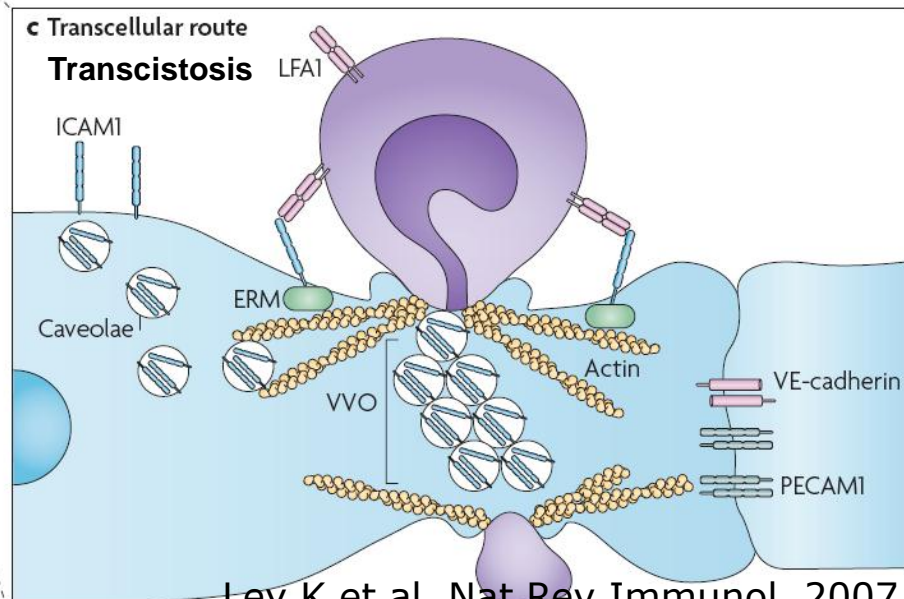
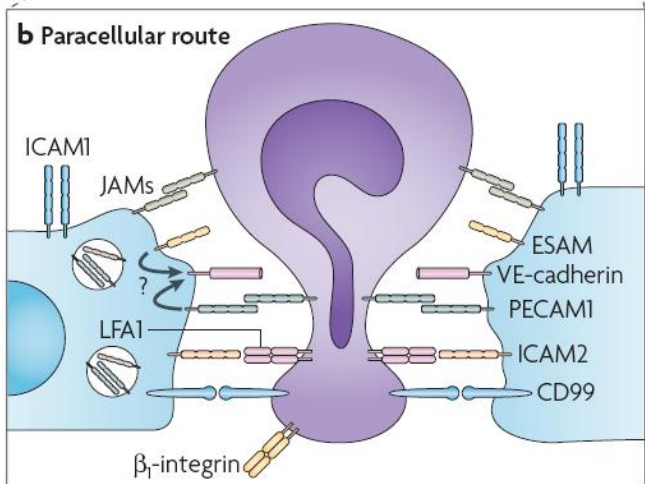
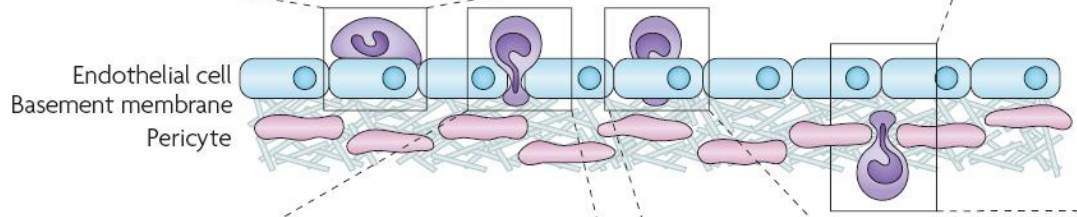
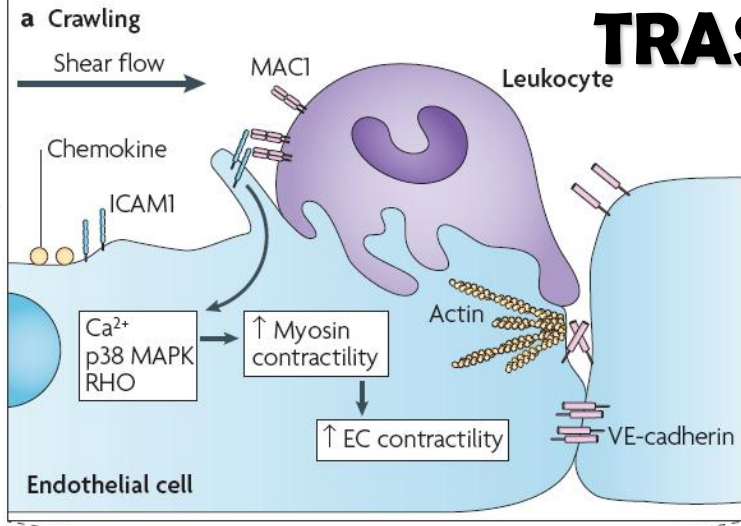


