

Adrián Albarrán Godínez^{1,2}, Florencia Rosetti¹, Iris. K. Madera-Salcedo¹, José Carlos Crispín¹
¹ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), ² Posgrado en Ciencias Biomédicas.

Resumen

El repertorio de linfocitos T se selecciona en el timo, en base en la afinidad del receptor de células T (TCR) por antígenos propios. Este proceso, conocido como tolerancia central, elimina linfocitos autorreactivos y selecciona células T reguladoras. Porque las células T reconocen antígenos propios con baja afinidad, es necesario regular su activación en órganos linfoides secundarios. Ese control se realiza a través de tres mecanismos principales: (1) *eliminación*, donde la célula sufre muerte celular programada; (2) *anergia*, donde la célula activa un programa genético de que evita su activación y proliferación ante la estimulación por un antígeno; (3) *diferenciación a célula reguladora*, donde la célula adquiere la capacidad de suprimir la respuesta inmune. Se conoce poco sobre los factores que determinan el mecanismo por el que es neutralizada una célula autorreactiva. En base a eso, hemos planteando la siguiente pregunta: ¿Qué elementos determinan el destino de una célula autorreactiva tras su encuentro con un autoantígeno?

Modelos de expresión constitutiva y órgano-específico del antígeno



Esquema 1. Modelos de tolerancia tejido específica. Para estudiar el papel de la localización del antígeno, diseñamos dos modelos: (1) transferencia a ratones mOVA, que expresan de manera constitutiva la ovalbúmina (OVA) en todos los tejidos bajo el promotor de actina y (2) transferencia a ratones RipmOVA, que lo expresan solo en las células β del páncreas y en células tubulares del riñón.

