

# *Los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase II*

## *Regulación y relación con infecciones intracelulares*

Gloria M. Vásquez, Edwin Patiño, Luis F. García, Luis F. Barrera · Medellín

**Objetivo.** Revisar la literatura relacionada con la modulación de la expresión de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), con énfasis en los denominados clase II, durante infecciones intracelulares, y las posibles consecuencias de dicha modulación en la patología causada por la infección.

**Fuente de los datos.** Se extrajeron resultados obtenidos de artículos originales acerca del tema de interés, publicados en las principales revistas de Inmunología y Biología Molecular, además de información obtenida de revisiones publicadas previamente por expertos en el área.

**Selección de los datos.** Todos los datos fueron obtenidos de trabajos originales publicados durante los últimos 20 años, que abordaran experimentalmente el tema de las consecuencias de infecciones intracelulares sobre la expresión de los antígenos clase II del MHC, principalmente aquellos relacionados con las infecciones micobacterianas.

**Extracción de los datos.** Se incluyeron aquellos datos que tuvieran relevancia en áreas como la regulación de la expresión de los antígenos del MHC, la trasducción de señales por la vía del interferon (IFN)  $\gamma$ , la fosforilación o defosforilación de tirosina, el control por diferentes citoquinas de la expresión de los antígenos del MHC, y las alteraciones de la expresión de los MHC en macrófagos por patógenos intracelulares.

**Síntesis de los datos.** Los genes del MHC codifican moléculas críticas en la generación de la inmunidad adquirida, y por ende en el eficiente control de los patógenos intracelulares. El entendimiento reciente de los detallados mecanismos que regulan la expresión de los genes del MHC ha abierto una nueva vía para el entendimiento de cómo los patógenos intracelulares, incluyendo el *Mycobacterium tuberculosis*, agente causal de la tuberculosis en humanos, además de infecciones por virus o protozoarios, son capaces de modular negativamente componentes de la defensa del huésped. Más aún, la evidencia obtenida hasta el momento sugiere que un grupo diverso de microorganismos taxonómicamente distintos hayan desarrollado estrategias comunes para evadir el reconocimiento inmune por el huésped.

**Conclusiones.** Un diverso grupo de patógenos intracelulares, incluyendo el *M tuberculosis*, han desarrollado mecanismos para inhibir la expresión de los genes de MHC, principalmente a través de la interferencia con la transducción de señales críticas en la inducción de expresión de estas moléculas. Las alteraciones observadas pueden parcialmente explicar la disfunción inmune observada en pacientes que sufren de tuberculosis, infección por VIH, tracoma u otras enfermedades infecciosas causadas por microorganismos intracelulares (*Acta Med Colomb* 2001 ; 26:73-81).

**Palabras clave.** Complejo mayor de histocompatibilidad, MHC, infección intracelular.

### Introducción

Los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) codifican proteínas altamente polimórficas presentes en vertebrados. Ellas desempeñan un papel fundamental en los mecanismos de reconocimiento entre los antígenos propios y los extraños. En particular, los antígenos clase II, expresados preferencialmente en las denominadas células presentadoras de antígeno, incluyendo los macrófagos y las células dendríticas, determinan la inducción y el tipo espe-

cífico de respuesta inmunológica frente a las infecciones intracelulares. Por tanto, las células hospederas y sus huéspedes patógenos, han desarrollado mecanismos que finalmente permitirán el control de la infección o el estableci-

---

Drs. Gloria M. Vásquez, Edwin Patiño, Luis F. García, Luis F. Barrera: Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

Financiado por Colciencias proyecto código 115-05-618-95

miento de ésta con sus consecuencias patológicas. Evidencias recientes indican que una de las principales consecuencias de la infección de macrófagos *in vitro* con ciertos patógenos intracelulares, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, es la inhibición de la expresión de los antígenos MHC clase II. Aunque varios mecanismos diferentes parecen estar involucrados, alteraciones en la vía de transducción de señales dependiente del interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), y la subsecuente inhibición de la expresión del transactivador de clase II (CIITA), un factor de transcripción fundamental para la expresión de los antígenos clase II, se constituyen en importantes mecanismos desarrollados por las micobacterias patógenas para disminuir la respuesta celular específica antimicobacteriana. Estos mecanismos podrían ser la explicación molecular de los defectos en la presentación antigénica observados en monocitos y macrófagos de pacientes tuberculosos, además de representar sorprendentes estrategias desarrolladas por los patógenos intracelulares para alterar la respuesta inmune protectora.

### Objetivo

Durante los últimos años se han delineado los mecanismos moleculares implicados en la regulación de la expresión de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad.

Este avance ha permitido empezar a entender con mayor detalle como la infección por un diverso grupo de patógenos intracelulares, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, el virus de inmunodeficiencia humana HIV, y otros patógenos podrían alterar la capacidad de respuesta inmune de sus huéspedes. Esta revisión pretende informar a los profesionales de las áreas biomédicas acerca de esta fundamental área de interés.

### Material y método

Se revisaron diferentes publicaciones biomédicas especializadas en inmunología y biología molecular. Se evaluaron aquellas cuyos datos mostraran pertinencia y/o importancia con respecto a las consecuencias de la infección por un grupo diverso de patógenos intracelulares, sobre la expresión de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad.

### Síntesis de los datos

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) es un grupo de genes estrechamente relacionados, localizado en el cromosoma 6 humano (HLA), o el cromosoma 17 murino (H2-I) (Figura 1). Ellos comprenden dos familias principales: las moléculas denominadas clase I están compuestas de una cadena pesada de 45 kDa ( $\alpha$ ), y una cadena liviana de 12 kDa asociada no covalentemente, denominada  $\beta$ -2 microglobulina, cuya región codificadora no está localizada dentro de la región del MHC. La segunda familia, a la cual nos referiremos ampliamente en esta revisión, es la denominada clase II.