VE Cadherina
JAM-1 y JAM-2 moléculas de adhesión de unión
CD31
PECAM1

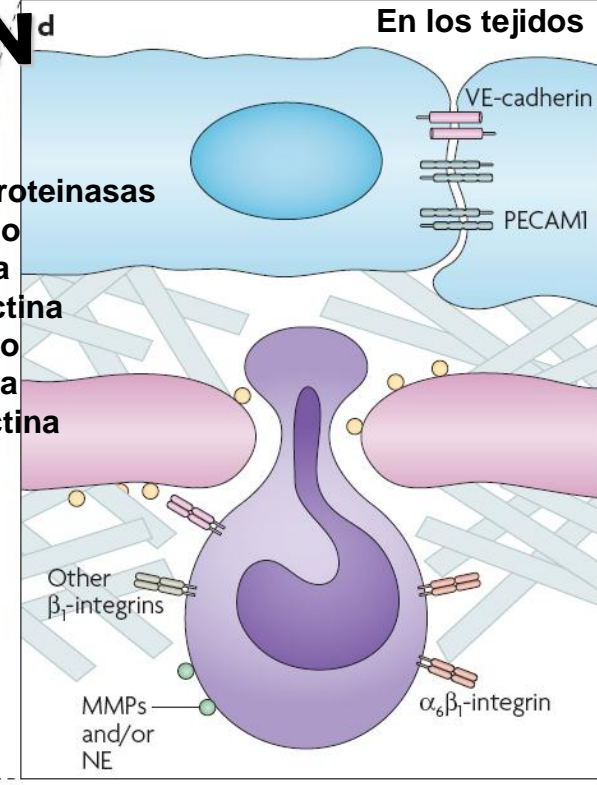


Señalización intracelular en la célula endotelial

TRASMIGRACIÓN



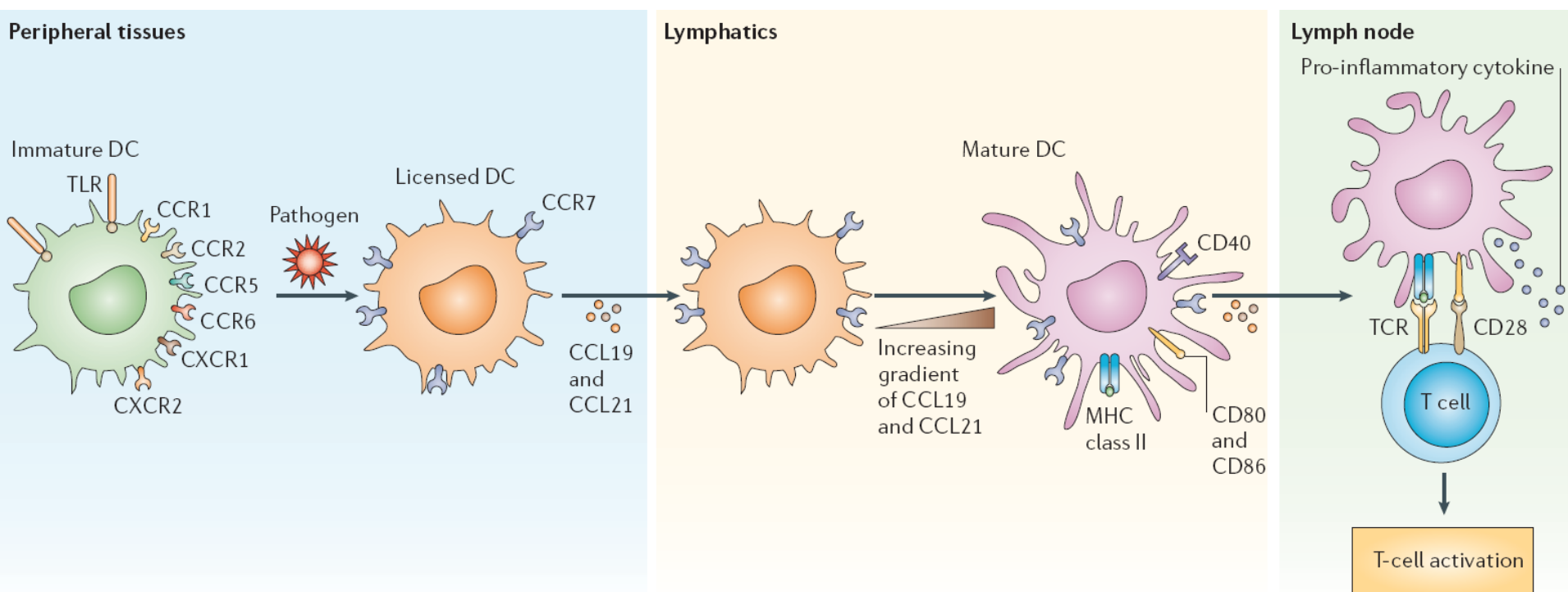
- MMPs metaloproteinasas
- VLA1 colágeno
- VLA2 laminina
- VLA5 fibronectina
- colágeno
- laminina
- vitronectina



TRÁFICO DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

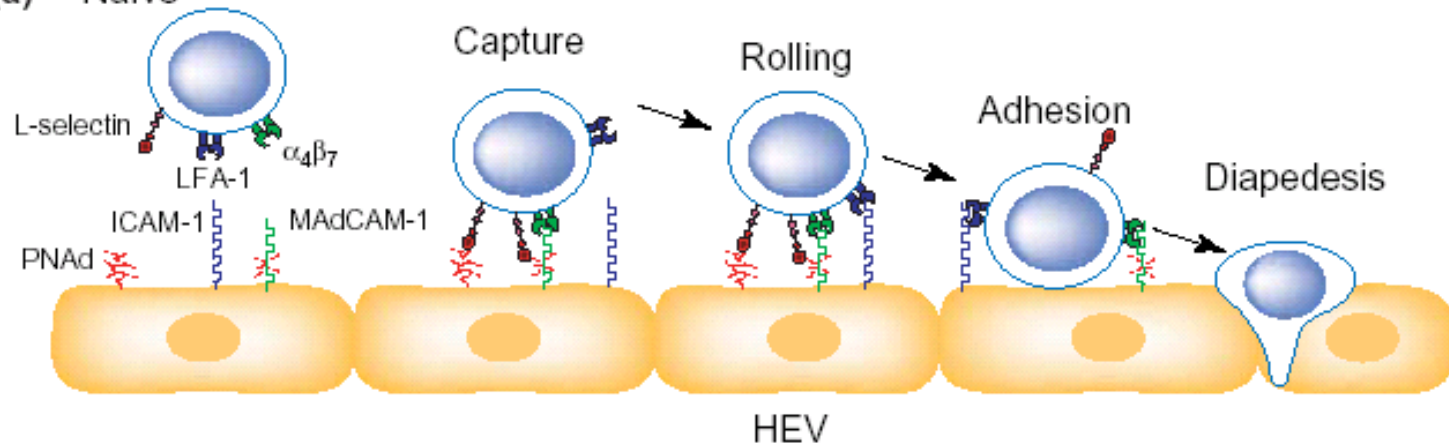
Otras funciones de las quimiocinas:

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

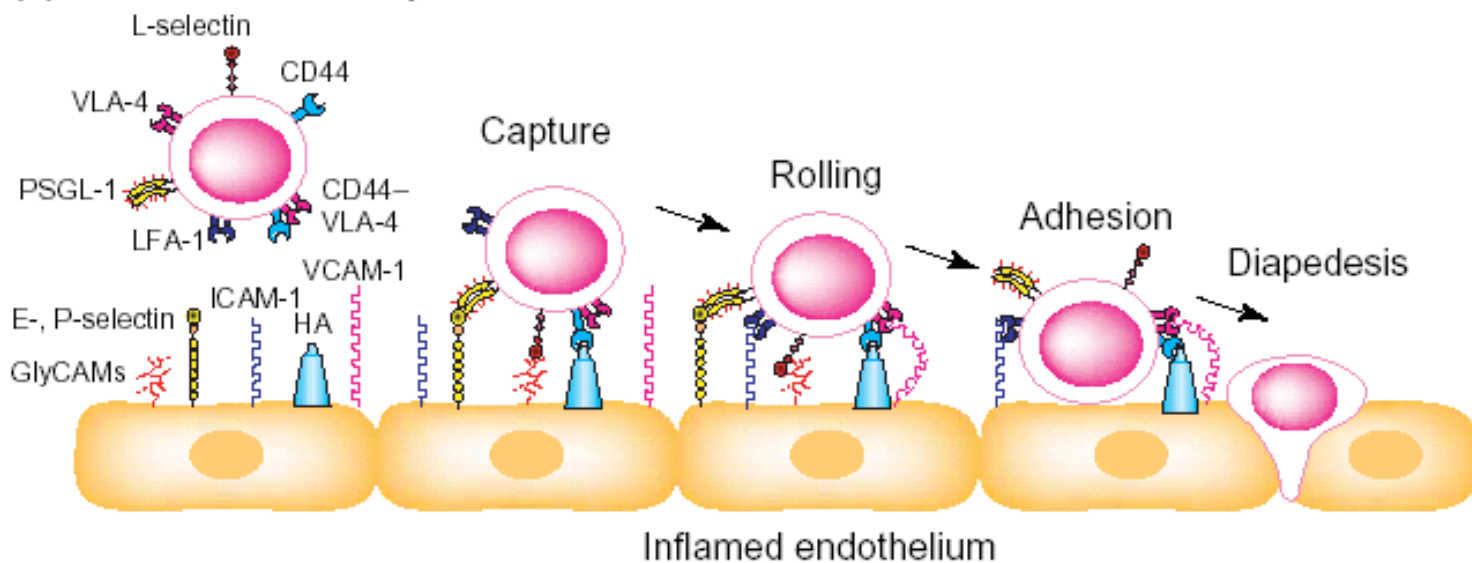


MIGRACIÓN LINFOCITARIA

(a) Naïve



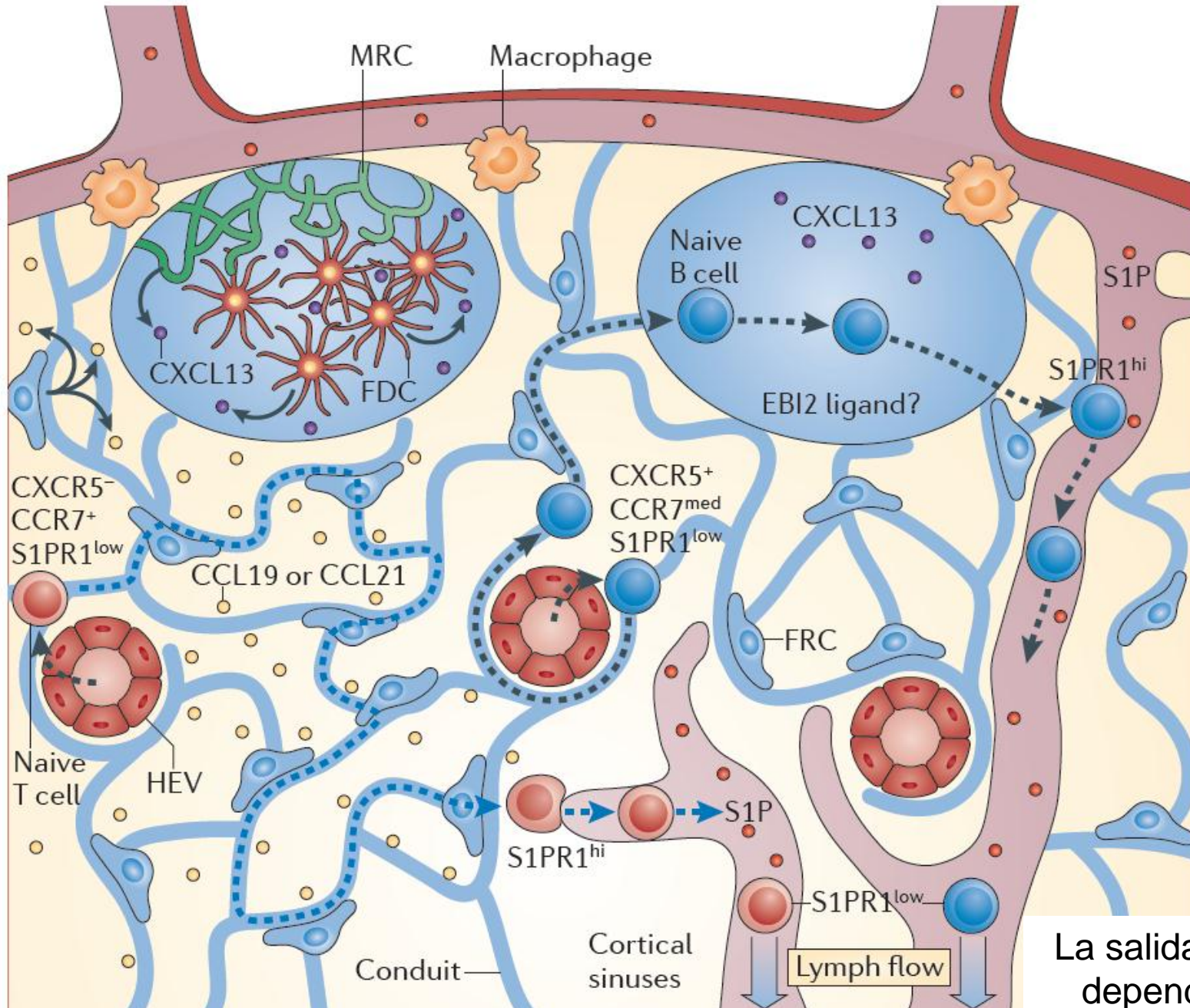
(b) Effector or memory



