

## Revisión

# Inmunodeficiencias congénitas del receptor de antígeno de los linfocitos T

Marina S. Mazariegos<sup>a,b,c,◇</sup>, Miguel Muñoz-Ruiz<sup>a,b,c,◇</sup>, Jesús Reiné<sup>a,b,c</sup>,  
Beatriz Garcillán<sup>a,b,c</sup>, María José Recio<sup>a,b,c</sup>, Edgar Fernández-Malavé<sup>a,b,c</sup>  
y José R. Regueiro<sup>a,b,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, España

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre, Madrid, España

<sup>c</sup> Red de Investigación en Enfermedades Reumáticas, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 23 de agosto de 2012

Aceptado el 24 de abril de 2013

On-line el 4 de julio de 2013

#### Palabras clave:

Receptor de antígeno de los  
linfocitos T  
Linfocitos T  
CD3  
Inmunodeficiencias

### R E S U M E N

Las inmunodeficiencias humanas del TCR son enfermedades autosómicas recesivas con baja prevalencia, caracterizadas por un defecto de expresión del TCR asociado a una linfopenia T selectiva (más leve en el caso de CD3 $\gamma$ , TCR $\alpha$  o CD247, o grave en el caso de CD3 $\delta$  o CD3 $\epsilon$ ). La ausencia congénita de componentes del TCR tiene un impacto diferencial en el desarrollo y función de los linfocitos T, que depende de la cadena del TCR afectada y de la especie, siendo en algunos casos diferente en los pacientes humanos en comparación con los modelos en ratones.

El estudio del inmunofenotipo mediante citometría de flujo, junto con los estudios moleculares, proporciona información esencial para el diagnóstico y el tratamiento, que continúa siendo a día de hoy el trasplante de progenitores hematopoyéticos en los casos asociados a inmunodeficiencia grave.

© 2012 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Congenital T-cell receptor immunodeficiencies

#### A B S T R A C T

T-cell receptor (TCR) immunodeficiencies of humans are low-prevalence autosomal recessive diseases characterized by impaired surface TCR expression and selective T lymphopenia (milder in CD3 $\gamma$ , TCR $\alpha$  or CD247 deficiency, and severe in individuals lacking CD3 $\delta$  or CD3 $\epsilon$ ). The congenital absence of TCR components has a differential impact on T-cell development and function depending on the affected TCR chain and on the species, with human patients being, in some cases, rather different from mouse counterparts.

The study of the immunophenotype by flow cytometry, along with molecular analyses, provides essential information for diagnosis and treatment, which is still to date the transplant of hematopoietic progenitors in severe immunodeficiency associated cases.

© 2012 Sociedad Española de Inmunología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

#### Keywords:

T-cell receptor  
T lymphocytes  
CD3  
Immunodeficiencies

\* Author para correspondencia.

Correo electrónico: [regueiro@med.ucm.es](mailto:regueiro@med.ucm.es) (J.R. Regueiro).

◇ Ambos autores han contribuido y han participado por igual y en la misma proporción en la elaboración del presente manuscrito.

0213-9626/\$ – see front matter © 2012 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.inmuno.2013.04.002>

## Introducción

El receptor de antígeno de los linfocitos T (TCR) es un complejo tetradimérico constituido por un heterodímero clonotípico (TCR $\alpha\beta$  o  $\gamma\delta$ ) que confiere la especificidad de reconocimiento antigénico, y tres dímeros invariantes: los heterodímeros CD3 $\delta\epsilon$  y CD3 $\gamma\epsilon$  y el homodímero TCR $\zeta$  o CD247 (fig. 1). Las cadenas invariantes participan en el ensamblaje y expresión en superficie del TCR, y en la transmisión de señales intracelulares para la activación, proliferación y la función efectora o la anergia/apoptosis tras el reconocimiento de antígeno<sup>1</sup>. Las cadenas invariantes carecen de actividad enzimática intrínseca para la transducción de señales, pero contienen motivos ITAM que, tras su fosforilación, reclutan y unen proteínas cinasas y moléculas adaptadoras como ZAP-70, Lck, LAT, SLP-76, SIT o Nck, las cuales se activan y propagan la señal procedente del TCR<sup>2</sup>.

Los linfocitos T $\alpha\beta$  reconocen péptidos procesados restringidos por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) o lípidos asociados a CD1 (MHC no-clásico)<sup>3</sup>, mientras que los linfocitos T $\gamma\delta$  reconocen antígenos restringidos por MHC clásicos, otros por no clásicos y otros se unen directamente al antígeno<sup>4</sup>. Incluso se piensa que estos linfocitos pueden ser activados para la producción de citocinas, sin necesidad de contacto antígeno-TCR<sup>5</sup>. Debido al papel fundamental del TCR en la biología del linfocito T, y por extensión en el sistema inmunitario, la descripción en 1986 de la primera deficiencia humana de CD3 (dos casos de la misma familia, uno de ellos sano, [tabla 1] fue una sorpresa<sup>6</sup>. Cuatro años más tarde se descubrió un tercer caso de deficiencia de CD3 descrita en otro niño<sup>7</sup>. Poco después se publicó que los primeros casos eran el resultado de una deficiencia selectiva de la cadena CD3 $\gamma$ <sup>8</sup>, convirtiéndose en la primera inmunodeficiencia congénita del linfocito T de base genética conocida, mientras que el tercer caso era consecuencia de una deficiencia parcial de CD3 $\epsilon$ <sup>9</sup>. Posteriormente, se han descrito nuevas inmunodeficiencias para todas las cadenas invariantes del TCR, e incluso para la cadena variable TCR $\alpha$  (tabla 1), que se pueden clasificar como deficiencias completas (absolutas) o parciales (también

conocidas como *leaky*) en función de los niveles de expresión de la proteína afectada (ausente o reducida, respectivamente).