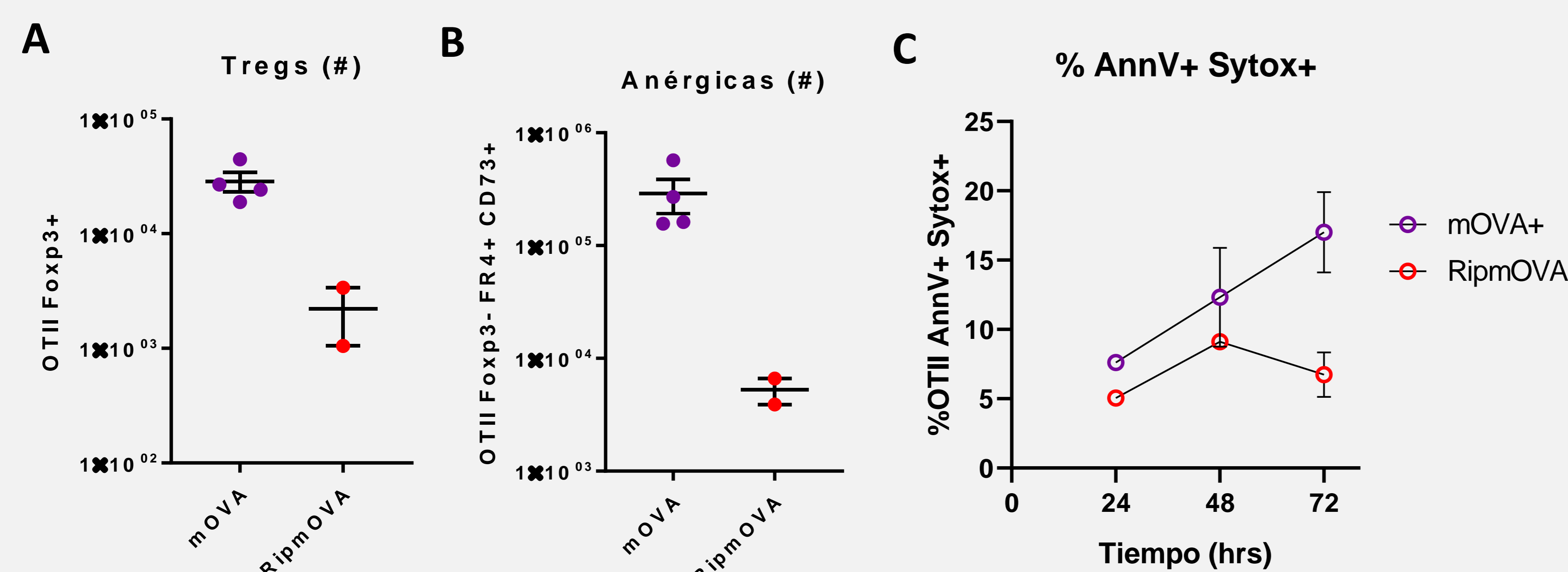
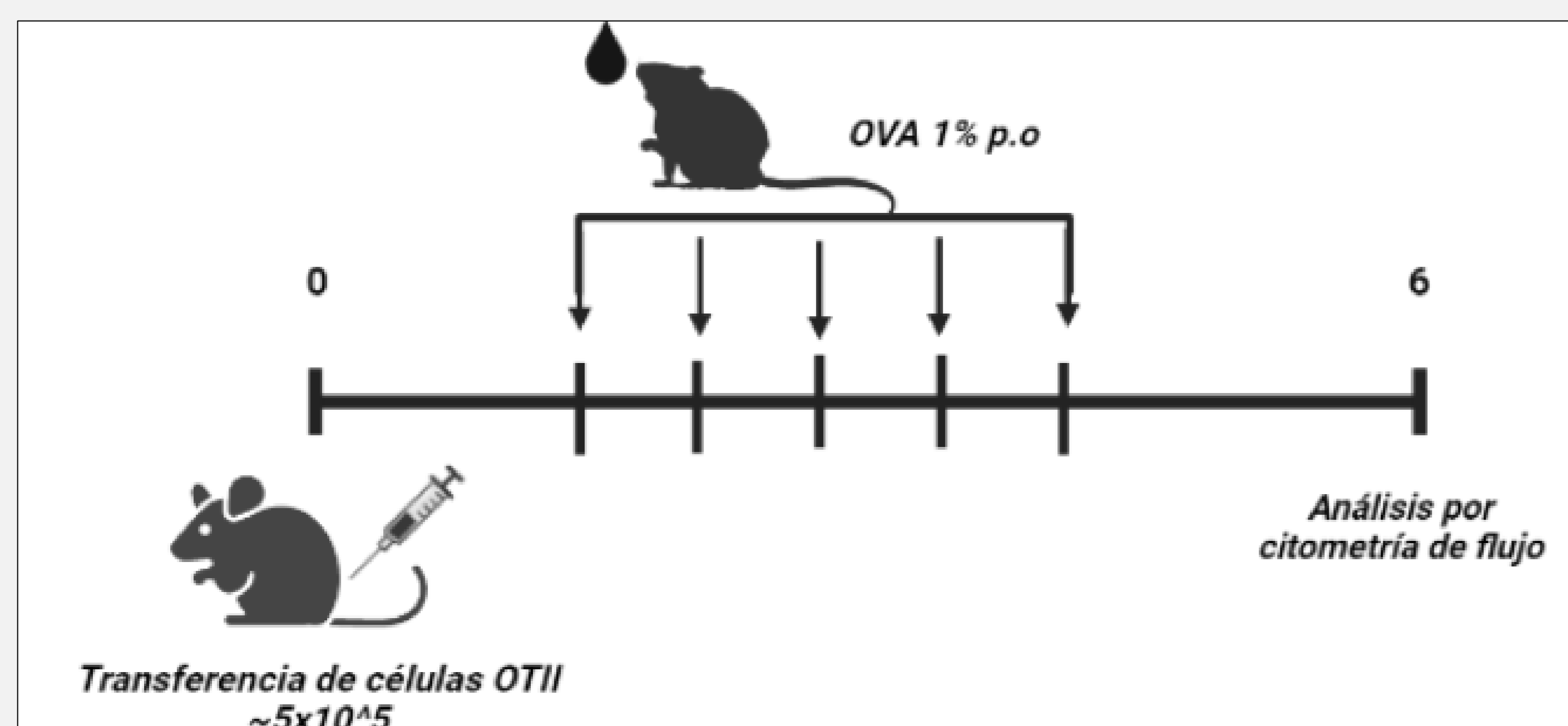


Figura 1. Las células OTII transferidas se diferencian a Treg con señales de anergia a las 48hrs en los ratones mOVA. A. Células OTII transferidas al ratón mOVA se diferencian a Treg a las 48hrs. B. Células OTII en el mOVA muestran señales de anergia a las 48hrs comparado a los RipmOVA. C. En los ratones mOVA también se observa un incremento en el porcentaje de muerte celular en los linfocitos OTII, demostrando que algunas de estas células están siendo eliminadas.

Modelo de inducción de tolerancia por antígeno administrado por vía oral



Esquema 2. Modelo de tolerancia oral. Ratones C57BL6/J (WT) con células OTII. Se administró OVA al 1% en el agua de beber durante 5 días, posteriormente se sacrificaron al día 6 para analizar la inducción de tolerancia en las células CD4 antígeno específicas.

