

REVIEW ARTICLES

Los linfocitos T $\gamma\delta$ y su papel en procesos de hipersensibilidad en la mucosa digestiva y respiratoria

N. Villarrubia, F. León^a y A. Bootello

Servicio de Inmunología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España. ^aBecario del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS).

RESUMEN

La mayoría de los linfocitos T, las células mejor conocidas del sistema inmune, expresan en su membrana un receptor para antígeno formado por una cadena α y otra β , denominado TcR- $\alpha\beta$. Sin embargo, existe una segunda población de linfocitos T minoritaria en la sangre, bazo y ganglios linfáticos que presenta un TcR diferente, el TcR- $\gamma\delta$. Estos linfocitos, probablemente implicados en el sistema inmune innato, son sin embargo cuantitativamente importantes en los epitelios, donde se denominan "linfocitos intraepiteliales $\gamma\delta$ " (LIE $\gamma\delta$). Los LIE $\gamma\delta$ de la mucosa digestiva o i-LIE $\gamma\delta$ son especialmente abundantes y podrían tener, al menos en parte, un origen extratímico. Se ha descrito un aumento de la población i-LIE $\gamma\delta$ en enfermedades intestinales como la alergia alimentaria o la enfermedad celíaca, aunque el significado de este aumento no es del todo conocido. La importancia de los LIE $\gamma\delta$ de la mucosa respiratoria es doble: por un lado, estarían encargados de la protección de la mucosa frente a agentes patógenos y, por otro, estarían implicados en procesos alérgicos como la rinitis alérgica crónica y el asma alérgica. En este trabajo se revisan las principales características de ésta, aún poco conocida pero interesante, estirpe linfoide, cuya relevancia está emergiendo gracias a los hallazgos que se han sucedido en los últimos años.

Palabras clave: Linfocitos intraepiteliales $\gamma\delta$. Inmunidad innata. Mucosa. Celíaca. Alergia. Rinitis. Asma.

INTRODUCCIÓN

Desde mediados de los años 80 se conocen dos poblaciones distintas de linfocitos T en función del tipo de receptor para antígeno que expresan en su membrana: los linfocitos T $\alpha\beta$, que expresan el receptor para antígeno TcR- $\alpha\beta$, y los linfocitos T $\gamma\delta$, que expresan el TcR- $\gamma\delta$. Los primeros se encuentran principalmente en bazo y ganglios linfáticos y median respuestas inmunes específicas, mientras que los linfocitos T $\gamma\delta$ aparecen principalmente en epitelios, donde se conocen como linfocitos intraepiteliales $\gamma\delta$ (LIE $\gamma\delta$). Las características, tanto fenotípicas como funcionales, de los linfocitos T $\gamma\delta$ son mucho menos conocidas que las de los linfocitos T $\alpha\beta$, debido en parte a que su descubrimiento es relativamente reciente. Debido a sus características, se ha propuesto que los linfocitos T $\gamma\delta$ participan activamente en el sistema inmune innato o inespecífico, respondiendo a antígenos comunes de estrés celular en lugar de a una variedad de antígenos microbianos, como ocurre en el caso de los linfocitos T $\alpha\beta$. De los hallazgos que se han sucedido en los últimos años se deduce que la relevancia de estas células es mayor de lo que se pensaba, pudiendo tener funciones muy importantes en la defensa de los epitelios así como implicaciones en enfermedades alérgicas y autoinmunes tanto del aparato digestivo como del respiratorio.

El objeto de esta revisión es, por un lado, resumir lo que hasta ahora se conoce de las características generales de los linfocitos T $\gamma\delta$ y, por otro, poner de manifiesto la emergente importancia de estas células en los compartimentos epiteliales del organismo,

haciendo una especial mención de la población de LIE $\gamma\delta$ presente en la mucosa digestiva y en la respiratoria.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS LINFOCITOS T $\gamma\delta$

El receptor clonotípico TcR- $\gamma\delta$ y su similitud a un anticuerpo

A finales de la década de los setenta, todas las respuestas inmunes específicas conocidas se consideraban mediadas por linfocitos T que expresaban receptores TcR de tipo $\alpha\beta$. Este paradigma tuvo que rehacerse cuando, en la búsqueda de los genes que codificaban para estos TcRs, se descubrió un nuevo cDNA específico del linfocito T que también codificaba para una proteína con homología a las Inmunoglobulinas (Ig) y cuyos genes se reordenaban en algunos de estos linfocitos T (1). Este cDNA codifica para un polipéptido, denominado γ o TcR- γ , que se encuentra asociado a un segundo polipéptido, δ o TcR- δ (fig. 1). A su vez el heterodímero $\gamma\delta$, como su homólogo $\alpha\beta$, se asocia al complejo CD3 en la membrana celular. A los linfocitos portadores de este nuevo tipo de TcR se les denominó "linfocitos T $\gamma\delta$ ", observándose que no existía solapamiento entre los $\alpha\beta$ y los $\gamma\delta$, es decir, cada linfocito T expresaba sólo un tipo de TcR. Esto se explica porque el conjunto de genes que codifica para la cadena δ se encuentra totalmente incluido en el complejo de genes del TcR- α y, como consecuencia, cualquier reordenamiento de

los genes de la cadena α , inactiva el reordenamiento de los genes de la cadena δ (2).

Se ha visto que existen diferencias estructurales entre el TcR- $\gamma\delta$ y el TcR- $\alpha\beta$, tanto en las regiones variables como en las constantes, como demuestra el análisis cristalográfico detallado del TcR- $\gamma\delta$ llevado a cabo recientemente (3). Además, se ha demostrado que el TcR- $\gamma\delta$ es más parecido a las Igs que al TcR- $\alpha\beta$ en la longitud de las regiones hipervariables (4), que son las encargadas de llevar a cabo el reconocimiento del antígeno. Esta peculiaridad podría condicionar el modo en que los linfocitos T $\gamma\delta$ llevan a cabo el reconocimiento antigénico, como se detallará más adelante.

La distribución anatómica de los linfocitos T $\gamma\delta$ es preferentemente epitelial

Los linfocitos T $\gamma\delta$ se encuentran escasamente representados en los tejidos linfoides periféricos (nódulos linfáticos, placas de Peyer, bazo) donde constituyen entre el 1 y el 5 % de las células CD3⁺. Los pocos linfocitos T $\gamma\delta$ que se encuentran en el bazo, se localizan en la pulpa roja y las zonas marginales (regiones de alto tráfico celular) en lugar de en las áreas T convencionales (5) lo que es consistente con la hipótesis de que estas células no reconocen, de forma prioritaria, antígenos en la superficie de células presentadoras de antígeno "profesionales", sino que reconocen antígenos directamente en los tejidos (6).