Las inmunodeficiencias del TCR son enfermedades autosómicas recesivas de muy baja prevalencia, que se caracterizan por un defecto de expresión del TCR, frecuentemente asociadas a una linfopenia selectiva de los linfocitos T y a inmunodeficiencia combinada grave (SCID). Son causadas por un amplio rango de mutaciones, cuyos efectos pueden ser completos o parciales, en los genes que codifican las cadenas que componen el TCR. Existen bases de datos de estas mutaciones, con excepción hasta la fecha de aquellas que afectan a las cadenas TCR $\beta$ , TCR $\gamma$  y TCR $\delta$  ([http://bioinf.uta.fi/base\\_root/index.php](http://bioinf.uta.fi/base_root/index.php)), así como Webs de apoyo diagnóstico (<http://bioinf.uta.fi/IDdiagnostics>) para la mayoría de estos defectos.

## Manifestaciones clínicas

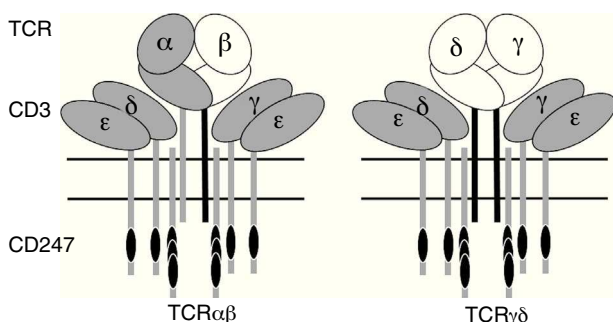
En los últimos años se ha producido un aumento en las inmunodeficiencias del TCR caracterizadas: hasta 30 pacientes descritos en 18 familias en todo el mundo, la mayoría relativas a CD3 $\delta$  (tabla 1). Las manifestaciones clínicas de estas inmunodeficiencias incluyen una aparición temprana (primer año de vida) y SCID: infecciones respiratorias recurrentes, diarrea crónica y retraso en el desarrollo. En casos descritos para la inmunodeficiencia de CD3 $\gamma$  o CD3 $\epsilon$  parcial algunos individuos presentan signos leves de inmunodeficiencia, aunque no requieren trasplante de médula ósea, ya que los pacientes han alcanzado la tercera década de vida sin necesidad de este. Además, en las inmunodeficiencias de CD3 $\delta$ , TCR $\zeta$  y TCR $\alpha$  se han observado características del síndrome de Omenn (hipereosinofilia, hiper-IgE y dermatitis atópica). Se observan infecciones piogénicas, aunque no de carácter crónico. No se observan rasgos dismórficos o anomalías óseas. Por otra parte, la detección de enteropatías en las inmunodeficiencias de CD3 $\delta$  y CD3 $\gamma$  sugiere una desregulación inmunitaria<sup>10</sup>.

Las biopsias de tejido linfoide revelan generalmente una reducción de linfocitos, y en las inmunodeficiencias de CD3 $\delta$  y CD3 $\gamma$ , en particular, es posible la detección del timo. No obstante, a menos que se lleve a cabo un trasplante de médula ósea, la mayoría de los pacientes fallece a temprana edad por infecciones.

## Bases moleculares

La deficiencia específica de alguna de las cadenas que constituyen el TCR tiene un impacto diferencial en la expresión y función de sus distintas isoformas (pre-TCR, TCR $\alpha\beta$  y TCR $\gamma\delta$ ) durante el desarrollo (fig. 2). Estas diferencias son debidas al papel específico de cada una de las cadenas en el ensamblaje o la señalización intracelular iniciada por el receptor.

El modelo de ensamblaje actualmente aceptado está basado en una jerarquía de asociación de los dímeros clonotípicos (TCR $\alpha\beta$  y TCR $\gamma\delta$ ) con los dímeros invariantes (CD3 $\delta\epsilon$ , CD3 $\gamma\epsilon$ , y TCR $\zeta\zeta$ )<sup>11</sup>: el dímero CD3 $\delta\epsilon$  se une a la cadena TCR $\alpha$ , y solo entonces se produce la asociación del dímero CD3 $\epsilon\gamma$  a la cadena TCR $\beta$ , dando lugar al hexámero TCR $\alpha\beta$ /CD3 $\delta\epsilon\gamma$ . Por último, la incorporación del homodímero TCR $\zeta\zeta$  resulta en un complejo completo de estequiometría TCR $\alpha\beta$ /CD3 $\delta\epsilon\gamma$ /TCR $\zeta_2$ .



**Figura 1 – Isoformas del TCR y sus deficiencias.** Los heterodímeros variables TCR unen antígenos, mientras que los heterodímeros invariantes CD3 ( $\gamma\epsilon$  y  $\delta\epsilon$ ) y los homodímeros invariantes CD247 sufren una serie de cambios conformacionales y reclutan enzimas intracelulares (como Fyn, Lck y Zap-70) para iniciar la transducción de la señal. En gris las cadenas para las que se han descrito deficiencias congénitas.

