

### Revisión

## Los linfocitos B, células productoras de anticuerpos, tienen la capacidad de producir citoquinas que operan de modo anti-inflamatorio

Por **Dra. Adriana Gruppi**, **Dra. Daniela Bermejo**, **Lic. Melisa Gorosito Serrán**, **Dra. María Carolina Amezcu Vesely** y **Dra. Eva Acosta Rodríguez**.

[agruppi@fcq.unc.edu.ar](mailto:agruppi@fcq.unc.edu.ar)

Integrantes del Departamento de Bioquímica Clínica y del CIBICI (CONICET Córdoba), Facultad de Ciencias Químicas (UNC).

### Resumen:

Los linfocitos B, únicas células productoras de anticuerpos (Acs) pueden ejercer su función a través de mecanismos dependientes de Acs o independiente de ellos. Las actividades independientes de Acs incluyen la secreción de citoquinas proinflamatorias y quemoquinas y la presentación de antígenos. Por estas actividades, los linfocitos B son capaces de funcionar como células accesorias y regulatorias del sistema inmune. Últimamente, el papel de los linfocitos B en la respuesta inmune celular recibió un interés renovado a partir de datos clínicos, que muestran que las terapias de eliminación de linfocitos B son efectivas para enfermedades autoinmunes cuyas células efectoras dañinas son los linfocitos T. Recientemente, identificamos que linfocitos B murinos y de origen humano son capaces de producir IL-17, una citoquina que ha sido reportada posee funciones pro-inflamatorias. Sin embargo, observamos que los linfocitos B productores de IL-17 actúan, en la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*, controlando una respuesta inflamatoria al reducir altos niveles de IFN gamma y TNF. Reportamos que los linfocitos B, después de la exposición directa al *T. cruzi* o a la enzima trans-sialidasa del parásito, que modifica glicoproteínas presentes en la superficie de los mismos, se activan de forma policlonal y en ellos se dispara una vía de señalización, totalmente novedosa, dependiente de

la tirosin-fosfatasa CD45, de las kinasas Src y Btk-TEC que culminan en la expresión de IL-17A e IL-17F.

### Abstract:

*B cells, the only antibody (Ab)-producing cells, can carry out their functions via Ab dependent and independent mechanisms. The Ab independent functions involve pro-inflammatory cytokine and chemokine production and antigen presentation. For these activities, B cells can function as accessory and regulatory cells of the immune system. The question of whether B cells have a role in cellular effector immune responses is now receiving renewed interest with the emergence of clinical data showing that B cell depletion is an effective treatment for several T cell-mediated autoimmune diseases. Recently, we identified that both murine and human B cells produce the pro-inflammatory cytokine IL-17. However, IL-17-producing B cells act by controlling the inflammation and reducing INF-gamma and TNF levels in a Trypanosoma cruzi infection experimental model. Intriguingly, we found that B cells are polyclonally activated after direct exposure to T. cruzi or to the trans-sialidase enzyme of this parasite and that trans-sialidase modifies glycoproteins on the B cell membrane and induces a signaling pathway dependent on the tyrosine phosphatase CD45 and the kinases Src and Btk-Tec that culminates in the expression of IL-17A and IL-17F in both mouse and human B cells.*

Una inmunidad eficiente contra patógenos, con frecuencia, requiere tanto de la respuesta inmune que involucra anticuerpos, como de la que involucra células efectoras que potencian funciones macrofágicas y citotóxicas. Estas respuestas son mediadas por linfocitos B y linfocitos T, respectivamente. Ambos tipos celulares son glóbulos blancos que se encuentran en sangre pero, además, se ubican en órganos linfáticos secundarios, espacio donde adquieren la función efectora cuyo objetivo final es el de mantener al hospedador libre de microorganismos patógenos y cáncer. Ambos tipos de linfocitos interactúan entre sí a través de moléculas de superficie, o a través de proteínas solubles como las citoquinas.