Sin embargo, los linfocitos T $\gamma\delta$ abundan en los tejidos epiteliales, estando especialmente represen-

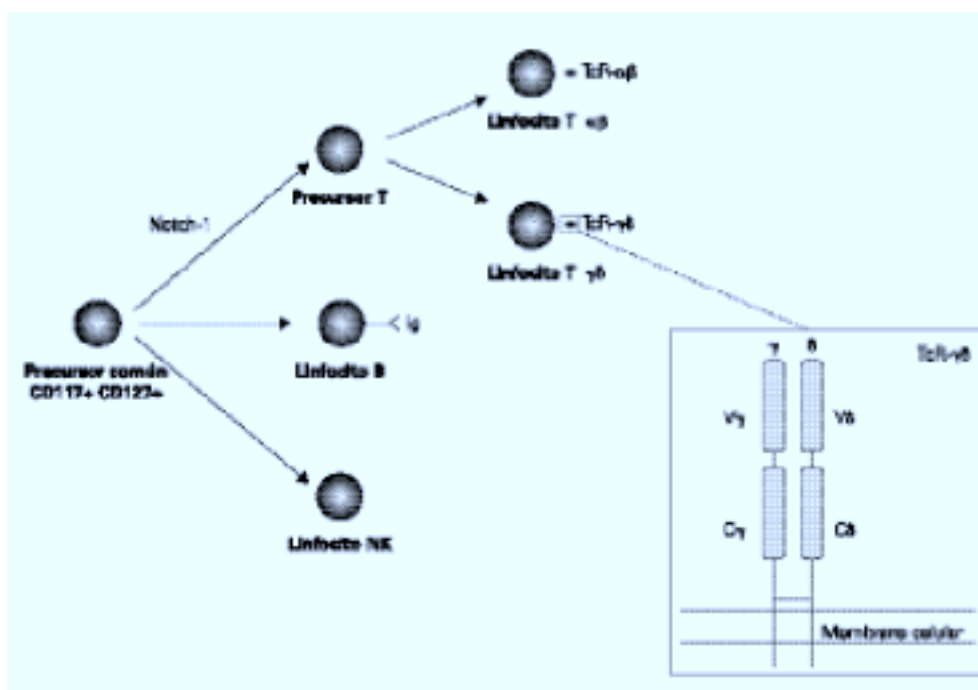


Figura 1.—Diferenciación de los linfocitos T $\gamma\delta$ tímicos y representación esquemática del TcR- $\gamma\delta$. Ig: Inmunoglobulina; V: dominios variables; C: dominios constantes

tados en el intestino, donde aparecen como linfocitos intraepiteliales (LIE) dispersos entre los enterocitos, mientras que apenas son detectables en la lámina propia. En humanos, la razón $\gamma\delta/\alpha\beta$ en el GALT ("gut-associated lymphoid tissue" o tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal) es de aproximadamente 1/5, mientras que en el nódulo linfático es de 1/50 (7).

El confinamiento de los linfocitos T $\gamma\delta$ a las superficies epiteliales, junto con una limitada diversidad del repertorio TcR- $\gamma\delta$, a diferencia del TcR- $\alpha\beta$, sugiere que los linfocitos T $\gamma\delta$ forman parte de la primera línea de defensa del organismo, donde estas células no responderían a una diversidad de antígenos microbianos, sino a antígenos de estrés comunes, que serían marcadores de infección celular o transformación.

Características fenotípicas y funcionales de los linfocitos T $\gamma\delta$

La mayoría de los linfocitos T $\gamma\delta$ periféricos son dobles negativos para CD4 y CD8; sin embargo, los linfocitos T $\gamma\delta$ intestinales (i-LIE $\gamma\delta$) expresan frecuentemente CD8 (50 % de i-LIE $\gamma\delta$), siendo común la expresión del homodímero CD8 $\alpha\alpha$, un marcador de diferenciación extratímica (8). Un porcentaje variable de linfocitos T $\gamma\delta$ periféricos expresan CD28 (9) (coestimulador de linfocitos T $\alpha\beta$), CD40L (10) (lo que implica su capacidad para interaccionar con linfocitos B) y receptores de células NK como el NKG2D, que es un mediador de actividad citolítica (11).

En cuanto a moléculas efectoras, los linfocitos T $\gamma\delta$ poseen capacidad de producción de efectores citolíticos como perforina y granulolisina (lo que les confiere capacidad citotóxica) (12), pueden mediar apoptosis vía CD95/CD95L (Fas/FasL) (13) y producir citocinas como el interferón- γ (IFN- γ), implicado en la activación de macrófagos (14). Por último, los linfocitos T $\gamma\delta$ producen factores de crecimiento para mantener la integridad de los epitelios (p. ej., KGF en el ratón) (7).

Las modalidades de reconocimiento de antígeno por los linfocitos T $\gamma\delta$ los diferencian del resto de linfocitos

Se ha constatado que las dianas moleculares de los linfocitos T $\gamma\delta$ sistémicos son muy amplias, de tal forma que estas células tienen la capacidad de reconocer bacterias, protozoos y células propias infectadas. De la misma forma, parece que los LIE $\gamma\delta$ hu-

manos reconocen un amplio rango de células epiteliales autólogas infectadas o dañadas (7).

El proceso de reconocimiento del antígeno por los linfocitos T $\gamma\delta$ es poco conocido. Se sabe que estas células reconocen una gran variedad de productos no peptídicos de bajo peso molecular (como pirofosfatos y aminas) (7), y también pueden llevar a cabo el reconocimiento de proteínas en su estructura nativa (2), del modo como lo hace la molécula de anticuerpo.

Por otra parte, se ha demostrado que los linfocitos T $\gamma\delta$ reconocen MHC de clase I (15) y de clase II (16) y moléculas relacionadas con MHC de clase I denominadas MIC (MIC-A y MIC-B) así como CD1 (6), todas ellas con capacidad de presentación antigénica. MIC-A y MIC-B se localizan en el *locus* MHC y se expresan por promotores inducibles por proteínas de choque térmico en las células epiteliales, lo que apoyaría la hipótesis de que los linfocitos T $\gamma\delta$ responden a situaciones de estrés celular (6).