**Tabla 1 – Deficiencias del TCR**

Deficiencias del TCR				Referencias <sup>a</sup>	Número		
Proteína	Gen	Cr.	OMIM		Parcial	Familias Pacientes	
CD3 $\gamma$	CD3G	11	186740	Arnaiz-Villena et al. <sup>8</sup> , van Tol et al. <sup>16</sup> , Allende et al. <sup>28</sup> , Sanal et al. <sup>29</sup> , Recio et al. <sup>43</sup>		3	5
CD3 $\delta$	CD3D	11	186790	Marcus et al. <sup>26</sup> , Dadi et al. <sup>34</sup> , de Saint Basile et al. <sup>44</sup> , Takada et al. <sup>45</sup>	25	9	18
CD3 $\epsilon$	CD3E	11	186830	De Saint Basile et al. <sup>44</sup>	9	2	4
CD247 <sup>a</sup>	CD247	1	186780	Robert et al. <sup>46</sup>	14	2	2
TCR $\alpha$	TRAC <sup>b</sup>	14	186880	Morgan et al. <sup>47</sup>		2	2
					Total	18	31

<sup>a</sup> TCR $\zeta$ , CD3 $\zeta$ .  
<sup>b</sup> TCR $\alpha$  segmento génico constante.

Así, dado el requerimiento diferencial de los componentes del TCR para su ensamblaje (lo que condiciona su expresión y función), el fenotipo de la inmunodeficiencia puede variar entre un bloqueo temprano y absoluto en el desarrollo, como el observado en las deficiencias de CD3 $\delta$  o CD3 $\epsilon$ , o un bloqueo parcial, como en el caso de las cadenas CD3 $\gamma$  o TCR $\zeta$  (fig. 2).

**Diagnóstico diferencial**

El estudio del inmunofenotipo mediante citometría de flujo, junto con los estudios moleculares, proporciona información esencial para el diagnóstico y la clasificación de las inmunodeficiencias del TCR.

**Inmunofenotipo**

Uno de los hallazgos más consistentes en las inmunodeficiencias del TCR es la linfopenia T selectiva y persistente, la cual permite clasificar a los pacientes deficientes en dos grupos. El primer grupo se caracteriza por una linfopenia T grave (<2% de linfocitos T periféricos, inmunofenotipo T<sup>-</sup>B<sup>+</sup>NK<sup>+</sup>), que es lo observado en las deficiencias absolutas de CD3 $\epsilon$  o CD3 $\delta$ . La

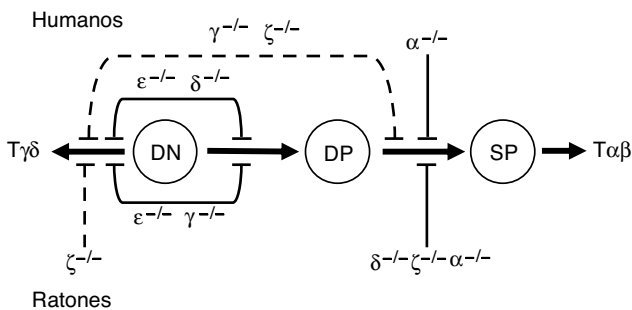
linfopenia total (<3.000 linfocitos/ $\mu$ l en niños) es frecuente en este grupo, salvo en algunos casos en los que se compensa por la expansión de los linfocitos B y NK. En el segundo grupo la linfopenia T es leve (>20%, inmunofenotipo T<sup>+/-</sup>B<sup>+</sup>NK<sup>+</sup>), como se observa en las deficiencias completas de CD3 $\gamma$ , TCR $\zeta$  y TCR $\alpha$ , así como también en la mayoría de las deficiencias parciales (tabla 2).

El defecto de expresión del TCR, cuando existen linfocitos T en periferia, es otro de los hallazgos característicos en este tipo de inmunodeficiencias. La pérdida de expresión se detecta y cuantifica con anticuerpos monoclonales anti-CD3 mediante citometría de flujo. La expresión es de 2 a 10 veces menor en los individuos inmunodeficientes que en los controles normales. La pérdida de expresión igual o superior a 10 veces, considerada como muy grave, se observa en las inmunodeficiencias completas de TCR $\zeta$ , TCR $\alpha$  y CD3 $\epsilon$  parcial. Sin embargo, en las inmunodeficiencias de CD3 $\gamma$  y CD3 $\delta$  parcial la expresión es solo 5 veces menor que en los controles.

Por último, la capacidad de exportación de linfocitos T maduros desde el timo puede ser evaluada a partir del repertorio TCRV $\beta$  mediante citometría de flujo o PCR cuantitativa<sup>12</sup>, la cuantificación y monitorización del número de círculos de escisión del receptor de linfocitos T (T-cell receptor excision circles [TREC])<sup>13</sup>, o la identificación de emigrantes tímicos con el inmunofenotipo CD45RA<sup>+</sup>CD31<sup>+</sup>. Los pacientes inmunodeficientes se caracterizan por un repertorio TCRV $\beta$  restringido y un reducido número de TREC, lo que sugiere un aporte deficitario desde el timo.