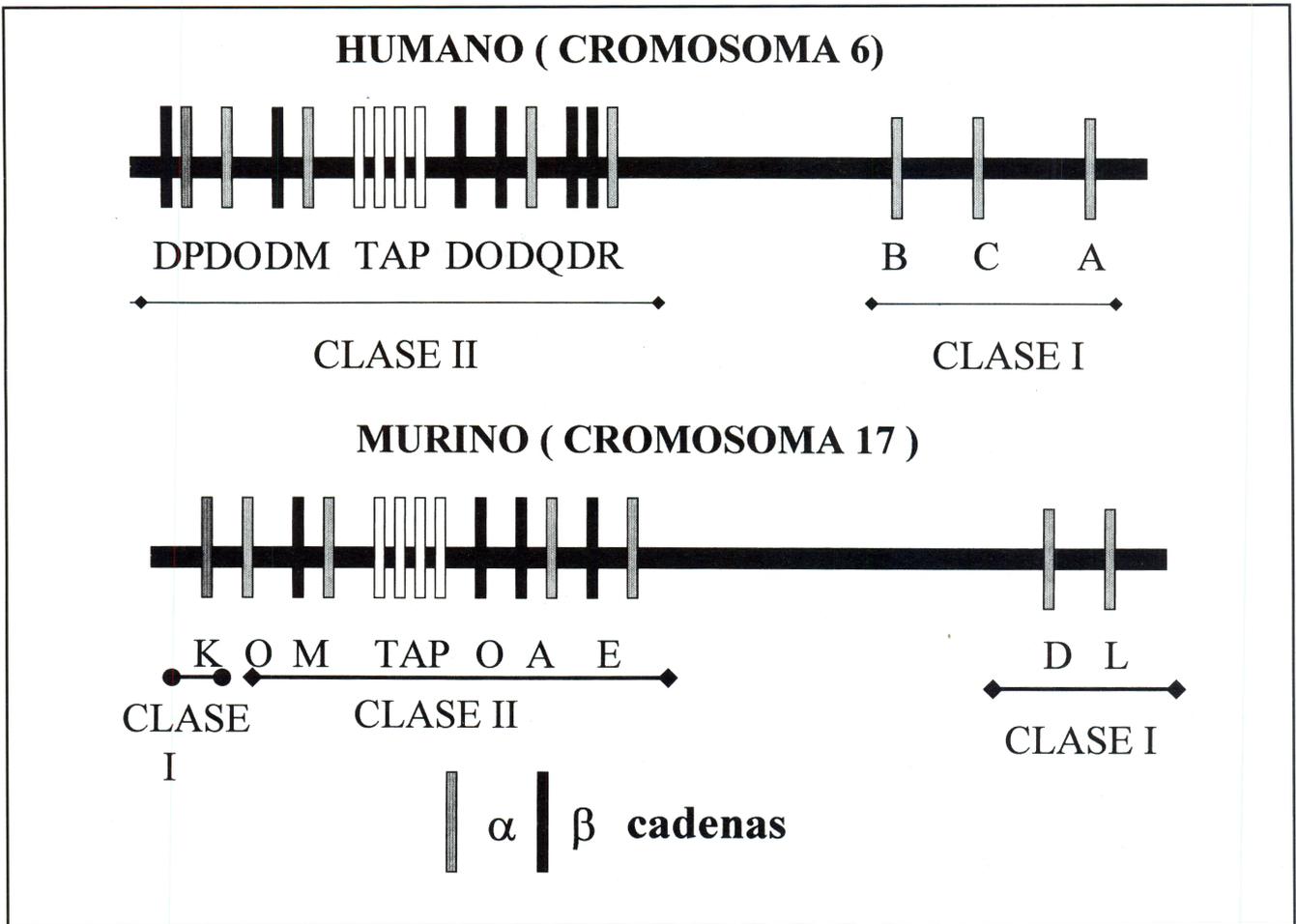
Los antígenos MHC clase II son glicoproteínas expresadas en forma codominante en las membranas celulares de las denominadas células presentadoras de antígenos (APC), incluidos macrófagos, células dendríticas y células B. Los antígenos clase II son heterodímeros formados por una cadena  $\alpha$ , y una cadena  $\beta$ , de 33 y 27 kDa, respectivamente. En humanos, tres isotipos de las moléculas clase II (HLA-DR, HLA-DQ, y HLA-DP), son coexpresadas en la superficie celular (Figura 2). En el sistema murino existen dos isoformas de estas moléculas, I-A e I-E, altamente homologas a las HLA-DQ y HLA-DR, respectivamente.

La función natural de las proteínas codificadas por el MHC es la presentación de péptidos antigénicos derivados, ya sea del procesamiento de antígenos internos (autoantígenos y antígenos de origen viral y tumoral), o de antígenos derivados de microorganismos fagocitados por las APC, procesados intracelularmente y reexpresados a través del MHC. El complejo péptido-MHC es reconocido específicamente por los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (restringidos por clase II) y T CD8<sup>+</sup> (restringidos por clase I), a través de su receptor para el antígeno (TCR). Este reconocimiento inicia una serie de respuestas que conducen finalmente, en situaciones normales, al control y/o la eliminación del agente patógeno. Además de su papel esencial en el reconocimiento de agentes invasores externos, el MHC controla los mecanismos de selección positiva y negativa en el timo, y por ende, la capacidad de los linfocitos T para reconocer antígenos de histocompatibilidad propios. Por tanto, la regulación apropiada de la expresión de los antígenos del MHC es indispensable para la homeostasis del sistema inmune.

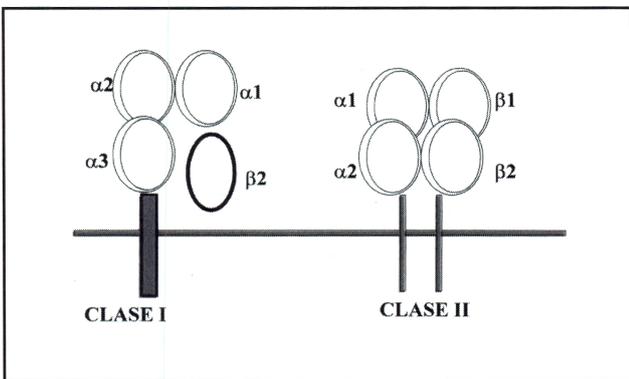
La expresión de las moléculas MHC clase II está estrictamente regulada. En el caso de los linfocitos B, ellas pueden ser expresadas o no, dependiendo del estadio de desarrollo ontogenético (1). En el caso de las células B maduras, citoquinas tales como la interleuquina 4 (IL-4) pueden inducir un incremento en la expresión de los antígenos clase II (2). En otro tipo de APC, el macrófago, la expresión de las moléculas clase II puede ser regulada positivamente por el interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Figura 3), su inductor más potente, o puede ser regulada negativamente por la acción del IFN- $\beta$  (3), la interleuquina 10 (IL-10) (4), y el factor transformador del crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (5,6).

### Regulación génica de la expresión de los antígenos MHC clase II

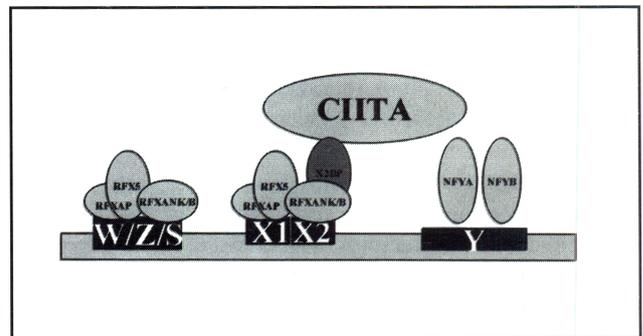
Análisis comparativos de las secuencias de las regiones promotoras de los genes MHC clase II humanos y murinos han mostrado una alta homología entre ellas, lo cual sugiere mecanismos reguladores similares. Estudios de la activación transcripcional de estos genes han identificado 4 elementos reguladores esenciales presentes en todos los promotores de los genes clase II estudiados, y denominados W(S), XI, X2, y Y (7) (Figura 4).