Todos estos mecanismos, permiten a los linfocitos T $\gamma\delta$ una respuesta rápida (por la ausencia, en algunos casos, de necesidad de procesamiento) y amplia (por su variedad en los modos de reconocimiento), lo que se corresponde con su importante papel en la inmunidad innata o inespecífica.

Papel de los linfocitos T $\gamma\delta$ en el sistema inmune innato

El sistema inmune innato se caracteriza por ser inespecífico y carecer de "memoria inmunológica". Participan en él macrófagos, neutrófilos y eosinófilos y es fundamental para limitar el avance de la infección (17).

Además del reconocimiento antigénico y la actividad citotóxica, las capacidades funcionales de los linfocitos T $\gamma\delta$ en el sistema inmune innato incluyen la síntesis de quimiocinas que atraen células inflamatorias a los lugares de daño tisular (18) y la secreción de citocinas, como el IFN- γ , que activan macrófagos y otras células relacionadas con la respuesta inmune innata (14). De esta forma, los linfocitos T $\gamma\delta$ tienen un papel muy importante en el control de infecciones parasitarias por *Plasmodium* o *Eimeria vermiformis*, infecciones bacterianas por *Listeria monocytogenes* o *Klebsiella pneumoniae* e infecciones virales por virus vaccinia (19).

Ontogenia de los linfocitos T $\gamma\delta$ tímicos

La mayoría de los linfocitos T (T de "tímicos") han de seguir un proceso de diferenciación y selección

que tiene lugar en el timo. También existen algunos linfocitos T que no experimentan este proceso (denominados “extratímicos”), lo que sucede fundamentalmente con los LIE $\gamma\delta$.

Los linfocitos T $\gamma\delta$, como el resto de células sanguíneas, derivan de células madre hematopoyéticas pluripotenciales presentes en el hígado fetal o la médula ósea del adulto. Durante el desarrollo T, las células precursoras se enfrentan a tres “decisiones” distintas (fig. 1): a) Un precursor linfoide común CD117+ CD127+ (es decir, cKit+ y receptor de IL-7+, respectivamente), que ha perdido el potencial mieloide y eritroide, pero es capaz de originar linfocitos (T, B y NK), debe “decidir” si adoptar un destino de linfocito T (20). El gen *Notch-1* desempeña un papel esencial en esta decisión (21). b) Una vez que se ha especificado el linaje T, una célula pro-T del timo debe elegir entre los linajes $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$. Las células que reordenan satisfactoriamente los genes para el TcR- β expresan en la membrana un pre-TcR formado por la cadena β y la cadena invariante pre-T α , que precederá a la expresión del TcR- $\alpha\beta$ definitivo. Por el contrario, las células que reordenen satisfactoriamente de forma inicial la cadena δ , se diferenciarán a linfocitos T $\gamma\delta$. Sin embargo, desde hace algunos años se están llevando a cabo estudios cuyos resultados apoyan el denominado modelo “selectivo” de diferenciación (22) que propone que la elección de linaje $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ sería, al menos en parte, independiente o anterior a la existencia del TcR. Es decir, existirían dos subpoblaciones de células pro-T con distinto potencial de desarrollo: una subpoblación produciría al linaje $\alpha\beta$, y la otra al $\gamma\delta$. c) Finalmente, los timocitos comprometidos hacia el linaje $\alpha\beta$ deben diferenciarse hacia los linajes CD4+ o CD8+ de linfocitos T $\alpha\beta$ maduros, mientras que los timocitos comprometidos con el linaje $\gamma\delta$ darán lugar fundamentalmente a linfocitos T $\gamma\delta$ CD4- CD8-. Posteriormente, los linfocitos T $\gamma\delta$ maduros deberán abandonar el timo y dirigirse a los tejidos periféricos, fundamentalmente al intestino, como veremos en el siguiente apartado.

LINFOCITOS T $\gamma\delta$ INTRAEPITELIALES INTESTINALES (I-LIE $\gamma\delta$)

Colonización de los epitelios por los linfocitos T $\gamma\delta$

Los primeros linfocitos T intestinales que aparecen durante el desarrollo embrionario son linfocitos T $\gamma\delta$. En el ratón, donde el desarrollo del sistema inmune puede estudiarse en detalle, los linfocitos T $\gamma\delta$ aparecen en forma de “oleadas”: la primera ole-

ada de linfocitos T $\gamma\delta$ se dirige específicamente a la epidermis donde se denominan “células T epidermales dendríticas”, mientras que la segunda oleada coloniza las capas epiteliales del aparato reproductivo. Posteriormente, hay una producción continua de linfocitos T (en lugar de oleadas), haciéndose mayoritarios los linfocitos T $\alpha\beta$, constituyendo más del 95 % de los timocitos. Es durante este período cuando se produce la colonización por los linfocitos T $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ del epitelio intestinal. Los linfocitos T $\gamma\delta$ que se producen en este estadio son distintos a los que se produjeron en las oleadas tempranas, con mucha más diversidad en los TcRs, los cuales contienen varios segmentos génicos V distintos y abundantes N-nucleótidos. La mayoría de estos linfocitos T $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ se encuentran en los tejidos linfoides periféricos en lugar de en epitelios específicos a los que se dirigían los linfocitos T $\gamma\delta$ tempranos (23).

En humanos, el repertorio TcR- δ intestinal es policlonal en el neonato y durante los primeros años de vida, mientras que en la segunda década de vida el repertorio TcR- δ intestinal es oligoclonal y se asemeja al del adulto (24) siendo común la expresión de TcRs que contienen la región V δ 1 de la cadena δ (V de “región variable”, ver fig. 1) (25) a diferencia de los linfocitos T $\gamma\delta$ periféricos que expresan mayoritariamente TcRs con cadenas δ de tipo V δ 2 (26). Se ha propuesto que los linfocitos T $\gamma\delta$ que expresan un repertorio tan diverso al nacer podrían ser importantes en la defensa de la mucosa en la primera etapa de la vida cuando el sistema de IgA de secreción no está completamente desarrollado (27).

Moléculas implicadas en la migración de los linfocitos T $\gamma\delta$ hacia el intestino

La expresión diferencial de determinadas moléculas de adhesión regula la migración específica de los linfocitos a los diferentes tejidos (proceso conocido como “homing” o “anidamiento”). En el intestino, dos integrinas β 7 están implicadas en este proceso: la integrina α 4 β 7 que dirige la extravasación (28) de los linfocitos desde la circulación sanguínea a la mucosa intestinal y la integrina α E β 7 o CD103 que contribuye a la retención de los linfocitos intraepiteliales en dicha mucosa, ya que media la adhesión de los linfocitos a la E-cadherina de las células epiteliales (29). Más del 90 % de los I-LIE T (incluyendo linfocitos T $\alpha\beta$ y linfocitos T $\gamma\delta$) son positivos para α E β 7 (fig. 2).