**Diagnóstico molecular**

El análisis molecular se realiza por secuenciación de los genes codificantes de las cadenas del complejo CD3, CD247 y TRAC. Los genes pueden contener mutaciones que, dependiendo de su localización, generan efectos cuantitativos y cualitativos diferentes, que pueden manifestarse como una carencia total o parcial de actividad del TCR (dependiendo del grado de expresión de la proteína afectada). Las delecciones se deben a mutaciones en sitios de ajuste (*splicing*), y fueron identificadas en el ADN genómico mediante secuenciación entre los exones de interés. Como consecuencia se trunca la proteína o se pierde el exón. Curiosamente, en ciertas inmunodeficiencias, como la deficiencia parcial de TCR $\zeta$ , se ha observado una reversión en el defecto de expresión del TCR debido a mutaciones adicionales en los precursores de las células T<sup>14</sup>. Por último, la identificación de las mutaciones facilita



**Figura 2 – Desarrollo de linfocitos T en el timo en las deficiencias completas del TCR. Bloqueo parcial (- - -) o total (—) de la diferenciación temprana de las células T causada por defectos completos de las cadenas del TCR en humanos o ratones. El desarrollo de las células T se simplifica en 2 pasos: 1) DN (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>) a DP (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) mediado por el pre-TCR, o transición a célula T  $\gamma\delta$ , respectivamente; y 2) selección positiva/negativa mediada por el TCR $\alpha\beta$  y generación de células T  $\alpha\beta$  SP (CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>). CD247 y TCR $\alpha$  se han representado como  $\zeta$  y  $\alpha$ , respectivamente.**

**Tabla 2 – Deficiencias del TCR. Datos clínicos e inmunológicos**

Deficiencia	CD3δ																									
	1			2			3			4			5			6			7			8			9	
Familia																										
País de origen	Canadá, EE. UU., Alemania									Francia			Japón			Ecuador										
Paciente/sexo	1 F	2 M	3 M	4 F	5 M	6 F	7 M	8 F	9 M	10 F	11 F	12 F	13 M	14 F	15 M	16 M	17 M	18 M								
Consanguinidad																Sí		No	No							
Mutación ( <i>leaky</i> ) <sup>a</sup>																Trunc		Del3	Del2							
Edad al diagnóstico (m) <sup>b</sup>	0	2	2	9	0	0	0	10	13	0	3	0	2	3	0	0	14	4								
% células CD3 <sup>+</sup> <sup>c</sup>	0,3	0,1	0,6	2	0	0	1	0	27	1	<1	0	0	1,7	0,2	0	14	30								
TMO a (m) <sup>b</sup>	UM4	No	No	UM16	UM4	MIM1	MAP6	MAP12	MAM14	MAM2	No	MA	MA	MAP4	USC1	USC1	MIP23	MAP8								
Edad actual <sup>b</sup>	10 a	†2 m	†3 m	18 a	3 a	1 a	†20	†12	†2 a	17 a	†5 m	†6 m	†6 m	†3 m	5 a	1 a	4 a	†5 m								
Causa de la muerte	VS	ADV	CMV	VS	VS	VS	GvHD	HHV6	CMV	VS	CMV	Asp	EBV	CMV	VS	VS	VS	CMV								
Deficiencia	CD3γ					CD3ε					TCRζ				TCRα											
Familia	1		2		3		1		2		1		2		1		2									
País de origen	Turquía			España			Francia				Caribe Hawai				Pakistán											
Paciente/sexo	1 M	2 M	3 M	4 M	5 M	1 M	2 F	3 M	4 F	1 M	2 F	1 F	2 M													
Consanguinidad	Sí		No		No		Sí		ND		No		Sí													
Mutación ( <i>leaky</i> ) <sup>a</sup>	Trunc		Trunc, Het		Del7, Trunc, Het		Trunc		Trunc		Ins		Del3													
Edad al diagnóstico (m) <sup>b</sup>	3	7	48	12	48	48	5	1	0	4	10	15	6													
% células CD3 <sup>+</sup> <sup>c,d</sup>	37	27	30	10	18	63	ND	ND	<1	21	64	21	50													
TMO a (m) <sup>b</sup>	No	MI	No	No	No	No	No	No	MA	MA	MA	MIM6a	MIM7a													
Edad actual <sup>b</sup>	†9 m	†20 m	20 a	†32 m	30 a	22 a	†5 m	†3 m	†2 m	10 a	12 a	9 a	10 a													
Causa de la muerte	Sepsis	Neum	VS	CMV	VS	VS	Neum	CMV	ADV	VS	VS	VS	VS													

ADV: Aleutian disease virus; Asp: *Aspergillus*; CMV: citomegalovirus; Del7: delección del exón 7; EBV: virus de Epstein Barr; GvHD: enfermedad injerto contra huésped; Het: heterocigoto compuesto; HHV: herpesvirus humano; Ins: inserción; ND: no descrito; Neum: neumonía; M: médula ósea; MA: HLA *matched related donor*; MI: HLA *missmatched related*; P: sangre periférica; SC: sangre de cordón umbilical; Trunc: proteína truncada; U: *matched unrelated donor*; VS: vivo y sano.

<sup>a</sup> *Leaky* se refiere a los niveles de proteína normal.

<sup>b</sup> Edad en meses (m) y años (a). Edad actual en 2011.

<sup>c</sup> Al diagnóstico valores normales 60-85%, incluye células CD3 *dull* y *bright*.

<sup>d</sup> Para defectos en TCRα principalmente células TCRγδ+, pocas células TCRαβ<sup>low</sup>.

† Fallecido a la edad de.

el diagnóstico directo de la inmunodeficiencia mediante oligonucleótidos específicos, enzimas de restricción o secuenciación directa.

### Modo de herencia e identificación de portadores

Las inmunodeficiencias del TCR son enfermedades autosómicas recesivas con baja prevalencia. Los portadores (heterocigotos) son clínicamente sanos y no se distinguen fácilmente de los individuos normales en las pruebas de laboratorio, aunque a menudo presentan niveles intermedios de expresión en la superficie del TCR detectable por citometría de flujo<sup>15</sup> o técnicas bioquímicas<sup>16</sup>. No obstante, la detección de portadores requiere el análisis molecular para determinar las mutaciones en cada caso.