Inflamed endothelium

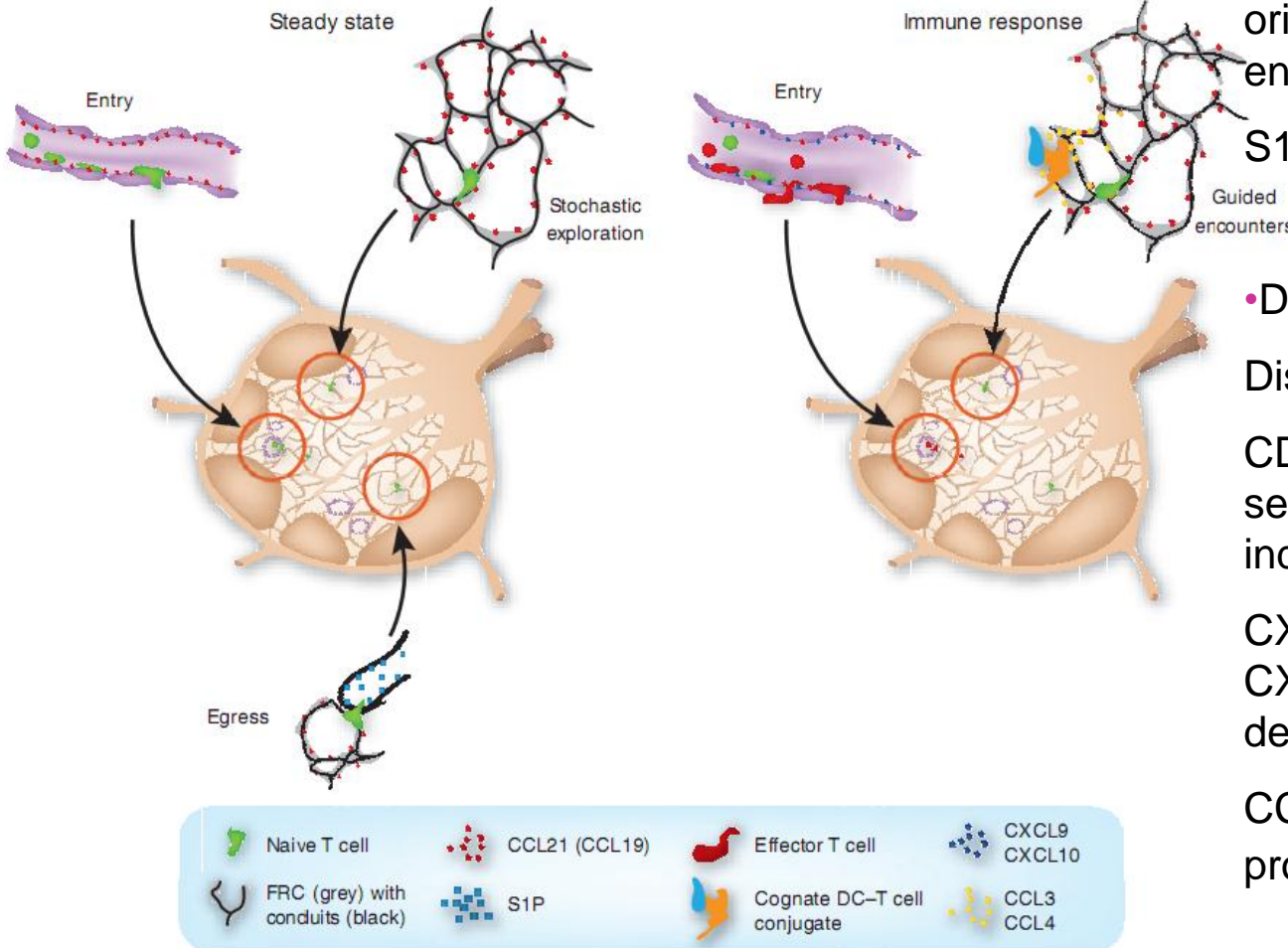
Migración del LT y LB *naive* en el NLP

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

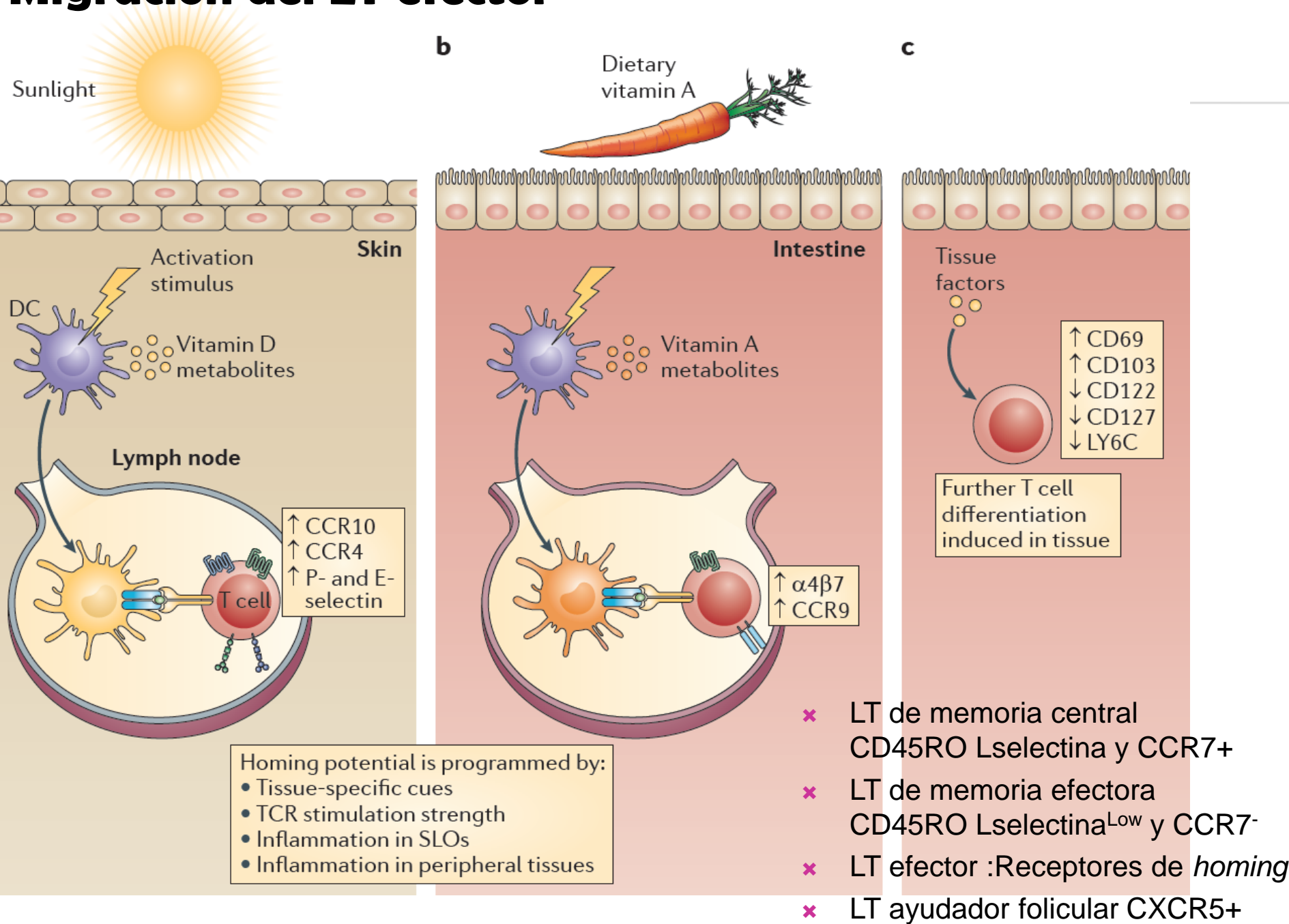