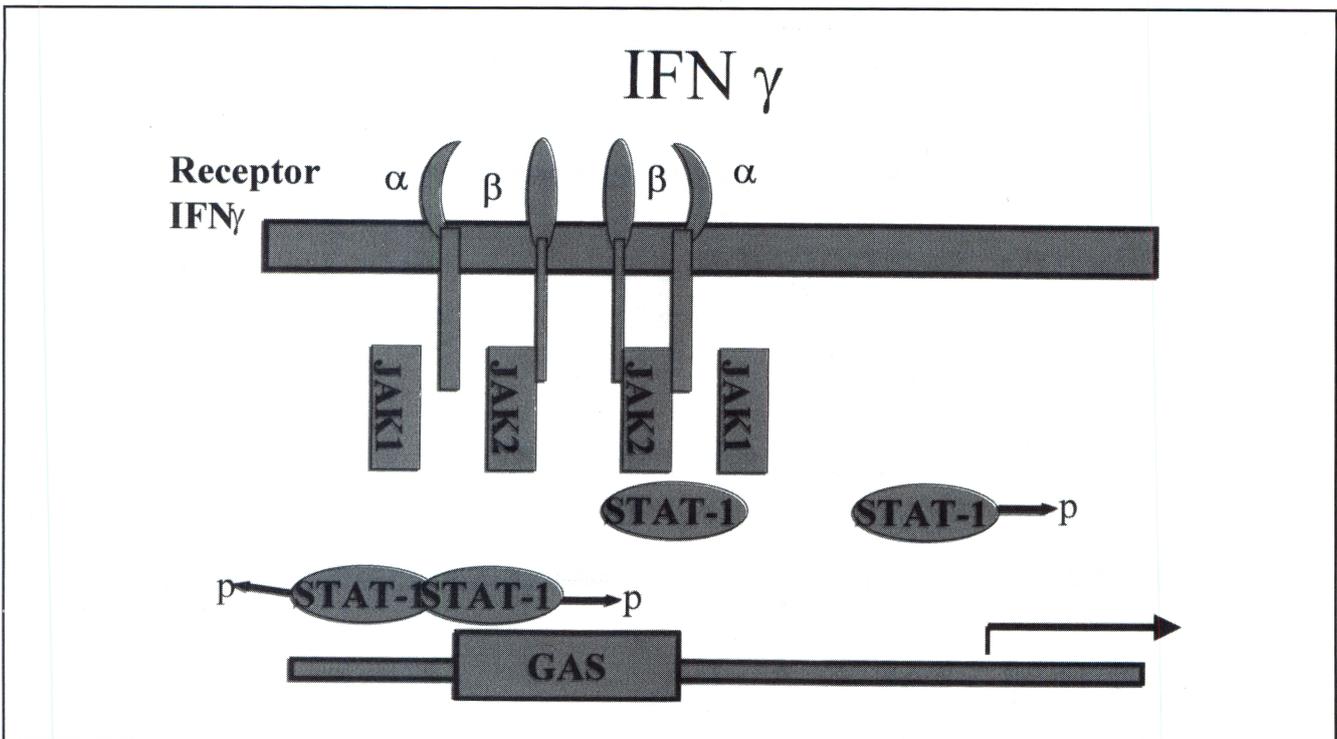
**Figura 1.** Mapa de la organización genómica de los genes del MHC humano y murino. Este diagrama muestra las posiciones relativas de los genes funcionales ( $\alpha$  y  $\beta$ ) y los pseudogenes ( $\psi$ ), en el cromosoma 6 humano y 17 murino. Obsérvese que en los humanos los genes MHC clase II están en localización telomérica, y difieren en este aspecto de los murinos. También se muestran algunos genes responsables del procesamiento y presentación del antígeno (Adaptado de MHC molecules, Urban R, Chiciz R).



**Figura 2.** Diagrama de las moléculas MHC clase I y clase II: los antígenos de histocompatibilidad clase I y II pertenecen a las moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas, caracterizada por la presencia de dominios de 85-95 aminoácidos enlazados por enlaces cisteína-cisteína intracatenarios. Las moléculas clase I presentan tres dominios globulares ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ) en adición al dominio intermembrana y al citoplasmático. Tanto las cadenas  $\alpha$ , como las cadenas  $\beta$  de los antígenos clase II presentan dos dominios globulares ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ), en adición al dominio intermembrana e intracitoplasmático. Los dominios  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ , y  $\beta 1$ , respectivamente en los cuales se encuentran agrupados la mayor cantidad de regiones variables (polimorfismo), son aquellos que establecen contacto con los péptidos antígenicos (Adaptado de Primer on the Rheumatic Disease).



**Figura 3.** El diagrama muestra los elementos comunes de regulación de la actividad de los genes MHC clase II. Estos elementos, denominados W(S,Z), X y Y, se localizan en los primeros 200 nucleótidos 5' del sitio de iniciación de la transcripción. El elemento X es contactado por el complejo RFX-5, RFXAP y RFX ANK/B y X2BP, el elemento Y es contactado por NF-Y y se postula que elemento W(S,Z) es contactado también por el complejo RFX. El transactivador de clase II se cree que contacta algunos de los factores que reconocen la caja X, así como también a factores del aparato general de la transcripción, particularmente algunos de los denominados TAFs. En el esquema no se indican los elementos contactados por el aparato general de la transcripción tales como la caja TATA, el iniciador(INR) u otros elementos que varían ampliamente en las regiones promotoras de los genes clase II (Adaptado de MHC molecules, Urban R, Chiciz R).



**Figura 4.** El receptor del IFN $\gamma$  (IFN $\gamma$ R) es un heterodímero compuesto por una cadena  $\alpha$  (IFN $\gamma$ R1) y una cadena  $\beta$  (IFN $\gamma$ R2). Cada cadena está constitutivamente asociada con una Protein Tyrosin Kinase (PTKs) que pertenecen a la familia de las Janus Kinasas (JAK). La cadena IFN $\gamma$ R1 del receptor está asociada con la JAK1 y la cadena IFN $\gamma$ R2 está asociada con la JAK2. El IFN $\gamma$  induce la oligomerización de las subunidades del IFN $\gamma$ R lo cual lleva a la transfosforilación y activación de las JAK1 y JAK2. Las JAKs activadas entonces fosforilan a Y440 del IFN $\gamma$ R1, creando un sitio de anclaje para el transductor de señal y activador de transcripción (STAT1). Durante su unión al receptor, el STAT1 es fosforilado en Y701 y es liberado del receptor formando un homodímero que se transloca al núcleo donde es capaz de unirse a secuencias definidas del DNA (GAS: lugar activado del interferon gamma) e iniciar la transcripción.

Estudios posteriores han identificado algunos de los factores de transcripción que modulan de manera positiva la expresión de estos genes. El elemento XI es contactado por un complejo denominado RFX, conformado por RFX-5 (75 kDa), RFXAP (RFX Accessory Protein) (36 kDa), y RFX-ANK/B (42 kDa) (8-11). El elemento X2 interactúa con el factor de transcripción denominado X2BP (X2 Binding Protein) (12). Este factor de transcripción es específicamente inmunoprecipitado con anticuerpos dirigidos contra el factor de transcripción CREB (cAMP-Response Element B) (12). Evidencias recientes indican que el CREB forma un complejo con el CBP (CREB-Binding Protein), que actúa como coactivador reconociendo algunos de los factores asociados a la transcripción (TAFs), que participan en el mecanismo de iniciación de la transcripción (13).