### Estudios funcionales

El análisis funcional de las células T y B es útil para el diagnóstico de esta clase de inmunodeficiencias. La respuesta funcional T (respuesta frente a anti-CD3 y PHA) o B (respuesta de anticuerpos a la infección o vacunación) es generalmente nula o baja. Sin embargo, los niveles de inmunoglobulinas son normales. La función citolítica de las células NK es normal, excepto para la inmunodeficiencia de TCR $\zeta$ .

### Función in vitro

La función del TCR no puede ser analizada, obviamente, en los pacientes con inmunodeficiencia del TCR que presentan un bloqueo total de la diferenciación T. En los casos de linfopenia T parcial sigue siendo difícil la comparación con individuos sanos, debido al bajo número y a la expresión reducida del TCR en los linfocitos T maduros. En cualquier caso, la sola presencia de linfocitos T en los pacientes sugiere un cierto grado de selección tímica. Por otro lado, en algunos casos (CD3 $\gamma$ , CD3 $\epsilon$  parcial) la respuesta de anticuerpos indica que la función T colaboradora es normal.

Nuestros estudios en la inmunodeficiencia humana de CD3 $\gamma$  usando líneas de linfocitos T (dependientes de IL-2) transformadas con el virus *Herpesvirus saimiri* o HTLV-I, indican que la cadena CD3 $\gamma$  contribuye, aunque no es absolutamente necesaria, a la regulación del tráfico del TCR<sup>17</sup>. Asimismo, CD3 $\gamma$  es prescindible para diferentes respuestas funcionales como el flujo de calcio, citólisis, inducción o modulación de moléculas de superficie, proliferación, síntesis de TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$ , y la señalización proximal por ciertas rutas (ZAP-70, ERK, p38 y mTOR) en linfocitos T, y para el desarrollo y expansión de los linfocitos iNKT<sup>18</sup>. En contraste, en los linfocitos T carentes de CD3 $\gamma$  la internalización del TCR inducida por PMA, la síntesis de IL-2 y la fosforilación de TCR $\zeta$  se encuentran afectadas<sup>8,18-21</sup>. La ausencia de la cadena CD3 $\gamma$  reduce la expresión del TCR de forma más marcada en linfocitos CD8<sup>+</sup> que en CD4<sup>+</sup>, tanto en humanos como en ratones. En nuestro laboratorio hemos demostrado que estas diferencias se deben, al menos en parte, a la existencia de diferencias en la glucosilación de las cadenas TCR $\alpha\beta$  y CD3 $\delta$  que determinan su conformación en cada linaje<sup>22,23</sup>. Por último, la deficiencia de CD3 $\gamma$  afecta más la expresión del TCR $\alpha\beta$  que la del TCR $\gamma\delta$ <sup>24</sup>,

mientras que curiosamente la deficiencia parcial de la cadena CD3 $\delta$  causa el efecto contrario<sup>25</sup>.

## Tratamiento y pronóstico

### Trasplante de progenitores hematopoyéticos

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) constituye el tratamiento más adecuado para las inmunodeficiencias del TCR, dado que el pronóstico es muy desfavorable en el caso de no realizarse, salvo para la deficiencia de CD3 $\gamma$  o la mayoría de las deficiencias parciales (tabla 2). Los progenitores hematopoyéticos pueden ser obtenidos a partir de médula ósea, sangre periférica o cordón umbilical de donantes genotípicamente idénticos (*HLA matched related*), parcialmente idénticos (*HLA mismatched related*), o compatibles pero no emparentados (*matched unrelated*). Los receptores son sometidos a un condicionamiento mielo-ablativo y el éxito del tratamiento depende de la eficacia de dicha ablación.

Todos los pacientes presentan clínica de inmunodeficiencia, aunque en algunos casos sea de manera leve y en otros de manera severa, hasta el punto de necesitar TPH. El origen de variación en la clínica de estos pacientes sigue aún sin ser aclarado.

En la deficiencia de CD3 $\delta$  se ha demostrado que el trasplante con donantes no emparentados da mejor resultado que los trasplantes parcialmente idénticos<sup>26</sup>. Las complicaciones infecciosas relacionadas con la inmunosupresión (*Herpesvirus*) son la causa más común de muerte entre los pacientes trasplantados. No obstante, todos los pacientes trasplantados con éxito han llevado una vida normal hasta los 18 años postrasplante.

En determinados casos algunos pacientes presentan signos leves de inmunodeficiencia, y por tanto no se consideraba necesario el TPH, como sucede en las inmunodeficiencias de CD3 $\gamma$  y CD3 $\epsilon$  parcial, donde los afectados han alcanzado la tercera década de vida. Sin embargo, el tratamiento profiláctico de elección es la inmunoglobulina intravenosa (IVIG) con o sin antibióticos<sup>16,27</sup>, si los signos clínicos reaparecen<sup>28</sup>. En el caso de la inmunodeficiencia de CD3 $\gamma$  la respuesta de anticuerpos fue normal *in vivo*, por lo que se realizó un programa de vacunación preventivo, excluyendo virus atenuados. Asimismo, este paciente en particular presentaba asma bronquial que se trató con ketotifeno y cromoglicato sódico entre los 3,5 y 7 años<sup>29</sup>. A partir de los 7 años se trató la hiperreactividad no atópica de las vías respiratorias. El paciente español con deficiencia de CD3 $\gamma$  ha sido tratado con antibióticos solo cuando desarrollaba signos clínicos de inmunodeficiencia, y ha alcanzado la tercera década de vida sin dificultades.