Por otra parte, en estudios recientes se ha descrito una nueva quimiocina denominada TECK (“Thymus Expressed Chemokine”) y su receptor, el CCR9, que

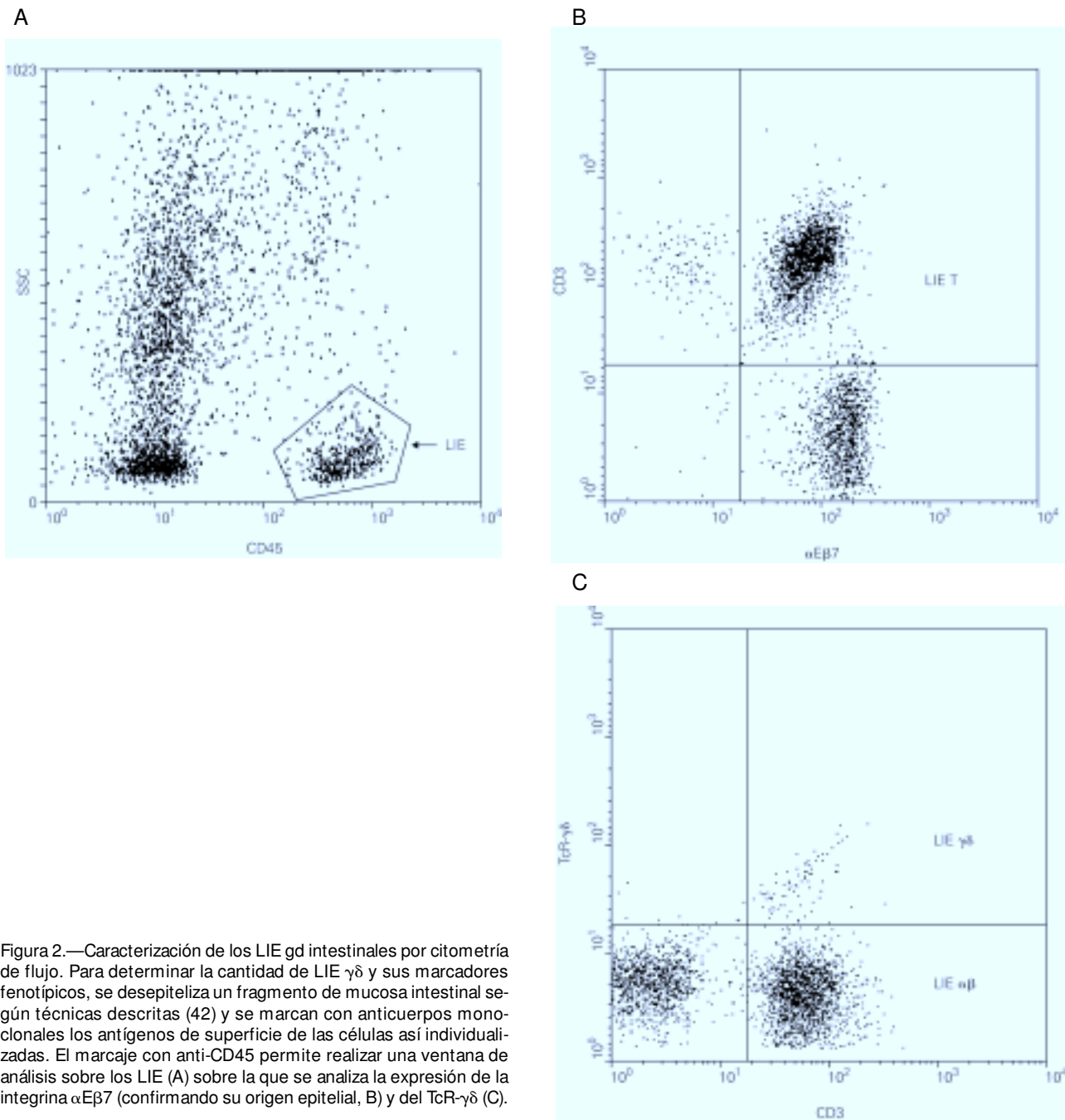


Figura 2.—Caracterización de los LIE gd intestinales por citometría de flujo. Para determinar la cantidad de LIE $\gamma\delta$ y sus marcadores fenotípicos, se desepiteliza un fragmento de mucosa intestinal según técnicas descritas (42) y se marcan con anticuerpos monoclonales los antígenos de superficie de las células así individualizadas. El marcaje con anti-CD45 permite realizar una ventana de análisis sobre los LIE (A) sobre la que se analiza la expresión de la integrina $\alpha E\beta 7$ (confirmando su origen epitelial, B) y del TcR- $\gamma\delta$ (C).

podría estar implicada en procesos de migración linfocitaria al epitelio intestinal. TECK se expresa en las células estromales tímicas (30) y de forma abundante en el epitelio intestinal, mientras que CCR9 se expresa en la mayoría de i-LIE y linfocitos de la lámina propia (31). TECK podría tener un papel adicional en la extravasación selectiva de linfocitos T intestinales y/o en la migración de linfocitos T CCR9+ una vez que han cruzado el endotelio vascular y entrado en la mucosa intestinal.

Una parte de los i-LIE $\gamma\delta$ son de origen extratímico

Hay varios estudios que demuestran que los linfocitos T $\gamma\delta$ intestinales de ratón pueden desarrollarse extratímicamente así como en el timo. Algunos de ellos son:

a) Se encuentran linfocitos T $\gamma\delta$ en el intestino de ratones "nude" (carentes de timo) (32). b) Los linfocitos T $\gamma\delta$ intestinales de ratón expresan, por una par-