El elemento Y contiene la secuencia CCAAT, la cual se encuentra presente en diferentes promotores eucarióticos (ejemplo: albúmina, colágeno, lipoproteína lipasa) (2). En los promotores de los genes clase II esta secuencia es reconocida por un heterotrímero denominado NF-Y, compuesto por las subunidades NF-YA, NF-YB, y NF-YC, altamente conservadas a nivel evolutivo (7, 14).

El elemento W contiene siete nucleótidos (GGACCT, la denominada subregión S), conservados en el elemento X. Evidencias experimentales sugieren que el elemento W

podría ser reconocido por el complejo RFX, y similar a lo que acontece en el caso de la interacción de RFX con el elemento X, la interacción es estabilizada en presencia de NF-Y (7).

De particular importancia para el entendimiento de la regulación de la expresión de los antígenos clase II ha sido la clonación de la proteína denominada transactivador de clase II (CIITA) (15), actualmente propuesto como el principal controlador de la expresión de los antígenos clase II. El CIITA no posee dominio de interacción con el DNA (16) y su presencia o ausencia se asocia con la expresión de antígenos clase II (17-19). Evidencias recientes sugieren que el CIITA debe establecer contactos proteína-proteína con los factores de transcripción que contactan el elemento X, incrementando la estabilidad de estos complejos, y potenciando la frecuencia de eventos de iniciación de la síntesis de mRNA (9,20,21). Recientemente se han caracterizado las interacciones del CIITA con el TAFII<sub>32</sub> (20) y TAFII<sub>250</sub> (21), lo cual sugiere que el CIITA actúa como coactivador en los mecanismos de transcripción. La región promotora del CIITA ha sido descrita, y mediante ensayos de protección de RNasa se ha establecido que existen 4 tipos de regiones promotoras: el promotor tipo I que regula la expresión de los antígenos clase II en células dendríticas, el promotor tipo III, el cual regula la expresión en linfocitos B, y el promotor tipo IV que regula la expresión de clase II

en macrófagos. No se conoce en qué circunstancias o en qué tipos celulares podría estar activo el promotor tipo II (22).

### MHC clase II: infecciones intracelulares y regulación de su expresión

Las moléculas clase II se han asociado como predisponentes genéticos para la prevención o el desarrollo de patologías. Se han realizado alelos particulares con ciertas enfermedades, ya sea por compromiso directo de la molécula clase II en la etiología de la enfermedad, o de su desequilibrio de ligamiento con otros genes que facilitan el desarrollo de enfermedades (23, 24).

En el caso de la lepra, los análisis de segregación en varias poblaciones humanas sugieren una relación de alelos particulares de los antígenos clase II con el desarrollo de ciertas formas de enfermedad. Los pacientes con lepra tuberculoide, la forma localizada e hiperactiva de la enfermedad, presentan una reacción dérmica positiva a la lepromina, y una respuesta proliferativa vigorosa de sus linfocitos de sangre periférica en respuesta hacia antígenos micobacterianos. Sin embargo, muy pocos bacilos ácido-alcohol resistentes son detectados en las lesiones de la piel. En contraposición, en los pacientes con lepra lepromatosa, la forma diseminada de la lepra, los macrófagos presentes en las lesiones presentan gran cantidad de bacilos ácido-alcohol resistentes, la reacción a la lepromina está ausente, y la proliferación de linfocitos T hacia antígenos específicos está reducida o ausente. Estudios de ligamiento (familias) o poblacionales han asociado la forma tuberculoide de la enfermedad con la presencia de los antígenos HLA-DR2 y HLA-DR3 (23).

Comparativamente, los estudios para determinar la asociación de los antígenos MHC clase II con el desarrollo y el tipo de tuberculosis, han sido menos conclusivos. La existencia de factores heredados que contribuyen a la susceptibilidad a las infecciones causadas por *M. tuberculosis* ha sido postulada por décadas. Estudios relacionados con diferencias raciales en resistencia y susceptibilidad hacia la tuberculosis indican que los afroamericanos son más susceptibles a la invasión con *M. tuberculosis*, mientras que los judíos Ashkenazi parecen ser resistentes a ella (25). Estudios *in vitro* en macrófagos derivados de monocitos humanos han mostrado que los macrófagos de individuos de raza blanca permiten una replicación menos rápida de *M. tuberculosis* que aquellos derivados de individuos de raza negra (26). Algunos estudios en familias han reportado asociación de HLA con tuberculosis pulmonar. En la India se ha encontrado una asociación preferencial con HLA-DR2, mientras que el HLA-DR3 se ha encontrado en frecuencias menores en pacientes con tuberculosis pulmonar que en individuos controles (24).

Los trastornos en la regulación de la expresión de los antígenos clase II pueden tener consecuencias dramáticas en la resistencia a infecciones intracelulares. Uno de los

ejemplos más ilustrativos está representado por los múltiples defectos encontrados en los individuos que sufren del síndrome del linfocito desnudo (BLS), una inmunodeficiencia primaria tipo II que se caracteriza por la ausencia de HLA clase II en la mayoría de los tejidos. En estos individuos las manifestaciones clínicas se presentan generalmente durante el primer año de vida, usualmente con infecciones broncopulmonares recurrentes y diarrea crónica. La edad media de deceso es 4 años, siendo principalmente causada por infecciones virales (enterovirus, adenovirus, o herpes virus) (27). Los estudios a nivel molecular indican que el defecto se debe a la falta de expresión de proteína y mRNA para los antígenos HLA clase II en ausencia de defectos evidentes en las regiones codificadoras para estos genes. Más recientemente se ha demostrado que la falta de expresión de estos antígenos se debe a la falta de expresión de uno cualquiera de los cuatro factores de transcripción esenciales en la activación transcripcional de los genes clase II: CIITA (17,28), RFX5 (29), RFXAP (9, 30), y RFX-ANK/B (31, 32).

En la actualidad existe suficiente evidencia experimental que muestra que las infecciones intracelulares con virus, protozoos parásitos y micobacterias modulan la expresión de las moléculas clase II (33). La infección de macrófagos murinos con citomegalovirus (CMV) resultó en una disminución significativa en la proliferación de linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos. Esta inhibición se correlaciona con una expresión superficial reducida de antígenos clase II y una disminución simultánea en los niveles de mRNA para I-A $\beta$  (34). Una inhibición similar en la expresión de antígenos clase II inducida por el IFN- $\gamma$  se observa en macrófagos peritoneales infectados con el protozoo parásito *Leishmania donovani* (35). Experimentos recientes utilizando macrófagos de médula ósea infectados con *Toxoplasma gondii* mostraron que la disminución en la expresión de los antígenos clase II no fue debida a la presencia de niveles incrementados de prostaglandina E2, IL-10, TGF- $\beta$ 1, u óxido nítrico (36). Estos resultados indican que más de un mecanismo podría explicar la inhibición en la expresión de los antígenos clase II en macrófagos infectados.