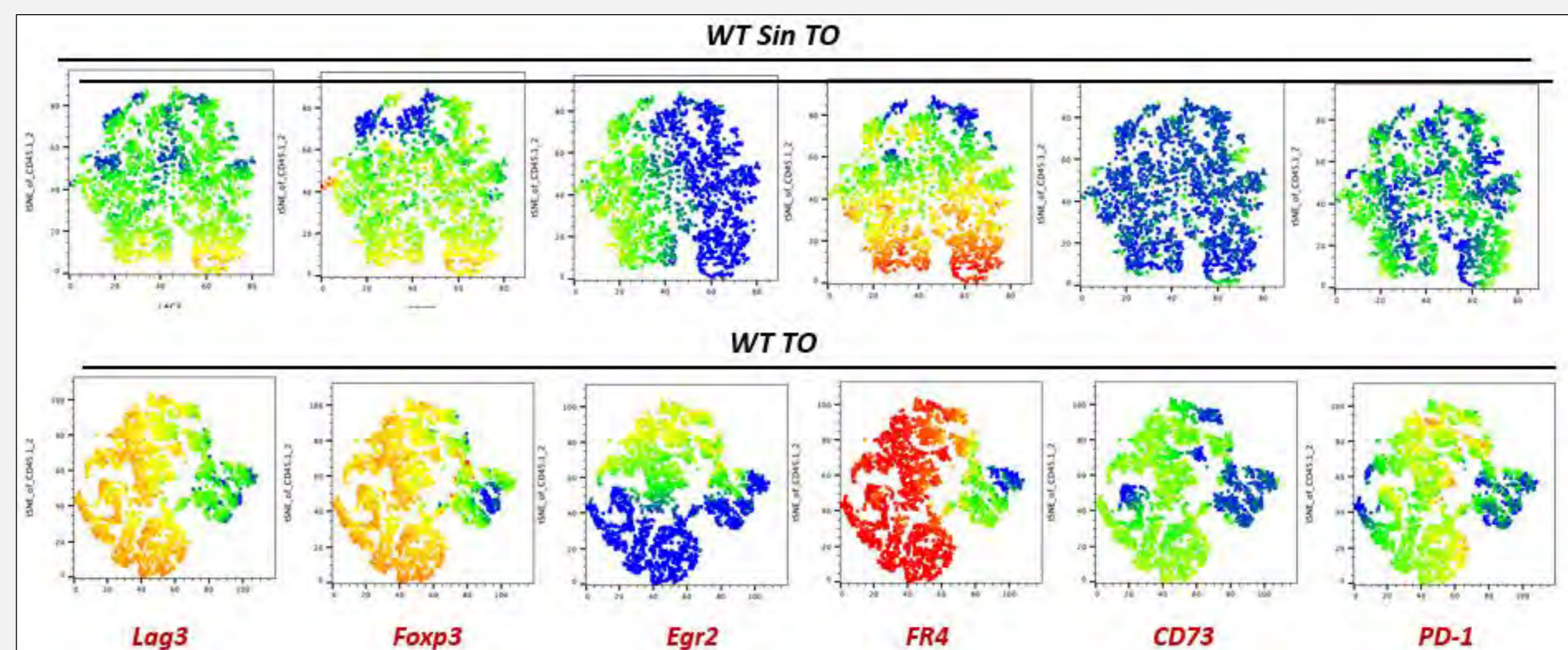


Figura 2. Análisis t-SNE de marcadores de células Treg y anérgicas. Se muestran células OTII específicas para la OVA de ratones WT con y sin tolerancia. Se puede observar el incremento en la expresión de marcadores de anergia reportados como FR4 (receptor de folatos 4) y CD73 (ectonucleotidasa AMP-adenosina) y Foxp3 para identificar Tregs. Igualmente, se incluyeron algunas moléculas de inhibición como Lag3 y PD-1 que juegan un papel importante en la función supresora de células reguladoras. Finalmente, contamos con el factor transcripcional Egr2 (proteína de respuesta al crecimiento 2) donde se ha observado un incremento en su expresión en células anérgicas, siendo una molécula importante para distinguir este estado celular.