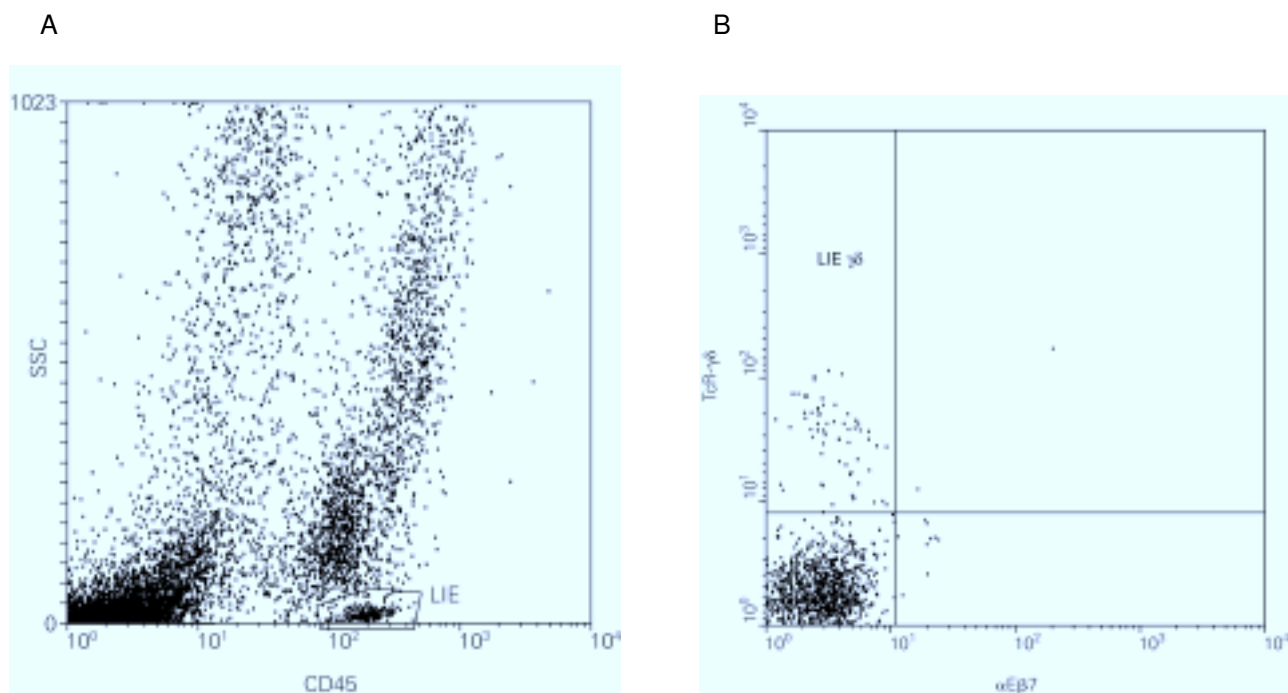


Figura 3.—Caracterización de los LIE $\gamma\delta$ de la mucosa respiratoria por citometría de flujo. El procesamiento es similar al descrito en la figura 2, excepto en la muestra inicial, que en este caso es un esputo inducido. Se puede apreciar que los LIE $\gamma\delta$ respiratorios son negativos para la integrina $\alpha E\beta 7$ (B).

te, RAG-1 (esencial para el reordenamiento del TcR y marcador de precursores T) (27) y por otra, una forma homodimérica $\alpha\alpha$ del marcador CD8 en lugar del heterodímero $\alpha\beta$ característico de linfocitos que se desarrollan en el timo (8, 33). c) Se han descrito en ratón unas estructuras intestinales denominadas “criptoplasmas” que contendrían precursores linfoides capaces de originar linfocitos T $\gamma\delta$ (34).

En humanos, si bien no está demostrada la existencia de i-LIE $\gamma\delta$ extratímicos, el hecho de que un 45 % de los i-LIE $\gamma\delta$ CD8+ sean CD8 $\alpha\alpha$ (León F. et al, manuscrito remitido para su publicación) es sugerente de que esta población CD8 $\alpha\alpha$ pueda tener, al menos en parte, un origen extratímico.

Aunque todavía no está claro, el epitelio intestinal podría, pues, desempeñar un papel en el desarrollo de linfocitos T $\gamma\delta$ de la mucosa, análogo al papel que el epitelio tímico tiene en el desarrollo intratímico de los linfocitos T.

Los i-LIE $\gamma\delta$ se encuentran aumentados en determinadas situaciones de hipersensibilidad inmunológica

Además del papel antiinfeccioso y, posiblemente, antitumoral de los LIE $\gamma\delta$ (35, 36), se especula que

están también implicados en la modulación de reacciones de tipo autoinmune y de hipersensibilidad. En la alergia alimentaria se ha descrito un ligero, pero significativo, aumento de los i-LIE $\gamma\delta$ (37), que cesa tras la retirada del alérgeno de la dieta. Una situación muy diferente es la observada en la enfermedad celíaca (EC). La EC es una enfermedad del intestino delgado, originada por la intolerancia permanente al gluten, componente de trigo, cebada y centeno, cereales habituales de la dieta occidental (38) y en la que tiene lugar una respuesta autoinmune frente a la enzima transglutaminasa tisular (39). La EC se presenta normalmente en la infancia e incluye síntomas como diarrea crónica, distensión abdominal y retraso en el crecimiento (40), aunque también puede presentarse en la edad adulta con síntomas como la anemia, pérdida de peso, diarrea y síntomas neurológicos (41). A diferencia de lo que ocurre en la alergia alimentaria, los pacientes con EC tienen un aumento sistemático (más del 99 % de los pacientes) (42), intenso (triplicando los valores normales) y permanente (no se normalizan en dieta sin gluten) de los i-LIE $\gamma\delta$. Por último, algunos pacientes esporádicos con enfermedad inflamatoria intestinal presentan también un aumento de los i-LIE $\gamma\delta$ (43).

En este contexto de auto-agresión inmunológica, se cree que los i-LIE $\gamma\delta$ actuarían como inmunorre-

guladores, respondiendo a factores liberados por los linfocitos T $\alpha\beta$ activados, o bien a moléculas de estrés liberadas por las células epiteliales con el fin de compensar el daño inflamatorio (7).

LINFOCITOS INTRAEPITELIALES $\gamma\delta$ DE LA MUCOSA RESPIRATORIA

Al igual que ocurre en el intestino, la mucosa respiratoria contiene una proporción abundante de linfocitos T $\gamma\delta$ (44). Sin embargo, aunque se conoce que los linfocitos T $\gamma\delta$ pulmonares se encuentran en los tejidos intersticiales, en lavados broncoalveolares y en esputos inducidos (fig. 3), no está bien caracterizada su ubicación dentro de la mucosa, existiendo la posibilidad de que en los distintos compartimentos pulmonares existan distintas subpoblaciones de linfocitos T $\gamma\delta$.