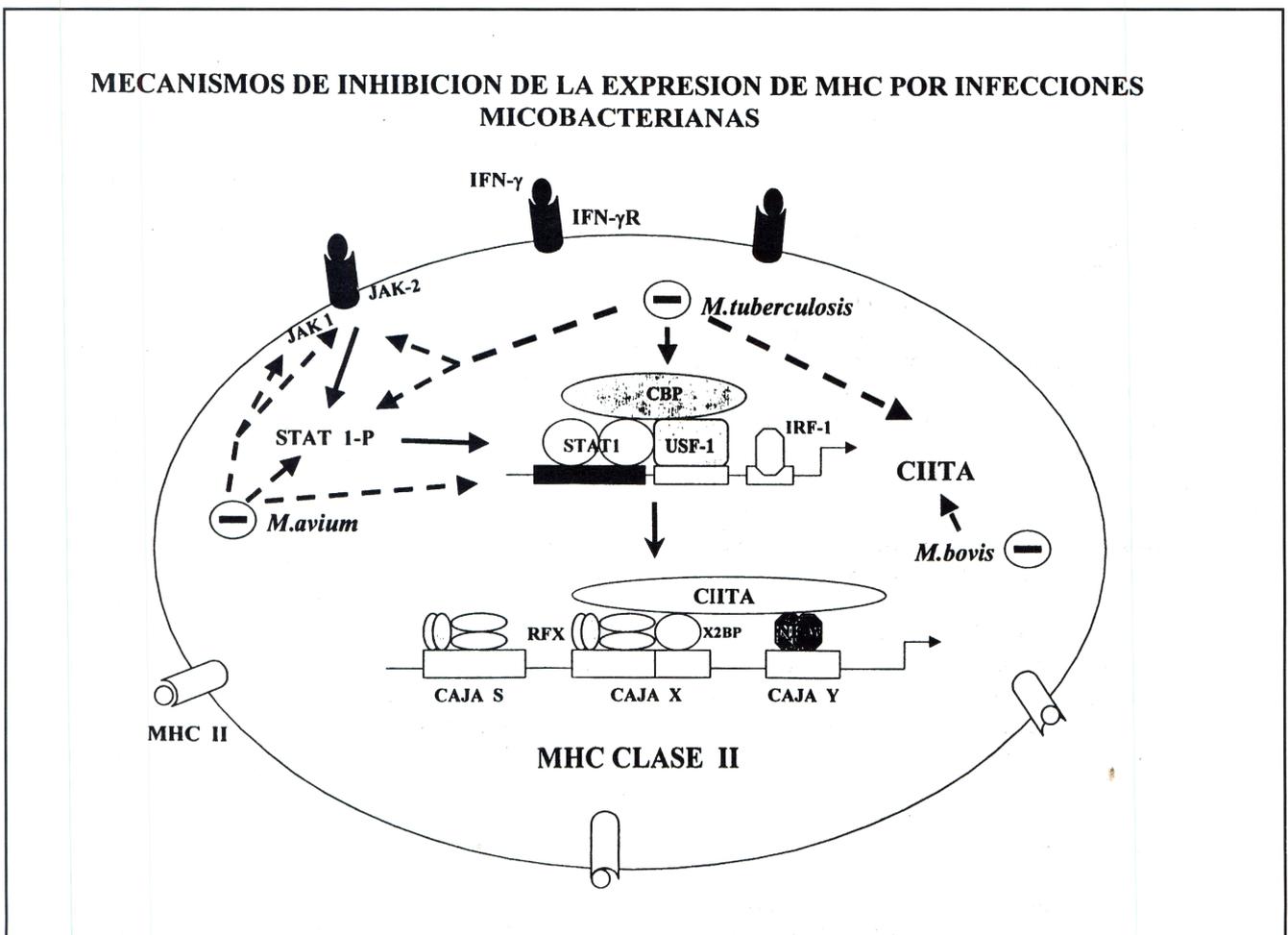
Los mecanismos moleculares por medio de los cuales las infecciones micobacterianas inhiben la expresión de los antígenos MHC clase II apenas comienzan a ser explorados. Reportes previos utilizando macrófagos peritoneales residentes, infectados con *M. kansasii*, muestran una reducción significativa en el porcentaje de células expresando antígenos clase II inducidos con IFN- $\gamma$ . Esta inhibición se correlaciona con una proliferación reducida de células T específicas en presencia de antígenos micobacterianos (37). Esta disminución en la expresión de los antígenos clase II podría traer consecuencias funcionales importantes durante el desarrollo de la enfermedad. Por ejemplo, en pacientes infectados con *M. tuberculosis* se ha observado una reducción significativa en la expresión de moléculas HLA-DR, especialmente en aquellos que presentan respuestas dismi-

nuidas de los linfocitos de sangre periférica al PPD (38). Observaciones similares han sido reportadas utilizando monocitos de individuos sanos infectados con *M. tuberculosis* (39).

La disección molecular del fenómeno de la inhibición de las moléculas clase II por patógenos intracelulares sólo se ha podido realizar durante los últimos tres años, y se muestra un esquema de los principales mecanismos encontrados en la Figura 5. La infección de macrófagos peritoneales murinos con *M. avium* resultó en una reducción en los niveles de proteína superficial y de mRNA para I-E<sub>B</sub>, y de los factores de transcripción IRF-1 y CIITA (40). Esta disminución se correlacionó con la disminución en los niveles de fosforilación en tirosina de (Janus Kinasa) JAK1, JAK2, y STAT 1, los cuales fueron explicados por la disminución en la expresión del IFN- $\gamma$ R.

Se ha reportado una reducción en los niveles de mRNA para CIITA en líneas celulares de macrófagos murinos infectadas con *M. bovis* BCG (41). La disminución de la expresión de CIITA serían el evento crítico de esta vía de inhibición. Se han propuesto alteraciones en la vía JAK-STAT para la inhibición de la expresión de los antígenos clase II en líneas celulares de origen epitelial infectadas con citomegalovirus (42).

Sin embargo, otros mecanismos diferentes a la afectación de la vía JAK-STAT han sido descritos. En la línea mielomonocítica de origen humano THP-1, la infección con *M. tuberculosis* resultó en la inhibición de la expresión de HLA-DR en ausencia de niveles alterados de CIITA (43). En su lugar, los autores encontraron que la infección resultó en un transporte y procesamiento defectuosos de las moléculas clase II en los compartimentos



**Figura 5.** Los microorganismos intracelulares utilizan múltiples vías para lograr la inhibición de la expresión de las moléculas del MHC. La infección con *M. avium* induce una reducción en los niveles de proteína superficial y de mRNA para I-E<sub>B</sub>, y de los factores de transcripción IRF-1 y CIITA como consecuencia de la disminución en los niveles de fosforilación en tirosina de JAK1, JAK2, y STAT 1. La disminución en la transducción de señales a través de la vía JAK-STAT sería una consecuencia de la disminución de la expresión del IFN- $\gamma$ R (40). La infección con *M. tuberculosis* no interfiere con la vía JAK-STAT, pero sí induce una inhibición de la asociación inducida por el IFN- $\gamma$  de STAT 1 con el coactivador CBP/p300, esencial para la expresión de CIITA (44). En el caso de la infección por *Chlamydia trachomatis*, la inhibición de la expresión de los antígenos clase II se correlaciona con una degradación acelerada del factor de transcripción USF-1 necesario para la expresión de CIITA (45). En el caso de infecciones virales, la disminución de la expresión de los antígenos clase II se ha correlacionado con alteraciones en la vía de transducción de señales mediada por JAK-STAT (CMV) (42), o con la habilidad del transactivador de origen viral Tat, para competir con CIITA por el factor de elongación p-TEFb, necesario para la activación de la transcripción de los genes MHC clase II (46). Una reducción en los niveles de mRNA para CIITA también ha sido reportado en líneas celulares de macrófagos murinos infectadas con *M. bovis* BCG (41).