### Terapia génica

Los protocolos de terapia génica consisten en la sustitución del gen defectuoso en enfermedades de tipo monogénico. No obstante, deben ser probados previamente *in vitro*<sup>30</sup>. En la inmunodeficiencia de CD3 $\gamma$  la expresión de la cadena normal en los linfocitos T maduros restaura la expresión del TCR<sup>31</sup>. Se

observó, sin embargo, un desajuste funcional en los linfocitos primarios, reflejado en la síntesis constitutiva de IL-2 y una aparente autorreactividad.

## Modelos animales

El estudio de ratones con mutaciones de los genes que codifican las cadenas invariantes y variables del TCR ha permitido la caracterización del papel de cada cadena<sup>1,32</sup>, en particular durante el desarrollo intratímico, y su comparación con pacientes humanos (fig. 2). Este análisis sugiere que, en ciertos aspectos, los requerimientos de dichas cadenas son diferentes en las 2 especies. De hecho, la cadena CD3 $\delta$  no es necesaria para el desarrollo de las células T $\gamma\delta$  en ratones<sup>33</sup>, pero sí lo es en humanos<sup>34</sup>, debido a la distinta estequiometría del TCR $\gamma\delta$  humano, que incluye CD3 $\delta$ , en comparación al TCR $\gamma\delta$  del ratón que no incorpora esta cadena<sup>24,35</sup> (fig. 1). En contraste, la falta de la cadena CD3 $\delta$  da lugar al bloqueo completo del desarrollo de los linfocitos T $\alpha\beta$  tanto en humanos como en ratones, aunque en distintos estadios del desarrollo intratímico<sup>33,34</sup> (fig. 2). Así, en humanos pero no en ratones<sup>36</sup>, CD3 $\delta$  es esencial para la expresión funcional del pre-TCR y la consecuente transición DN-DP durante el desarrollo intratímico T $\alpha\beta$  temprano. Curiosamente, la situación se invierte en el caso de la deficiencia de CD3 $\gamma$ , la cual afecta a la expresión funcional del pre-TCR en el ratón<sup>37</sup> pero no en los humanos<sup>8</sup> (fig. 2). Estas diferencias establecen limitaciones en cuanto al uso de modelos murinos para la obtención de información relevante en el contexto de las deficiencias humanas del TCR. Una manera de atacar este problema ha sido la generación y análisis de ratones «humanizados» portadores de cadenas TCR<sup>38</sup> o CD3 transgénicas de origen humano<sup>33,39-41</sup>.

En el ratón la deficiencia completa de las distintas cadenas CD3 ha demostrado que el desarrollo de células T se ve alterado de manera drástica en todas las situaciones, aunque en diferentes puntos de control y en un grado diferente (fig. 2). Sin embargo, todas las proteínas CD3 excepto CD3 $\delta$  son necesarias para la selección  $\beta$  mediada por el pre-TCR. Así, contrariamente a lo propuesto en humanos, la jerarquía CD3 en ratones sería CD3 $\gamma$  mayor que CD3 $\delta$ .

Además, se ha observado que la expresión incompleta de complejos TCR de ratón en células no T (3T3) es posible cuando CD3 $\delta$  o  $\gamma$  (pero no CD3 $\epsilon$  o cualquier otra cadena) están ausentes<sup>42</sup>, apoyando la jerarquía  $\epsilon > \gamma > \delta$  en ratón.

Cabe destacar aquí la ausencia de CD3 $\delta$  en las células TCR  $\gamma\delta$  de ratón que presentan una estequiometría  $\gamma\delta/\gamma\epsilon\gamma\epsilon\zeta\zeta$ . Por lo tanto, en células humanas, pero no en ratón, si carecen de CD3 $\delta$  no presentan ni timocitos dobles positivos ni células T $\gamma\delta$ . Por el contrario, los ratones pero no los seres humanos que carecen de CD3 $\gamma$  tienen muy pocas células T  $\alpha\beta$  y  $\gamma\delta$  periféricas.