Los linfocitos $\gamma\delta$ participan en la defensa de la mucosa respiratoria

Hallazgos recientes demuestran que los linfocitos T $\gamma\delta$ desempeñan un papel fundamental en la defensa de la mucosa respiratoria frente a agentes patógenos del aparato respiratorio (45). Por ejemplo, en uno de los experimentos llevados a cabo en ratón (46), se inocularon ratones carentes de linfocitos T $\gamma\delta$ (debido a mutaciones en los genes del TcR- δ) con la bacteria grampositiva intracelular *Nocardia asteroides* por vía intranasal. Este patógeno invade el epitelio traqueobronquial y provoca una fuerte respuesta inflamatoria con abundante infiltración de neutrófilos. Se pudo constatar, que tanto el daño pulmonar como la mortalidad eran mucho mayores en los ratones carentes de linfocitos T $\gamma\delta$ que en los ratones control, por lo que estos linfocitos deben tener una función muy relevante en la protección de la mucosa respiratoria frente a determinados agentes patógenos de la misma.

Papel de los linfocitos T $\gamma\delta$ en la rinitis alérgica y el asma alérgica

La prevalencia de enfermedades alérgicas como la rinoconjuntivitis, el asma y la dermatitis atópica ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, alcanzando una proporción entre el 10 y el 20 % de la población general (47).

Los linfocitos T tienen un papel fundamental en las enfermedades alérgicas, pues llevan a cabo el reconocimiento del antígeno y la producción de citoci-

nas, que no sólo promueven la síntesis de IgE, sino también el reclutamiento de células efectoras, como los eosinófilos, a los lugares de inflamación alérgica. Los linfocitos T que llevan a cabo estas funciones efectoras se denominan Th2, mientras que los linfocitos Th1, que secretan IFN- γ o IL-2, están implicados en reacciones de hipersensibilidad retardada.

Los linfocitos T $\gamma\delta$ comprenden aproximadamente entre el 25 y el 30 % de los linfocitos T de la mucosa nasal alérgica, mientras que constituyen menos del 10 % en la mucosa nasal normal (48). La proporción, el fenotipo y los estadios de activación de los linfocitos T $\gamma\delta$ nasales son distintos a los que se dan en los linfocitos T $\gamma\delta$ periféricos; de hecho, la población aumentada de linfocitos T $\gamma\delta$ nasales en pacientes con rinitis alérgica crónica es fundamentalmente CD4+ y CD4- CD8- a diferencia de los linfocitos T $\gamma\delta$ periféricos en los que la expresión del marcador CD4 es mucho menos frecuente (48).

Se ha constatado que los linfocitos T $\gamma\delta$ de la mucosa nasal de pacientes con rinitis alérgica son órgano-específicos y se expanden oligoclonalmente bajo condiciones de estimulación antigénica *in vitro* (49) y, aunque parece claro que los linfocitos T $\gamma\delta$ desempeñan un papel importante en el desarrollo de la rinitis alérgica crónica (50), los mecanismos efectores no están todavía bien definidos. Varios estudios muestran que los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden producir niveles altos de IFN- γ , lo que resultaría en la inhibición de la síntesis de IgE (51). Pero, por otra parte, también se ha demostrado que los linfocitos T $\gamma\delta$ son esenciales en la inducción de la síntesis de IgE dependiente de IL-4 (50) y que los linfocitos T $\gamma\delta$ de la mucosa nasal de pacientes con rinitis alérgica crónica producen fundamentalmente IL-4, -5 y -13 (48), lo que sugiere un papel favorecedor de mecanismos alérgicos. También se ha demostrado un aumento en la proporción de linfocitos T $\gamma\delta$ CD4+ productores de citocinas de tipo Th2 en lavados broncoalveolares de pacientes con asma alérgica (52, 53) por lo que los linfocitos T $\gamma\delta$ estarían implicados directamente en la respuesta inmune alérgica del asma y serían productores de citocinas Th2 que contribuirían a la síntesis de mediadores químicos relacionados con el proceso de daño epitelial. Además, los linfocitos T $\gamma\delta$ nasales producen quimiocinas como RANTES y factores de crecimiento como el SCF ("stem cell factor") (49), lo que sugiere que tienen un papel importante en la quimiotaxis de eosinófilos y mastocitos hacia el tejido epitelial (RANTES) así como en el crecimiento y supervivencia de los mastocitos (SCF).

En definitiva, los linfocitos T $\gamma\delta$ podrían exhibir una heterogeneidad funcional y fenotípica similar a la de los linfocitos T $\alpha\beta$ convencionales, es decir, existiría una población de linfocitos T $\gamma\delta$ que produciría citoci-

nas de tipo Th1 como el IFN- γ y otra que produciría citocinas de tipo Th2 como la IL-4 y que sería la que predominaría en la mucosa respiratoria en situaciones de hipersensibilidad.

CONCLUSIONES

Los linfocitos T $\gamma\delta$ muestran características únicas, entre las que destacan: a) poseer un TcR cuyas regiones variables recuerdan más a las regiones variables de las Igs que a las del TcR- $\alpha\beta$, y que posibilita, por un lado, el reconocimiento directo de antígenos proteicos sin procesamiento previo, y por otro, el reconocimiento de antígenos no peptídicos que podrían ser presentados en moléculas relacionadas con el MHC; b) localizarse mayoritariamente en epitelios, principalmente en el intestino delgado y la mucosa respiratoria, donde se conocen como LIE $\gamma\delta$, haciendo muy probable que los linfocitos T $\gamma\delta$ formen parte de la primera línea de defensa del organismo y que respondan a situaciones de estrés celular; c) la implicación de los linfocitos T $\gamma\delta$ en la defensa anti-microbiana y/o anti-tumoral, y d) el posible papel que los linfocitos T $\gamma\delta$ tienen tanto como células efectoras como inmunorreguladoras en la perpetuación de la inflamación alérgica.

En definitiva, los linfocitos T $\gamma\delta$ constituyen una población de linfocitos T que debido a sus peculiares características, podría ser considerada como nexo de unión entre la inmunidad innata y la adquirida, y cuya posible implicación en la patogenia de la hipersensibilidad inmunológica los convierte en futuras dianas de inmunorregulación farmacológica.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra G. Roy del Hospital Ramón y Cajal el compartir con nosotros su experiencia en inmunología de mucosas.