Disminución del egreso

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

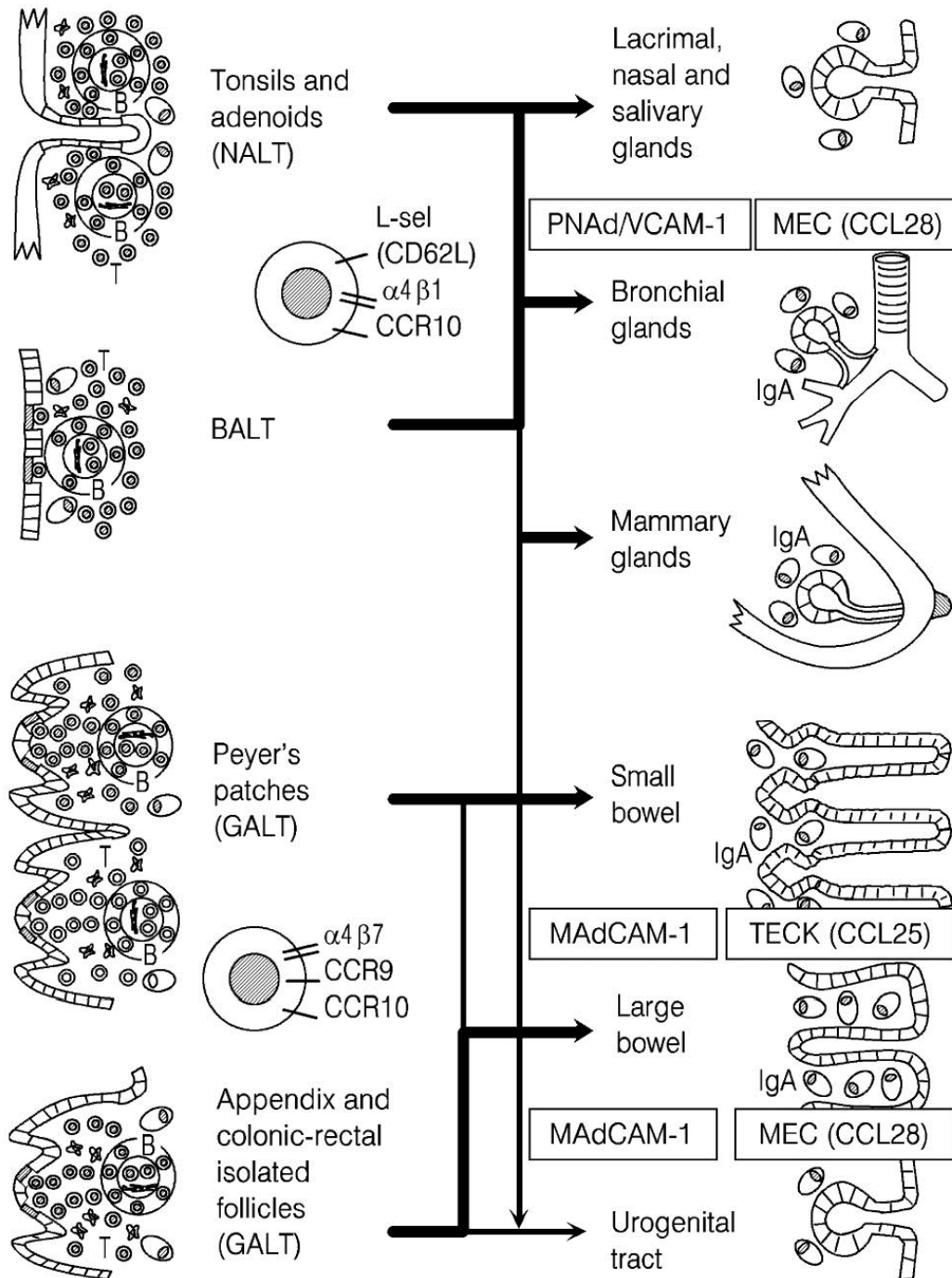
CCL3 y CCL4 (ligandos de CCR5) producidos en la paracorteza