Tomados en conjunto, estos resultados sugieren un papel diferente para CD3 $\gamma$  y CD3 $\delta$  en humanos y ratones en el pre-TCR y la función del TCR durante el desarrollo de las células T.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Nuestro trabajo en este campo ha sido financiado por Comunidad Autónoma de Madrid (S2011/BMD-2316), Fundación Lair, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII-PI080921 and PI060057, RIER RD08-0075-0002 and PI11/02198), Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre, Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF 2011-24235) y Fundación Mutua Madrileña. Agradecemos a los doctores Hidetoshi Takada (Department of Pediatrics, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University), Juana Gil (Inmunología, Hospital Gregorio Marañón, Madrid, España), Eduardo López-Granados (Inmunología, Hospital La Paz, Madrid, España), Chaim M. Roifman (The Canadian Centre for Primary Immunodeficiency, Div. of Immunology and Allergy, The Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario, Canadá) y Françoise Le Deist (CHU Sainte-Justine, Montréal, Canadá) sus datos sobre los pacientes y su continua colaboración científica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Malissen B, Ardouin L, Lin SY, Malissen M. Function of the CD3 subunits of the pre-TCR and TCR complexes during T development. *Adv Immunol.* 1999;72:103-48.
- Schraven B, Cardine AM, Hübener C, Bruyins E, Ding I. Integration of receptor-mediated signals in T cells by transmembrane adaptor proteins. *Immunol Today.* 1999;20:431-4.
- 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.
- Das H, Wang L, Kamath A, Bukowski JF. Vgamma2Vdelta2 T-cell receptor-mediated recognition of aminobisphosphonates. *Blood.* 2001;98:1616-8.
- Jensen KD, Chien YH. Thymic maturation determines  $\gamma\delta$  T cell function, but not their antigen specificities. *Curr Opin Immunol.* 2009;21:140-5.
- Regueiro JR, Arnaiz-Villena A, Ortiz de Landazuri M, Martín-Villa JM, Vicario JL, Pascual-Ruiz V, et al. Familial defect of CD3 (T3) expression by T cells associated with rare gut epithelial cell autoantibodies. *Lancet.* 1986;1:1274-5.
- Thoenes G, Le Deist F, Fisher A, Griscelli C, Lisowska-Groszpiere B. Immunodeficiency associated with defective expression of the T-cell receptor-CD3 complex. *N Engl J Med.* 1990;322:1399.
- Arnaiz-Villena A, Timon M, Corell A, Perez-Aciego P, Martín-Villa JM, Regueiro JR. Brief report: Primary immunodeficiency caused by mutations in the gene encoding the CD3-gamma subunit of the T-lymphocyte receptor. *N Engl J Med.* 1992;327:529-33.
- Soudais C, Villartay JP, Le Deist F, Fischer A, Lisowska-Groszpiere B. Independent mutations of the human CD3-epsilon gene resulting in a T cell receptor/CD3 complex immunodeficiency. *Nat Genet.* 1993;3:77-81.
- Ozgiir TT, Asal GT, Cetinkaya D, Orhan D, Kiliç SS, Usta Y, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in a CD3 gamma-deficient infant with inflammatory bowel disease. *Pediatr Transplant.* 2008;12:910-3.
- Call ME, Wucherpfennig KW. Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor-CD3 complex. *Mol Immunol.* 2004;40:1295-305.