SUMMARY

Specific antigenic recognition by the immune system relies on receptors that T and B lymphocytes display on their plasmatic membranes. Most T cells express an antigen receptor integrated by an α chain and a β chain, the TcR- $\alpha\beta$. There is also a second population of T cells, minority in blood, spleen and lymph nodes, which expresses a different type of TcR, the TcR- $\gamma\delta$. These cells, termed $\gamma\delta$ T cells, are probably implicated in the innate immunity, and are

preferentially located in epithelia, where they are known as " $\gamma\delta$ intraepithelial lymphocytes" ($\gamma\delta$ IEL). The intestinal $\gamma\delta$ IEL population ($\gamma\delta$ i-IEL) is particularly abundant and it might have, at least in part, an extrathymic origin. An increase in the $\gamma\delta$ i-IEL population has been described in intestinal hypersensitivity processes like Alimentary Allergy and, characteristically, Celiac Disease, but its significance is not well known. The second best known $\gamma\delta$ IEL subset is the one located in the respiratory mucosa. Recent data suggest that these $\gamma\delta$ IEL might play a role in protecting the normal airway function while being also implicated in allergic airway diseases, like Allergic Rhinitis and Asthma, due to their pro-inflammatory functions. This review focuses on the general characteristics of this yet poorly known and intriguing T cell population, whose relevance is increasingly acknowledged.

Key words: Intraepithelial gamma-delta lymphocytes. Innate immunity. Mucosa. Celiac Disease. Allergy. Rhinitis. Asthma.

Correspondence:

Dra. Noelia Villarrubia Migallón
Department of Immunology. Hospital Ramón y Cajal
Carretera de Colmenar Viejo Km 9.100
Madrid 28034, Spain
Tel: + 34 913 368 331
Fax: + 34 913 368 329
E-mail: nvillarrubia@hrc.insalud.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Saito H, Kranz DM, Takagaki Y, Hayday A, Eisen H, Tonegawa S. Complete primary structure of a heterodimeric T-cell receptor deduced from cDNA sequences. *Nature* 1984; 309: 757-762.
2. Chien Y-H, Jores R, Crowley MP. Recognition by $\gamma\delta$ T cells. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 511-532.
3. Allison TJ, Winter CC, Fournié JJ, Bonneville M, Garboczi DN. Structure of a human $\gamma\delta$ T cell antigen receptor. *Nature* 2001; 411: 820-824.
4. Rock EP, Sibbald PR, Davis MM, Chien YH. CDR3 length in antigen-specific immune receptors. *J Exp Med* 1994; 179: 323-328.
5. Hein WR, Mackay CR. Prominence of $\gamma\delta$ T cells in the ruminant immune system. *Immunol Today* 1991; 12: 30-34.
6. Janeway CA Jr, Jones B, Hayday AC. Specificity and function of cells bearing $\gamma\delta$ T cell receptors. *Immunol Today* 1988; 9: 73-76.
7. Hayday AC. $\gamma\delta$ cells: a right time and a right place for a conserved third way of protection. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 975-1026.