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



Inductive sites

Effector sites



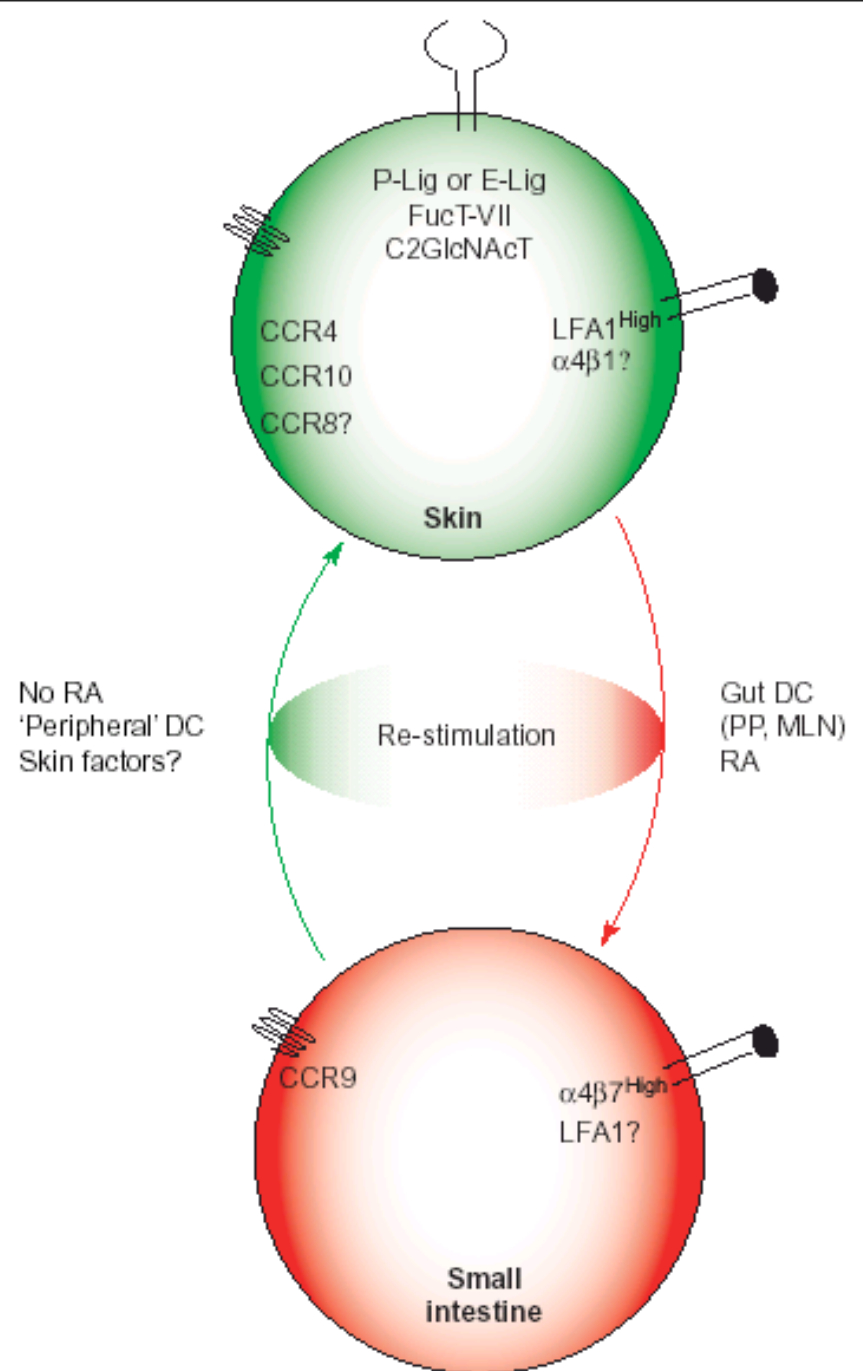
MIGRACIÓN LINFOCITARIA

Receptores de *Homing* Linfocito B

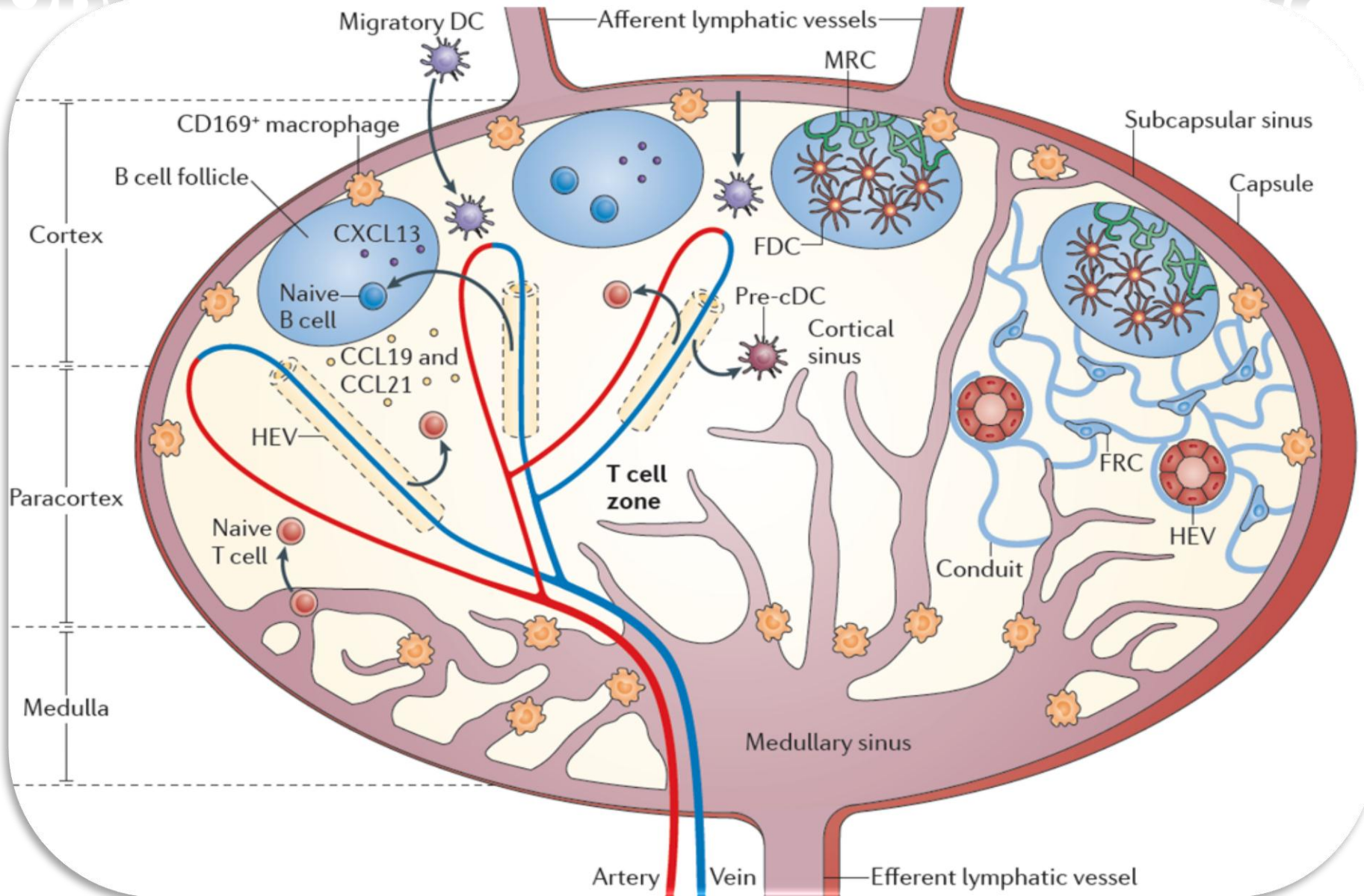
- Plasmocitos productores de IgG en MO expresan VLA4 CXCR4 que se une a VCAM1 CXCL12 en endotelio
- Plasmocitos productores de IgA expresan $\alpha 4\beta 7$ CCR9 CCR10 que se une a MadCAM1 CCL25 CCL28