Los linfocitos T CD4+, conocidos como linfocitos T cooperadores, participan en la respuesta inmune humoral al proporcionar ayuda a los linfocitos B para la producción de anticuerpos. Lo contrario, que los linfocitos B regulan o influyen sobre la respuesta de los linfocitos T, es más cuestionado<sup>1, 2</sup>. Los linfocitos B pueden actuar a través de mecanismos dependientes de anticuerpos (Acs) o independiente de ellos. Las actividades de los linfocitos B independientes de Acs incluyen la secreción de citoquinas proinflamatorias y quemoquinas y la presentación de antígenos. Por estas actividades, los linfocitos B son capaces de funcionar como células accesorias y regulatorias que influyen tanto sobre las células dendríticas, macrófagos, como sobre distintas subpoblaciones de linfocitos T. Últimamente, el papel de los linfocitos B en la respuesta inmune celular recibió un interés renovado a partir de información, obtenida de datos clínicos, que muestra que la eliminación de los linfocitos B con anticuerpos monoclonales es una terapia efectiva para varias enfermedades autoinmunes mediadas por linfocitos T3. Resultados obtenidos en humanos y en modelos murinos revelan que la eficacia clínica de la terapia de eliminación o disminución de linfocitos B no necesariamente se correlaciona con cambios en los niveles de auto-anticuerpos (anticuerpos que al reconocer proteínas propias pueden generar daño en el hospedador), sugiriendo que los linfocitos B contribuyen a la autoinmunidad independientemente de la producción de inmunoglobulinas autoreactivas<sup>4,5</sup>.

Recientemente demostramos que los linfocitos B son la principal fuente de IL-17 en ratones infectados con *Trypanosoma cruzi* y que estos linfocitos B producen IL-17 de una manera independiente de los factores de transcripción ROR $\gamma$ t y AhR6. Observamos que, los linfocitos B tanto murinos como de origen humano, después de la exposición directa al *T. cruzi* o a la enzima trans-sialidasa del parásito, que modifica glicoproteínas presentes en la superficie de los mismos, se activan de forma policlonal y en ellos se dispara una vía de señalización dependiente

de la tirosin-fosfatasa CD45, de las kinasas Src y Btk-TEC que culminan en la expresión de IL-17A e IL-17F.

En base a la importancia y originalidad del hallazgo es importante señalar el papel de IL-17 en la respuesta inmune. La IL-17 es reconocida como una citoquina inflamatoria que ejerce su función principalmente sobre células mieloides y mesenquimales para inducir la expresión de G-CSF, IL-6 y ciertas quemoquinas, las cuales incrementan la granulopoyesis y reclutan neutrófilos al sitio de la infección<sup>7,8</sup>. La IL-17 causa una fuerte expansión de neutrófilos e incremento de neutrófilos en sangre, por consiguiente la neutralización de la misma está asociada con granulopenia y susceptibilidad a la infección. Además, la IL-17 induce TNF, IL-1beta y GM-CSF. Además de la inducción de citoquinas proinflamatorias y quemoquinas<sup>9</sup>, la IL-17 promueve la expresión de péptidos antimicrobianos<sup>10</sup> aportando protección contra un amplio espectro de microorganismos.