8. Lefrançois L. Phenotypic complexity of intraepithelial lymphocytes of the small intestine. *J Immunol* 1991; 147: 1746-1751.
9. Sperling AI, Linsley PS, Barrett TA, Bluestone JA. CD28-mediated costimulation is necessary for the activation of T cell receptor $\gamma\delta$ + T-lymphocytes. *J Immunol* 1993; 151: 6043-6050.
10. Horner AA, Jabara H, Ramesh N, Geha RS. $\gamma\delta$ T lymphocytes express CD40 ligand and induce isotype switching in B lymphocytes. *J Exp Med* 1995; 181: 1239-1245.
11. Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier L et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MIC-A. *Science* 1999; 285: 727-729.
12. Troye-Blomberg M, Worku S, Tangteerawatana P, Jamshaid R, Soderstrom K, Elghazali G et al. Human gamma delta T cells that inhibit the in vitro growth of the asexual blood stages of the *Plasmodium falciparum* parasite express cytolytic and proinflammatory molecules. *Scand J Immunol* 1999; 50: 642-50.
13. Mincheva-Nilsson L, Nagaeva O, Sundqvist KG, Hammarstrom ML, Hammarstrom S, Baranov V. Gammadelta T cells of human early pregnancy decidua: evidence for cytotoxic potency. *Int Immunol* 2000; 12: 585-96.
14. Ferrick DA, Schrenzel MD, Mulvania T, Hsieh B, Ferlin WG, Lepper H. Differential production of interferon- γ and interleukin-4 in response to Th1 and Th2 stimulating pathogens by $\gamma\delta$ T cells *in vivo*. *Nature* 1995; 373: 255-257.
15. Crowley MP, Fahrer AM, Baumgarth N, Hampl J, Gutgemann I, Teyton L et al. A population of murine gammadelta T cells that recognize an inducible MHC class Ib molecule. *Science* 2000; 287:314-6.
16. Flament C, Benmerah A, Bonneville M, Triebel F, Mami-Chouaib F. Human TCR-gamma/delta alloreactive response to HLA-DR molecules. Comparison with response of TCR-alpha/beta. *J Immunol* 1994; 153: 2890-2904.
17. Mak T, Ferrick DA. The $\gamma\delta$ T cell bridge: linking innate and acquired immunity. *Nat Med* 1998; 4: 764-765.
18. Boismenu R, Feng L, Xia YY, Chang JC, Havran WL. Chemokine expression by intraepithelial $\gamma\delta$ T cells. Implications for the recruitment of inflammatory cells to damaged epithelia. *J Immunol* 1996; 157: 985-992.
19. Selin LK, Santolucito PA, Pinto AK, Szomolanyi-Tsuda E, Welsh RM. Innate immunity to viruses: control of vaccinia virus infection by $\gamma\delta$ T cells. *J Immunol* 2001; 166: 6784-6794.
20. Kondo M, Weissman IL, Akashi K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell* 1997; 91: 661-672.
21. Radtke F, Wilson A, Stark G, Bauer M, van Meerwijk J, MacDonald HR. Deficient T cell specification in mice with an induced inactivation of Notch-1. *Immunity* 1999; 10: 547-558.
22. Kang J, Volkmann A, Raulet DH. Evidence that $\gamma\delta$ versus $\alpha\beta$ T cell fate determination is initiated independently of T cell receptor signaling. *J Exp Med* 2001; 193: 689-698.
23. Janeway CA Jr, Travers P. Cells expressing particular $\gamma\delta$ genes arise first in embryonic development. En: *Immunobiology. The immune system in health and disease*. Current biology Ltd eds. New York; 3ª edición 1997. p. 6:10-6:11.
24. Holtmeier W, Witthoft T, Hennemann A, Winter HS, Kagnoff MF. The TcR- δ repertoire in human intestine undergoes characteristic changes during fetal to adult development. *J Immunol* 1997; 158: 5632-5641.
25. Holtmeier W, Chowder Y, Lumeng A, Morzycka-Wroblewska E, Kagnoff MF. The $\gamma\delta$ T cell repertoire in human colon and peripheral blood is oligoclonal irrespective of V region usage. *J Clin Invest* 1995; 96: 5632-5641.
26. De Rosa SC, Mitra DK, Watanabe N, Herzenberg LA, Roederer M. Vdelta1 and Vdelta2 gammadelta T cells express distinct surface markers and might be developmentally distinct lineages. *J Leukoc Biol* 2001; 70(4): 518-526.
27. Kagnoff MF. Current concepts in mucosal immunity III. Ontogeny and function of $\gamma\delta$ T cells in the intestine. *Am J Physiol* 1998; 274: G455-G458.
28. Hamann A, Andrew DP, Jablonski-Westrich D, Holzmann B, Butcher EC. Role of $\alpha 4$ integrins in lymphocyte homing to mucosal tissue *in vivo*. *J Immunol* 1994; 152: 3282-3293.
29. Cepek KL, Shaw SK, Parker CM, Russell GJ, Morrow JS, Rimm DL et al. Adhesion between epithelial cells and T lymphocytes mediated by E-cadherin and the $\alpha E\beta 7$ integrin. *Nature* 1994; 372: 190-193.
30. Vicari AP, Figueroa DJ, Hedrick JA, Foster JS, Singh KP, Menon S et al. TECK: a novel CC chemokine specifically expressed by thymic dendritic cells and potentially involved in T cell development. *Immunity* 1997; 7: 291-301.
31. Wurbel MA, Philippe JM, Nguyen C, Victorero G, Freeman T, Wooding P et al. The Chemokine TECK is expressed by thymic and intestinal epithelial cells and attracts double- and single-positive thymocytes expressing the TECK receptor CCR9. *Eur J Immunol* 2000; 30: 262-271.
32. Bandeira A, Itohara S, Bonneville M, Burlen-Defranoux O, Mota-Santos T, Coutinho A et al. Extrathymic origin of intestinal intraepithelial lymphocytes bearing T-cell antigen receptor $\gamma\delta$. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 43-47.
33. Guy-Grand D, Cerf-Bensussan N, Malissen B, Malassis-Seris M, Briottet C, Vassalli P. Two gut intraepithelial CD8 + lymphocyte populations with different T cell receptors: a role for the gut epithelium in T cell differentiation. *J Exp Med* 1991; 173: 471-481.
34. Saito H, Kanamori Y, Takemori T, Nariuchi H, Kubota E, Takahashi-Iwanaga H et al. Generation of intestinal T cells from progenitors residing in gut cryptopatches. *Science* 1998; 280: 275-278.
35. Taunk J, Roberts AI, Ebert EC. Spontaneous cytotoxicity of human intraepithelial lymphocytes against epithelial cell tumors. *Gastroenterology* 1992; 102: 69-75.
36. Schilbach KE, Geiselhart A, Wessels JT, Niethammer D, Handgretinger R. Human $\gamma\delta$ T lymphocytes exert natural and IL-2 induced cytotoxicity to neuroblastoma cells. *J Immunother* 2000; 23: 536-548.
37. Kokkonen J, Holm K, Karttunen TJ, Maki M. Children with untreated food allergy express a relative increment in the density of duodenal $\gamma\delta$ + T cells. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 1137-1142.
38. Trier JS. Celiac sprue. *N Engl J Med*. 1991; 325: 1709-1719.
39. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of Celiac Disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.
40. Sollid LM. Molecular basis of Celiac Disease. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 53-81.
41. Mäki M, Collin P. Celiac Disease. *Lancet* 1997; 349: 1755-1759.
42. Eiras P, Roldán E, Camarero C, Olivares F, Bootello A, Roy G. Flow cytometry description of a novel CD3-/CD7 + intraepithelial lymphocyte subset in human duodenal biopsies: potential diagnostic value in Coeliac Disease. *Cytometry* 1998; 34: 95-102.
43. McVay LD, Li B, Biancaniello R, Creighton MA, Bachwich D, Lichtenstein G et al. Changes in human mucosal $\gamma\delta$ T cell repertoire and function associated with the disease process in inflammatory bowel disease. *Mol Med* 1997; 3:183-203.
44. Augustin A, Kubo RT, Sim G-K. Resident pulmonary lymphocytes expressing the $\gamma\delta$ T-cell receptor. *Nature* 1989; 340: 329-241.
45. Born WK, Lahn M, Takeda K, Kanehiro A, O'Brien RL, Gelfand EW. Role of $\gamma\delta$ T cells in protecting normal airway function. *Resp Res* 2000; 1: 151-158.
46. King DP, Hyde DM, Jackson KA, Novosad DM, Ellis TN, Putney L et al. Cutting edge: protective response to pulmonary

- injury requires $\gamma\delta$ T lymphocytes. *J Immunol* 1999; 162: 5033-5036.
47. Wuthrich B. Epidemiology of the allergic disease; are they really on the increase?. *Int Arch Appl Immunol* 1989; 90: 3-10.
 48. Pawankar R, Okuda M, Suzuki K, Okumura K, Ra C. Phenotypic and molecular characteristics of nasal mucosal $\gamma\delta$ T cells in allergic and infectious rhinitis. *Am J Respir Care Med* 1996; 153: 1655-1665.
 49. Pawankar R. 2000. $\gamma\delta$ T cells in allergic airway diseases. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 318-323.
 50. Zuany-Amorim C, Ruffie C, Haile S, Vargaftig BB, Pereira P, Pretolani M. Requirement for $\gamma\delta$ T cells in allergic airway inflammation. *Science* 1994; 280:1265-1267.
 51. McMenamin C, Pimm C, McKersey M, Holt PG. Regulation of IgE responses to inhaled antigen in mice by antigen-specific $\gamma\delta$ T cells. *Science* 1994; 265: 1869-1871.
 52. Spinozzi F, Bertotto A. Cellular mechanisms in the pathogenesis of bronchial asthma. *Immunol Today* 1995; 16: 407-408.
 53. Spinozzi F, Agea E, Bistoni O, Forenza N, Monaco A, Falini B et al. Local expansion of allergen-specific CD30 + Th2-type $\gamma\delta$ T cells in bronchial asthma. *Mol Med* 1995; 1: 821-826.