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



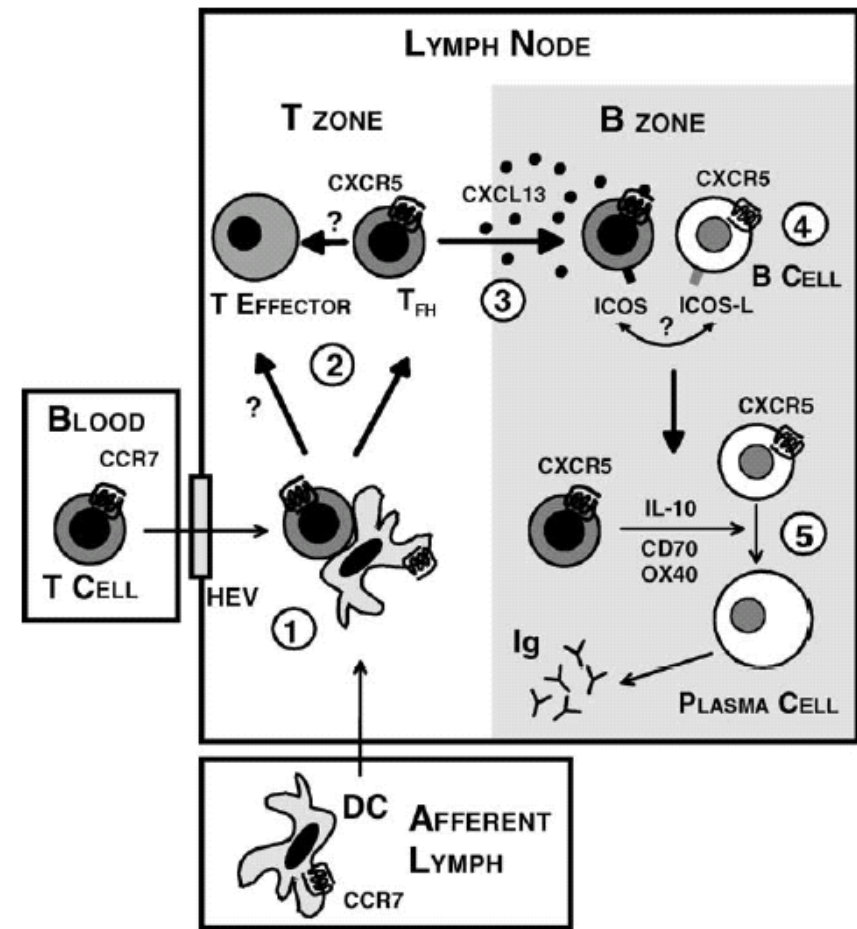
LT activado x CDs \longrightarrow LT_{FH}
expresa CXCR5 que reconoce
CXCL13 en la zona B



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

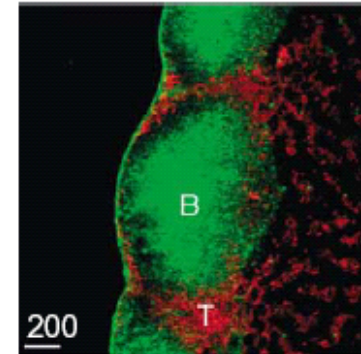
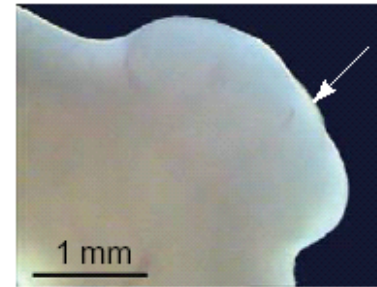
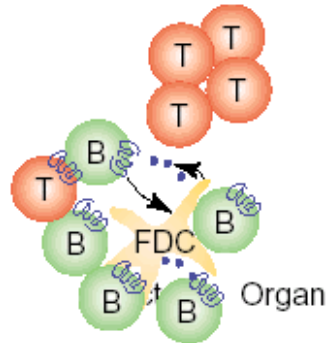
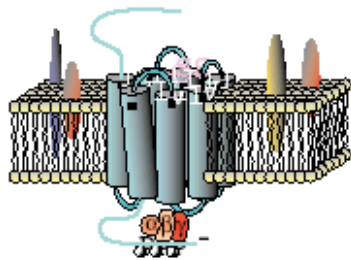
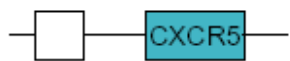
(ii)
Putative structure and topographie of gene product

(iii)
Cells expressing gene product

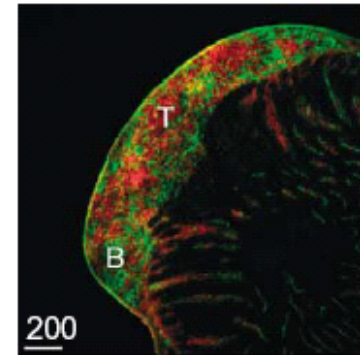
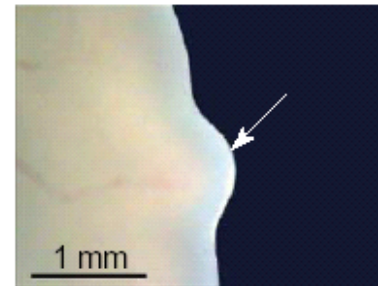
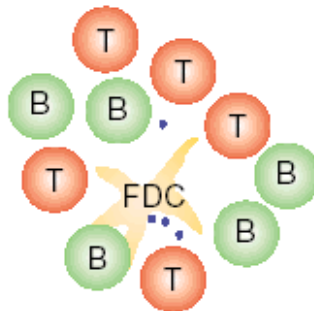
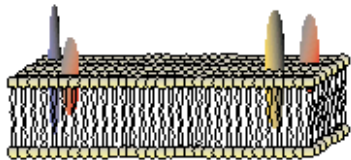
(iv)
Gross morphology of organ of interest

(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