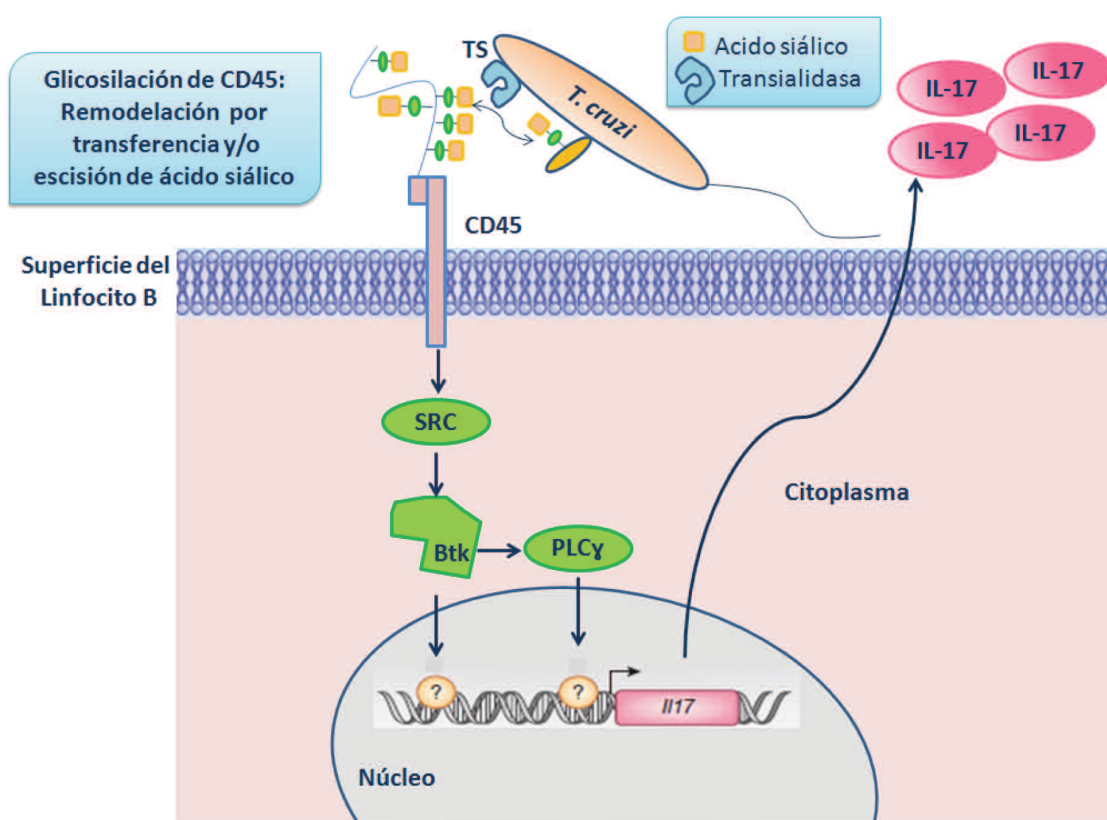
Hace poco tiempo, IL-17 fue involucrada en el control de la infección con *T. cruzi*<sup>11,12</sup>. La IL-17 típicamente producida en respuesta a infecciones con patógenos extracelulares induce una cascada de mediadores proinflamatorios que facilita el reclutamiento y la activación de neutrófilos y monocitos necesarios para controlar al patógeno. Aunque esta citoquina fue inicialmente descrita como producida por linfocitos T CD4<sup>13</sup>, datos subsecuentes demuestran que gran parte de la IL-17 producida durante infecciones o inflamación proviene de células linfoides "innatas". En nuestra reciente publicación, demostramos que los linfocitos B maduros, pero no los inmaduros, también actúan como productores "de tipo innato" de IL-17 luego de la infección con *T. cruzi*. Hemos observado que los plasmoblastos y las células plasmáticas, que son el estadio de diferenciación de los linfocitos B que secreta activamente anticuerpos, son los principales productores de IL-17 durante las dos primeras semanas de infección con *T. cruzi*6.

La producción de IL-17 por parte de los linfocitos T y de las células linfoides "innatas" depende de citoquinas tales como IL-6 e IL-23 que son producidas por células del sistema innato en respuesta a ligandos microbianos provenientes que virus y bacterias que activan distintos receptores llamados receptores de tipo Toll (TLRs)<sup>14</sup>. Aunque los linfocitos B expresan TLRs, pudimos determinar que los mismos no sintetizan IL-17, luego la estimulación con diferentes ligandos de TLR de origen microbiano. También, demostramos que el reconocimiento de antígenos a través de los receptores específicos que poseen los linfocitos B (BCR) no es requerido para la producción de IL-17. A través de experimentos de transferencia celular en ratones deficientes en linfocitos B, utilizando linfocitos B tanto a ratones dadores normales como deficientes en

IL-17 (IL-17 knock-out), pudimos determinar que, en el contexto de la infección experimental con *T. cruzi*, los linfocitos B productores de IL-17 actúan controlando la fuerte inflamación que se produce en ésta infección.

En resumen, el análisis de nuestros resultados nos permitieron describir un original y novedoso hallazgo que es que los linfocitos B tienen la capacidad de producir IL-17 y que en ratones infectados con *T. cruzi* son

una fuente de IL-17 numéricamente más importante que los LiTh17. El parásito per se tiene la capacidad de disparar la producción de IL-17 en linfocitos B maduros pero no en los inmaduros, a través de una vía no canónica. Además, determinamos que los linfocitos B productores de IL-17 actúan controlando una respuesta inflamatoria exacerbada al reducir altos niveles de IFN gamma y TNF.