endosomales. De otro lado, en monocitos humanos infectados con *M. tuberculosis* el mecanismo descrito (44), sugiere una inhibición de la asociación inducida por el IFN- $\gamma$  de STAT 1 con el coactivador CBP/p300, aparentemente esencial para la expresión de CIITA. En este caso, los eventos proximales de la vía JAK-STAT no fueron afectados por la infección. Se ha encontrado otro mecanismo diferente en macrófagos infectados con la bacteria *Chlamydia trachomatis* (45). En este caso, la inhibición de la expresión de los antígenos clase II fue asociada con la disminución de la expresión de CIITA como consecuencia de una degradación acelerada del factor de transcripción USF-1, necesario para la síntesis del mRNA para CIITA. Más recientemente, se ha propuesto un mecanismo por medio del cual la infección de macrófagos humanos con HIV-1 disminuye la expresión de las moléculas MHC clase II (46). En este caso, el transactivador Tat de origen viral estaría compitiendo por uno de los componentes del factor de elongación P-TEFb que interactúa con CIITA en el promotor de clase II, con la subsecuente reducción en la expresión de estas moléculas.

Las alteraciones bioquímicas presentes en macrófagos infectados con micobacterias virulentas, o tratados con productos derivados de las paredes celulares micobacterianas, han empezado a ser examinadas. Por ejemplo, el lipoarabinomano manosilado (manLAM), el principal componente de las paredes celulares de las micobacterias virulentas, activa la proteína tirosina fosfatasa SHP-1 en monocitos humanos. La exposición de macrófagos a manLAM disminuye la expresión de TNF- $\alpha$ , interleuquina 12 (IL-12), y antígenos clase II, sugiriendo que los mecanismos por medio de los cuales manLAM desactiva el macrófago involucra la activación de SHP-1 (47). Además de la posible inducción de proteína tirosina fosfatasas, recientemente se descubrió la presencia de mecanismos de regulación por retroalimentación de la fosforilación de las JAKs. La denominada familia de proteínas "supresoras de la actividad de las citoquinas" (SOCS), y uno de sus miembros, el "inhibidor de la señal de citoquinas" (CIS) se unen con el dominio fosforilado de JAK-2, posiblemente bloqueando su acción sobre sus ligandos (48). Un mecanismo similar ha sido reportado para STAT 1. En este caso, el "inhibidor proteico de STAT activado" (PIAS) reconoce la forma fosforilada de STAT 1, y de esta forma bloquea el reconocimiento específico de las secuencias reguladoras en el DNA (49). Aún no se conoce si SOCS, CIS, o PIAS podrían desempeñar un papel importante en la regulación de la actividad de la vía JAK-STAT en las infecciones con micobacterias.

Además de la interferencia con el aparato transcripcional responsable de la expresión de los antígenos clase II, podrían estar involucrados otros mecanismos indirectos en su inhibición por la infección con microorganismos de replicación intracelular. Evidencias recientes indican que tanto la expresión constitutiva como

inducible de los antígenos clase II es inhibida por el TGF $\beta$ -1 en células de melanoma, astroglioma, astrocitos, microglia y células epiteliales (6). En este caso, el TGF $\beta$ -1 modula negativamente la expresión de los antígenos clase II inducida por IFN- $\gamma$  mediada por la modulación negativa de la síntesis del mRNA para CIITA. Puesto que la infección *in vitro* con micobacterias, incluyendo *M. tuberculosis*, induce la producción de TGF- $\beta$ 1 (50-52), es razonable asumir que el TGF- $\beta$ 1 participa en la disminución de la expresión de los antígenos clase II, y por tanto, la presencia del TGF- $\beta$ 1 podría ser un factor importante en la supervivencia intracelular de la bacteria, así como también en la disminución de la respuesta inmune específica del hospedero. De otro lado, monocitos y macrófagos de granulomas de pacientes con tuberculosis activa expresan y producen más TGF- $\beta$ 1 que aquellos provenientes de individuos sanos (51, 52). Similar al TGF- $\beta$ 1, la IL-10 también puede inhibir la expresión inducida de los antígenos clase II (4). Sin embargo, en este último caso el mecanismo de reducción es de tipo postranslacional. Koppelman y cols. (4) mostraron que el tratamiento de monocitos con IL-10 condujo a una acumulación de complejos clase II-antígeno en los MHCs, con la subsecuente reducción en la expresión superficial de ellos.

En nuestro laboratorio, hemos estado investigando, utilizando un modelo *in vitro*, las consecuencias de la infección de macrófagos murinos con *M. tuberculosis*, sobre la expresión de los antígenos MHC clase II, inducidos con IFN- $\gamma$ . Nuestras observaciones implican que la infección de macrófagos con *M. tuberculosis* conlleva a una reducción en la expresión superficial y de mRNA para los antígenos clase II, la cual se correlaciona con una alteración de la vía JAK-STAT, y con una disminución en la expresión de CIITA.

Las alteraciones causadas por las infecciones micobacterianas en la vía de transducción de señales inducida por el interferon  $\gamma$ , pone de manifiesto la importancia que esta citoquina tiene en el control de la multiplicación de estos organismos intracelulares. En los últimos años se ha estado acumulando evidencia que implica a las mutaciones en las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del receptor para el IFN- $\gamma$  con una susceptibilidad incrementada a las infecciones con micobacterias normalmente no patógenas para los seres humanos, incluyendo *M. bovis* BCG, *M. avium*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* y *M. smegmatis* (53, 54).

## Conclusiones

1. Las infecciones intracelulares inducen cambios en las células huéspedes, que facilitan la supervivencia de los microorganismos y como consecuencia alteraciones en la respuesta inmune específica.
2. Una de las principales estrategias desarrolladas por ciertos microorganismos de replicación intracelular es la interferencia con la generación de la inmunidad adquirida. La inhibición de la expresión de los antígenos

MHC podría representar un mecanismo fundamental para la supervivencia de estos microorganismos.

3. La inhibición de la expresión del factor de transcripción CIITA, crítico en la regulación de la expresión de los antígenos clase II, subsecuente a la infección, parece ser un paso fundamental en esta inhibición.
4. La interferencia con la transducción de señales generadas a través del receptor del IFN  $\gamma$ , particularmente de la denominada vía JAK-STAT, podría explicar la modulación negativa de CIITA, y por tanto, de la expresión de los genes MHC.
5. Mecanismos adicionales, tales como el aumento en la producción de TGF  $\beta$  y/o IL-10, como respuesta a la infección también podrían participar en la disminución de la respuesta inmune observada en individuos afectados por infecciones intracelulares.

### Summary

**Objective:** To review recent literature concerning the modulation of the expression of Major Histocompatibility Complex (MHC) class II molecules by intracellular parasites and the possible outcome on disease and pathology.