12. Baum PD, Young JJ, McCune JM. Measurement of absolute T cell receptor rearrangement diversity. *J Immunol Methods*. 2011;368:45-53.
13. Somech R. T-cell receptor excision circles in primary immunodeficiencies and other T-cell immune disorders. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011;11:517-24.
14. Rieux-Laucat F, Hivroz C, Lim A, Mateo V, Pellier I, Selz F, et al. Inherited and somatic CD3-zeta mutations in a patient with T-cell deficiency. *N Engl J Med*. 2006;354:1913-21.
15. Brooimans RA, Rijkers GT, Wulfraat NM, Zegers BJM. Severe combined immunodeficiency in a patient with defective expression of CD3. *Exp Clin Immunobiol*. 2000;203:463.
16. Van Tol MJD, Sanal O, Langlois van den Bergh R, van de Wal Y, Roos MTL, Berkel AI, et al. CD3-gamma chain deficiency leads to a cellular immunodeficiency with mild clinical presentation. *The Immunologist*. 1997; Suppl 1:41.
17. Torres PS, Alcover A, Zapata DA, Arnaud J, Pacheco A, Martín-Fernández JM, et al. TCR dynamics in human mature T lymphocytes lacking CD3-gamma. *J Immunol*. 2003;170:5947-55.
18. Reiné J, Busto EM, Muñoz-Ruiz M, Rossi NE, Rodríguez-Fernández JL, Martínez-Naves E, et al. CD3-gamma independent pathways in TCR-mediated signaling in mature T and iNKT lymphocytes. *Cell Immunol*. 2011;271:62-6.
19. Perez-Aciego P, Alarcon B, Arnaiz-Villena A, Terhorst C, Timon M, Segurado OG, et al. Expression and function of a variant T cell receptor complex lacking CD3-gamma. *J Exp Med*. 1991;174:319-26.
20. Pacheco-Castro A, Zapata DA, Torres PS, Regueiro JR. Signalling through a CD3-gamma deficient TCR-CD3 complex in immortalized mature CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes. *J Immunol*. 1998;161:3152-60.
21. Torres PS, Zapata DA, Pacheco-Castro A, Rodríguez-Fernández JL, Cabañas C, Regueiro JR. Contribution of CD3-gamma to TCR regulation and signaling in human mature T lymphocytes. *Int Immunol*. 2002;14:1357-67.
22. Zapata DA, Pacheco-Castro A, Torres PS, Ramiro AR, San Jose E, Alarcon B, et al. Conformational and biochemical differences in the TCR. CD3 complex of CD8<sup>+</sup> versus CD4<sup>+</sup> mature lymphocytes revealed in the absence of CD3-gamma. *J Biol Chem*. 1999;274:35119-28.
23. Zapata DA, Schamel WWA, Torres PS, Alarcón B, Rossi NE, Navarro MN, et al. Biochemical differences in the alpha-beta TCR-CD3 surface complex between CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> human mature T lymphocytes. *J Biol Chem*. 2004;279:24485-92.
24. Siegers GM, Swamy M, Fernandez-Malave E, Minguet S, Rathmann S, Guardo AC, et al. Different composition of the human and the mouse gamma-delta T cell receptor explains different phenotypes of CD3-gamma and CD3-delta immunodeficiencies. *J Exp Med*. 2007;204:2537-44.
25. Gil J, Busto EM, Garcillán B, Chean C, García-Rodríguez MC, Díaz-Alderete A, et al. A leaky mutation in CD3D differentially affects alpha-beta and gamma-delta T cells and leads to a T alpha-beta-T gamma-delta+B+NK+ human SCID. *J Clin Invest*. 2011;10:3872-6.
26. Marcus N, Takada H, Law J, Cowan MJ, Gil J, Regueiro J, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for CD3-delta deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:1050-7.
27. Le Deist F, Thoenes G, Corado J, Lisowska-Grospierre B, Fischer A. Immunodeficiency with low expression of the T cell receptor/CD3 complex. Effect on T lymphocyte activation. *Eur J Immunol*. 1991;21:1641-7.
28. Allende LM, Garcia-Perez MA, Moreno A, Ruiz-Contreras J, Arnaiz-Villena A. Fourteen years' follow-up of an autoimmune patient lacking the CD3-gamma subunit of the T-lymphocyte receptor. *Blood*. 2000;96:4007-8.
29. Sanal O, Yel L, Ersoy F, Tezcan I, Berkel AI. Low expression of the T-cell receptor - CD3 complex: a case with a clinical presentation resembling humoral immunodeficiency. *Turk J Pediatr*. 1996;38:81-4.
30. Sun J, Pacheco-Castro A, Borroto A, Alarcon B, Alvarez-Zapata D, Regueiro JR. Construction of retroviral vectors carrying human CD3-gamma cDNA and reconstitution of CD3-gamma expression and T cell receptor surface expression and function in a CD3-gamma deficient mutant T cell line. *Hum Gene Ther*. 1997;8:1041-8.
31. Pacheco-Castro A, Martín JM, Millan R, Sanal O, Regueiro JR. Toward gene therapy for human CD3 deficiencies. *Hum Gene Therapy*. 2003;14:1653-61.
32. Mombaerts P, Clarke AR, Rudnicki MA, Iacomini J, Itohara S, Lafaille JJ, et al. Mutations in T-cell antigen receptor genes alpha and beta block thymocyte development at different stages. *Nature*. 1992;360:225-31.
33. Dave VP, Cao Z, Browne C, Alarcón B, Fernández-Miguel G, Lafaille J, et al. CD3-delta deficiency arrests development of the alpha-beta but not the gamma-delta T cell lineage. *EMBO J*. 1997;16:1360-70.
34. Dadi HK, Simon AJ, Roifman CM. Effect of CD3-delta deficiency on maturation of alpha-beta and gamma-delta T-cell lineages in severe combined immunodeficiency. *New Engl J Med*. 2003;349:1821-8.
35. Hayes SM, Love PE. Stoichiometry of the murine gamma-delta T cell receptor. *J Exp Med*. 2006;203:47-52.
36. Berger MA, Dave VP, Rhodes MR, Bosma GC, Bosma MJ, Kappes DJ, et al. Subunit composition of pre-T cell receptor complexes expressed by primary thymocytes: CD3-delta is physically associated but not functionally required. *J Exp Med*. 1997;186:1461-7.
37. Haks MC, Krimpenfort P, Borst J, Kruisbeek AM. The CD3-gamma chain is essential for development of both the TCR alpha-beta and TCR gamma-delta lineages. *EMBO J*. 1998;17:1871-82.
38. Pasare C, Mukherjee P, Verhoef A, Bansal P, Mendiratta SK, George A, et al. T cells in mice expressing a transgenic human TCR beta chain get positively selected but cannot be activated in the periphery by signaling through TCR. *Int Immunol*. 2001;13:53-62.
39. De la Hera A, Müller U, Olsson C, Isaaz S, Tunnacliffe A. Structure of the T cell antigen receptor (TCR): Two CD3 epsilon subunits in a functional TCR/CD3 complex. *J Exp Med*. 1991;173:7-17.
40. Pan Q, Brodeur J-F, Drbal K, Dave VP. Different role for mouse and human CD3-delta-epsilon heterodimer in pre-T cell receptor (pre-TCR) function: human CD3-delta-epsilon heterodimer restores the defective pre-TCR function in CD3-gamma and CD3-gamma-delta deficient mice. *Mol Immunol*. 2005;43:1741-50.
41. Fernández-Malavé E, Wang N, Pulgar M, Schamel WWA, Alarcón B, Terhorst C. Overlapping functions of human CD3-delta and mouse CD3-gamma in alpha-beta T-cell development revealed in a humanized CD3-gamma deficient mouse. *Blood*. 2006;108:3420-7.
42. Szymczak AL, Workman CJ, Wang Y, Vignali KM, Dilioglou S, Vanin EF, et al. Correction of multi-gene deficiency in vivo using a single «self-cleaving» 2A peptide-based retroviral vector. *Nat Biotechnol*. 2004;22:589-94.
43. Recio MJ, Moreno-Pelayo MA, Kilic SS, Guardo AC, Sanal O, Allende LM, et al. Differential biological role of CD3 chains revealed by human immunodeficiencies. *J Immunol*. 2007;178:2556-64.
44. De Saint Basile G, Geissmann F, Flori E, Uring-Lambert B, Soudais C, Cavazzana-Calvo M, et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. *J Clin Invest*. 2004;114:1512-7.

- 
45. Takada H, Nomura A, Roifman CM, Hara T. Severe combined immunodeficiency caused by a splicing abnormality of the CD3-delta gene. *Eur J Pediatr.* 2005;164:311-4.
  46. Roberts JL, Lauritsen JP, Cooney M, Parrott RE, Sajaroff EO, Win CM, et al. T-B+NK+ severe combined immunodeficiency caused by complete deficiency of the CD3-zeta subunit of the T-cell antigen receptor complex. *Blood.* 2007;109:3198-206.
  47. Morgan NV, Goddard S, Cardno TS, McDonald D, Rahman F, Barge D, et al. Mutation in the TCR alpha subunit constant gene (*TRAC*) leads to a human immunodeficiency disorder characterized by a lack of TCR alpha-beta+ T cells. *J Clin Invest.* 2011;121:695-702.