Adaptado de León y Lund - Nature Immunology 2013 May; 14 (5): 419-21

**Figura 1:** El parásito *Trypanosoma cruzi* activa directamente a los linfocitos B para producir IL-17 por un mecanismo no canónico. Las principales células productoras de IL-17 encontradas en los bazo de ratones infectados con *T. cruzi* son linfocitos B maduros, foliculares y de zona marginal.

La trans-sialidasa (TS) del *T. cruzi*, una enzima anclada en la superficie parasitaria a través de glicofosfatidilinositol, altera la glicosilación de las proteínas de membrana sobre el Linfocito B, catalizando la transferencia de ácido siálico desde el medio hacia las proteínas blancas sobre el linfocito B, y viceversa. Uno de los probables blancos de remodelación glicoproteica mediada por la trans-sialidasa es el CD45, ya que la inhibición de la actividad enzimática del CD45, así como la de sus blancos de señalización intracelulares (incluyendo Src y Btk-Tec), bloquea la producción de IL-17 por linfocitos B expuestos al *T. cruzi* o a trans-sialidasa. Es por esto, que la trans-sialidasa, alterando la glicosilación del CD45, induciría la actividad fosfatasa del CD45 que conlleva a la activación de Src y consecuentemente de Btk.

### Referencias bibliográficas

1. Lund FE, Randall TD. Effector and regulatory B cells: modulators of CD4(+) T cell immunity. *Nat Rev Immunol.* 2010 Apr;10(4):236-47. Review.
2. Homann D, et al. Evidence for an underlying CD4 helper and CD8 T-cell defect in B-cell-deficient mice: failure to clear persistent virus infection after adoptive immunotherapy with virus-specific memory cells from muMT/muMT mice. *J Virol.* 1998 Nov;72(11): 9208-16.
3. Dörner T, et al. International Roundtable on B cells as Therapeutic Target for Intervention. Current status on B-cell depletion therapy in autoimmune diseases other than rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* 2009 Dec; 9(2):82-9
4. Levesque MC, St Clair EW. B cell-directed therapies for autoimmune disease and correlates of disease response and relapse. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Jan;121(1):13-21.
5. Liossis SN, Sfrikakis PP. Rituximab-induced B cell depletion in autoimmune diseases: potential effects on T cells. *Clin Immunol.* 2008 Jun;127(3):280-5.
6. Bermejo DA, Jackson SW, Gorosito-Serrán M, Acosta-Rodriguez EV, Amezcua-Vesely MC, Sather BD, Singh AK, Khim S, Mucci J, Liggitt D, Campetella O, Oukka M, Gruppi A, Rawlings DJ. Trypanosoma cruzi trans-sialidase initiates a program independent of the transcription factors ROR $\gamma$ t and Ahr that leads to IL-17 production by activated B cells. *Nat Immunol.* 2013 May;14(5):514-22. (Gruppi and Rawlings contributed equally to this work).
7. Kolls JK, Lindeán A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity.* 2004; 21: 467-476.
8. Ye P, et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J Exp Med* 2001;194:519-27.
9. Chang SH, Dong C. IL-17F: regulation, signaling and function in inflammation. *Cytokine.* 2009 Apr;46(1):7-11. Epub 2009 Feb 23. Review.
10. Liang SC, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are co-expressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J Exp Med* 2006; 203: 2271-2279.
11. 25. Miyazaki Y, et al. IL-17 is necessary for host protection against acute-phase Trypanosoma cruzi infection. *J Immunol.* 2010 Jul 15;185(2):1150-7.
12. ToselloBoari J, Amezcua Vesely MC, Bermejo DA, Ramello MC, Montes CL, Cejas H, Gruppi A, Acosta Rodríguez EV. "IL-17RA signaling reduces inflammation and mortality during Trypanosoma cruzi infection by recruiting suppressive IL-10-producing neutrophils". *PLoS Pathog.* 2012;8(4):e1002658
13. Weaver, C.T., et al. The Th17 pathway and inflammatory diseases of the intestines, lungs, and skin. *Annu. Rev. Pathol.* 8, 477-512 (2013).
14. Eberl, G. Immunol. Development and evolution of ROR $\gamma$ t+ cells in a microbe's world. *Rev.* 245, 177-188 (2012).