**Source of data:** Results obtained from original papers published in the major immunology and molecular biology journals addressing directly the issue were selected, as well as comprehensive reviews published by leading experts in the specific area of research.

**Data selection:** All data were collected from original papers addressing the consequences of intracellular infection on MHC class II antigen expression during last 20 years, mainly those related to mycobacterial infections.

**Extraction of data:** All data were included by relevance in areas such as MHC expression regulation, interferon-gR signal transduction, protein tyrosin phosphorylation and dephosphorylation, cytokine control of MHC gene expression, and alterations of MHC gene expression by intracellular pathogens, mainly in macrophages.

**Summary of the data:** MHC class II genes encode for critical molecules implied in the generation of acquired immunity, and therefore in the efficient control of intracellular parasites. The recent understanding of the detailed molecular mechanisms governing MHC expression has opened the way to better understand the molecular mechanisms by which intracellular parasites, including *Mycobacterium tuberculosis*, the causative agent of Tuberculosis in humans, as well as virus and protozoan parasites, are able to negatively modulate key components of host defense. Furthermore, the collected evidence so far also points to the fact that a diverse group of taxonomically diverse pathogens have developed common strategies to subvert the immune recognition by the host.

**Conclusions:** A diverse group of intracellular pathogens, including *M. tuberculosis*, have developed mechanisms inhibiting MHC expression mainly by interfering with signal transduction events critical for expression of class II and

class I genes. The observed alterations on MHC expression may partially explain the immune dysfunction observed in patients suffering from Tuberculosis, HIV, Trachoma, or other infectious diseases caused by intracellular microorganisms.

**Key words.** *Major histocompatibility complex, MHC, intracellular infections.*

### Referencias

1. Henderson A, Cañame K. Transcriptional regulation during B cell development. *Annu Rev Immunol* 1998; **16**:163-200.
2. Glimcher LH, Kara CJ. Sequences and factors: A guide to MHC class-II transcription. *Annu Rev Immunol* 1992; **10**:13-49.
3. Lu H, Riley JL, Babcock GT, Huston M, Stark GR, Boss JM, et al. Interferon (IFN)  $\gamma$  acts downstream of IFN- $\gamma$ -induced class II transactivator messenger RNA accumulation to block major histocompatibility complex class II gene expression and requires the 48-kD DNA-binding protein, ISGF3-g. *J Exp Med* 1995; **182**:1517-1525.
4. Koppelman B, Neeffjes JJ, de Vries JE, de Wall Malefyt R. Interleukin-10 down-regulates MHC class I and II peptide complexes at the plasma membrane of monocytes by affecting arrival and recycling. *Immunity* 1997; **7**:861-871.
5. Ting JP, Baldwin AS. Regulation of MHC gene expression. *Curr Opin Immunol* 1993; **5**:8-16.
6. Lee Y, Han Y, Lu H, Nguyen V, Qin H, Howe PH, et al. TGF- $\beta$  suppresses IFN- $\gamma$  induction of class II MHC gene expression by inhibiting class II transactivator messenger RNA expression. *J Immunol* 1997; **158**:2065-2075.
7. Boss JM: Regulation of transcription of MHC class II genes. *Curr Opin Immunol* 1997; **9**:107-113.
8. Durand B, Sperisen P, Emery P, Barras E, Zufferey M, Mach B, et al. RFXAP, a novel subunit of the RFX DNA binding complex is mutated in MHC class II deficiency. *EMBO J* 1997; **16**:1045-1055.
9. Scholl T, Mahanta SK, Strominger JL. Specific complex formation between the type II bare lymphocyte syndrome-associated transactivators CIITA and RFX5. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**:6330-6334.
10. Clausen BE, Waldburger JM, Schwenk F, Barras E, Mach B, Rajewsky K, et al. Residual MHC class II expression on mature dendritic cells and activated B cells in RFX-5 deficient mice. *Immunity* 1998; **8**:157-166.
11. Moreno CS, Emery P, West JE, et al. Purified X2 binding protein (X2BP) cooperatively binds the class II MHC X box region in the presence of purified RFX, the X box factor deficient in the bare lymphocyte syndrome. *J Immunol* 1995; **155**:4313-4321.
12. Moreno CS, Beresford GW, Louis-Pence P, Durand B, Reith W, Mach B, et al. CREB regulates MHC class II expression in a CIITA-dependent manner. *Immunity* 1999; **10**:143-151.
13. Verrijzer CP, Tjian R. TAFs mediate transcriptional activation and promoter selectivity. *TIBS* 1996; **21**:338-342.
14. Benoist C, Mathis D. Regulation of major histocompatibility complex class II genes: X, Y and other letters of the alphabet. *Annu Rev Immunol* 1990; **8**:681-715.
15. Steimle V, Otten LA, Zufferey M, Mach B. Complementation cloning of an MHC class II transactivator mutated in hereditary MHC class II deficiency (or Bare Lymphocyte Syndrome). *Cell* 1993; **75**:135-146.
16. Steimle V, Siegrist C, Mottet A, Lisowska-Graspierre B, Mach B. Regulation of MHC class II expression by IFN $\gamma$  mediated by the transactivator gene CIITA. *Science* 1994; **265**:106-109.
17. Chang CH, Guerdier S, Hong S, van Ewijk W, Flavell RA. Mice lacking the MHC class II transactivator (CIITA) show tissue-specific impairment of MHC class II expression. *Immunity* 1996; **4**:167-178.
18. Zhou H, Glimcher LH. Human MHC class II gene transcription directed by the carboxyl terminus of CIITA, one of the defective genes in type II MHC combined immune deficiency. *Immunity* 1995; **2**:545-553.
19. Wright KL, Chin KC, Linhoff M, Skinner C, Brown JA, Boss JM, et al. CIITA stimulation of transcription factor binding to major histocompatibility complex class II and associated promoters *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**:6267-6272.
20. Fontes JD, Jiang B, Peterlin BM. The class II transactivator CIITA interacts with the TBP-associated factor TAF<sub>II</sub>32. *Nucleic Acid Res* 1997; **25**:2522-2528.
21. Mahanta SK, Scholl T, Yang F, et al. Transactivation by CIITA, the type II bare lymphocyte syndrome-associated factor, requires participation of multiple