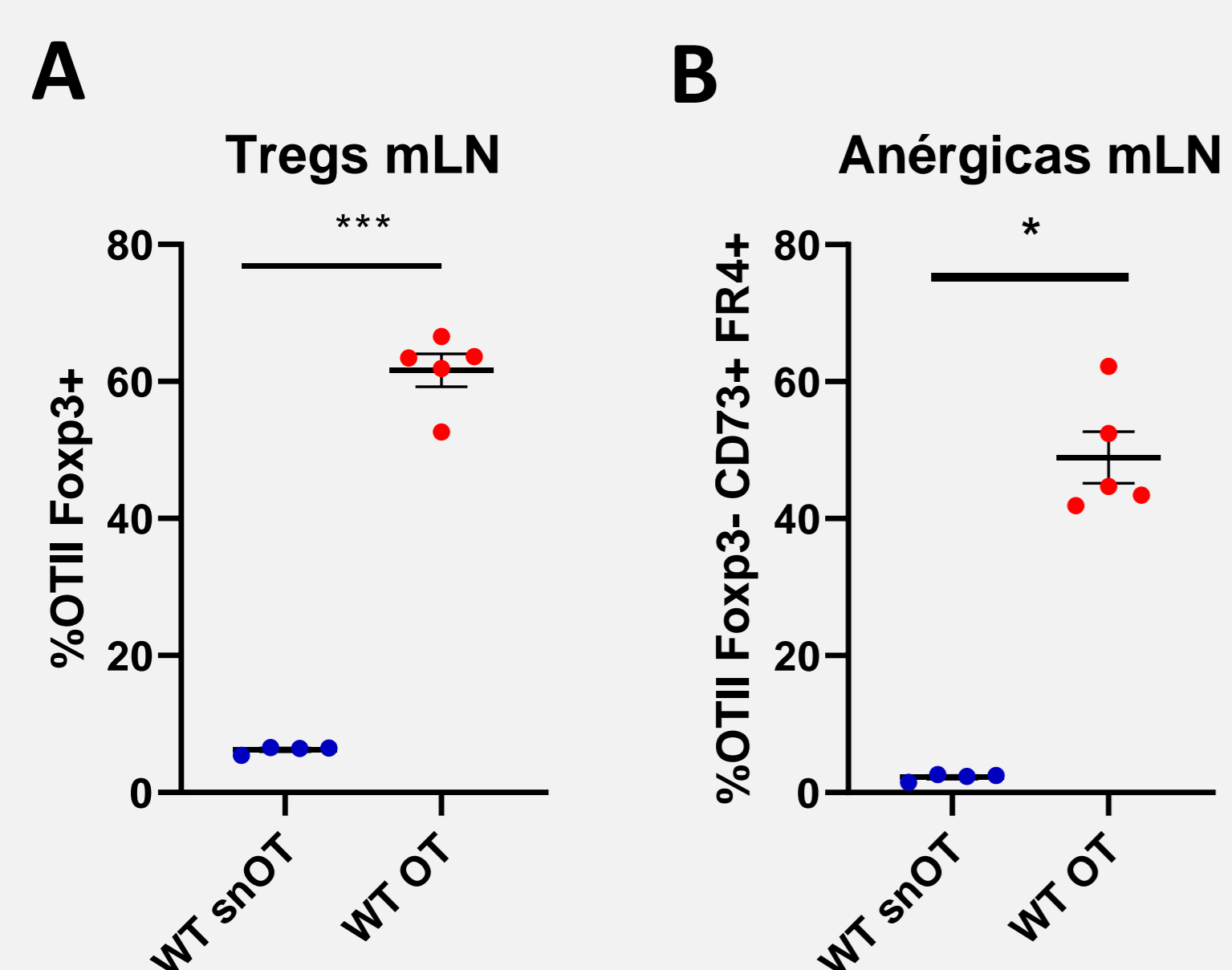


Figura 3. Los ratones con tolerancia oral presentan más células Treg y anérgicas. A. Las células OTII específicas para el reconocimiento de OVA muestran un incremento significativo en células Foxp3+ al día 6 de inducción de tolerancia. B. Las células Foxp3- de ratones con tolerancia muestran un fenotipo anérgico definido en este análisis como (Foxp3- FR4+ CD73+). En conjunto estos experimentos muestran que la administración de un antígeno por vía oral puede regular la diferenciación de células que responden contra dicho antígeno. En este contexto un porcentaje de células puede adquirir funciones reguladoras, mientras que otra fracción se dirige hacia un destino de anergia o baja respuesta celular. En experimentos futuros se tiene contemplado modificar la dosis de antígeno para observar cómo en función de la dosis se pueden modificar los destinos de tolerancia periférica.

Bibliografía:

- [1] Mueller DL. Mechanisms maintaining peripheral tolerance. Nat Immunol. 2010 Jan;11(1):21-7. doi:10.1038/ni.1817. Epub 2009 Dec 17. PMID: 20016506.
- [2] Trefzer A, Kadam P, Wang SH, Pennavaria S, Lober B, Akçabozan B, Kranich J, Brocker T, Nakano N, Irmeler M, Beckers J, Straub T, Obst R. Dynamic adoption of anergy by antigen-exhausted CD4+ T cells. Cell Rep. 2021 Feb 9;34(6):108748. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108748. PMID:33567282.
- [3] Liu, X., Wang, Y., Lu, H., Li, J., Yan, X., Xiao, M., ... Dong, C. (2019). Genome-wide analysis identifies NR4A1 as a key mediator of T cell dysfunction. Nature. doi:10.1038/s41586-019-0979-8