- regions of the TATA box binding protein. *Proc Natl Acad sci USA* 1997; **94**:6324-6329.
22. Muhlethaler-Mottet A, Otten LA, Steimle V, Mach B. Expression of MHC class II molecules in different cellular and functional compartments is controlled by differential usage of multiple promoters of the transactivator CIITA. *EMBO J* 1997; **16**:2851-2860
  23. Gorga JC, Monos D. HLA and disease: molecular basis, in Urban RG, Chiciz RM (eds): MHC molecules. Expression, assembly, and function. Austin, R.G. Landes, 1996:135-155.
  24. Meyer CG, May J, Stark K. Human leukocyte antigens in tuberculosis and leprosy. *Trends Microbiol* 1998; **6**:148-154.
  25. O'Brien S, Jackett PS, Lowrie DB, Andrew PW. Guinea-pig alveolar macrophages kill *Mycobacterium tuberculosis in vitro*, but killing is independent of susceptibility to hydrogen peroxide or triggering of respiratory burst. *Microbial Pathogenesis* 1991; **10**:199-207.
  26. Crowle AJ, Elkins N. Relative permissiveness of macrophages from black and white people for virulent tubercle bacilli. *Infect Immun* 1990; **58**:632-638.
  27. Reith W, Steimle V, Mach B. Molecular defects in the bare lymphocyte syndrome and regulation of MHC class II genes. *Immunology Today* 1995; **16**:539-545.
  28. Cressman DE, Chin KC, Taxman DJ, Ting JP. A defect in the nuclear translocation of CIITA causes a form of type II bare lymphocyte syndrome. *Immunity* 1999; **10**:163-171.
  29. Steimle V, Durand B, Barras E, Zufferey M, Hadam MR, Mach B, et al. A novel DNA-binding regulatory factor is mutated in primary MHC class II deficiency (bare lymphocyte syndrome). *Genes Dev* 1995; **9**:1021-1032.
  30. Villard J, Lisowska-Groszpierska B, van den Elsen P, Fischer A, Reith W, Mach B. Mutation of RFXAP, a regulator of MHC class II genes, in primary MHC class II deficiency. *N Engl J Med* 1997; **337**:748-753.
  31. Masternak K, Barras E, Zufferey M, Conned B, Carthais G, Aebesgold R, et al. A gene encoding a novel RFX-associated transactivator is mutated in the majority of MHC class II deficient patients. *Nat Genet* 1998; **20**:273-277.
  32. Nagarajan UM, Louis-Pence P, DeSandro A, Nilsen R, Buschey A, Boss JM. *RFX-B* is the gene responsible for the most common cause of the bare lymphocyte syndrome, an MHC class II immunodeficiency. *Immunity* 1999; **10**:153-162.
  33. Keller R, Keist R, Joller P. Macrophage response to microbial pathogens: modulation of the expression of adhesion CD 14, and MHC class II molecules by viruses, bacteria, protozoa and fungi. *Scand J Immunol* 1995; **42**:337-344.
  34. Heise MT, Connick M, Virgin IV HW. Murine cytomegalovirus inhibits interferon  $\gamma$ -induced antigen presentation to CD4 T cells by macrophages via regulation of expression of major histocompatibility complex class II-associated genes. *J Exp Med* 1998; **187**:1037-1046.
  35. Reiner NE, Ng W, Ma T, McMaster WR. Kinetics of  $\gamma$  interferon binding and induction of major histocompatibility complex class II mRNA in *Leishmania*-infected macrophages. *Proc Natl Acad sci USA* 1988; **85**:4330-4334.
  36. Luder CG, Lang T, Beuerle B, Gross U. Down-regulation of MHC class II molecules and inability to up-regulate class I molecules in murine macrophages after infection with *Toxoplasma gondii*. *Clin Exp Immunol* 1998; **112**:308-316.
  37. Mshana RN, Hastings RC, Krahenbuhl JL. Infection with live mycobacteria inhibits *in vitro* detection of Ia antigen on macrophages. *Immunobiol* 1988; **177**:40-54.
  38. Twardy DJ, Schacter BZ, Ellner JJ. Association of altered dynamics of monocyte surface expression of human leukocyte antigen DR with immunosuppression in tuberculosis. *J Infect Dis* 1984; **149**:31-37.
  39. Gercken J, Pryjma J, Ernst M, Flad HD. Defective antigen presentation by *Mycobacterium tuberculosis*-infected monocytes. *Infect Immun* 1994; **62**:3472-3478.
  40. Hussain S, Zwilling BS, Lafuse WP. *Mycobacterium avium* infection of mouse macrophages inhibits IFN  $\gamma$  Janus kinase-STAT signaling and gene induction by Down regulation of the IFN  $\gamma$  receptor. *J Immunol* 1999; **163**:2041-2048.
  41. Wojciechowski W, Desantis J, Skamene E, Radziach D. Attenuation of MHC class II expression in macrophages infected with *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin involves class II transactivator and depends on the Nramp-1 gene. *J Immunol* 1999; **163**:2688-2696.
  42. Miller DM, Rahill BM, Boss JM, Laird MD, Durbin JE, Waldman WJ. Human Cytomegalovirus inhibits Major Histocompatibility Complex Class II Expression by Disruption of the Jak/Stat Pathway. *J Exp Med* 1998; **5**: 675-683.
  43. Hmama Z, Gabathuler R, Jefferies WA, De Jong G, Reiner NE. Attenuation of HLA-DR expression by mononuclear phagocytes infected with *Mycobacterium tuberculosis* is related to intracellular sequestration of immature class II heterodimers. *J Immunol* 1998; **161**: 4882-4893.
  44. Ting L, Kim AC, Cattamanchi A, Ernst JD. *Mycobacterium tuberculosis* inhibits IFN  $\gamma$  transcriptional response without inhibiting activation of STAT1. *J Immunol* 1999; **163**: 3898-3906.
  45. Zhong G, Fan T, Liu L. Chlamydia inhibits IFN  $\gamma$  inducible major histocompatibility complex class II expression by degradation of upstream stimulatory factor 1. *J Exp Med* 1999; **189**: 1931-1935.
  46. Kanazawa S, Okamoto T, Peterlin BM. Tat competes with CIITA for the binding to P-TEFb and blocks the expression of MHC class II genes in HIV infection. *Immunity* 2000; **12**:61-70.
  47. Knutson KL, Hmama Z, Herrera-Velitz P, Rochford R, Reiner NE. Liparabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis* promotes protein tyrosine dephosphorylation and inhibition of mitogen-activated protein kinase in human mononuclear phagocytes. Role of the Src homology 2 containing tyrosine phosphatase 1. *J Biol Chem* 1998; **273**:645-652.
  48. Hilton D J. Negative regulators of cytokine signal transduction. *Cell Mol Life sci* 1999; **55**: 1568-1577.
  49. Naka T, Fujimoto Minoru, Kishimoto T. Negative regulation of cytokine signaling: STAT-induced STAT inhibitor. *TIBS* 1999; **10** :394-398.
  50. Bermudez LE. Production of transforming growth factor- $\beta$  by *Mycobacterium avium*-infected human macrophages is associated with unresponsiveness to IFN- $\gamma$ . *J Immunol* 1993; **150**:1838-1845.
  51. Warwick-Davies J, Lowrie DB, Cole PJ. Selective deactivation of human monocyte functions by TGF- $\beta$ . *J Immunol* 1995; **155**:3186-3193.
  52. Toossi Z, Gogate P, Shiratsuchi H, Young T, Ellnes JJ. Enhanced production of TGF- $\beta$  by blood monocytes from patients with active tuberculosis and presence of TGF- $\beta$  in tuberculous granuloma lung lesions. *J Immunol* 1995; **154**:465-473.
  53. Ottenhoff THM, Kumararatne D, and Casanova, J-L: Novel human immunodeficiencies reveal the essential role of type-I cytokines in immunity to intracellular bacteria. *Immunology Today* 1998; **11**:491-494.
  54. Dormán SE, and Holland SM: Mutations in the signal-transducing chain of the interferon-gamma receptor and susceptibility to mycobacterial infection. *J Clin Invest* 1998; **101**:2364-2369.