Revisión

Biología celular y molecular del mastocito

María Concepción Castells

Assistant Professor of Medicine, Harvard Medical School, Boston. Associate Staff Alergist, DIT Medical Services, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA

Los mastocitos son células efectoras que proveen mediadores granulares y moléculas de membrana, así como citocinas, en las enfermedades alérgicas e inflamatorias. La fisiología de los mastocitos ha avanzado con el estudio de las moléculas de superficie como los receptores de la familia de las immunoglobulinas y las moléculas de adhesión. Se han definido los receptores de activación y de inhibición que tienen un papel relevante en el mantenimiento de la actividad funcional celular. La respuesta anafiláctica en los ratones deficientes en IgE *in vivo* ha confirmado la participación activa de la IgG y los receptores de IgG en las reacciones de hipersensibilidad inmediata. Se ha establecido un rol activo para los mastocitos en la presentación de antígeno a las células T y se ha demostrado la interacción entre mastocitos y células B influenciando la síntesis de IgE por éstas. Estudios recientes han indicado un rol protector en la peritonitis aguda séptica mediada por los mastocitos y sus citocinas, incluyendo TNF alfa.
Así como los mastocitos maduros se reconocen con facilidad en los tejidos periféricos, se sabe poco del fenotipo de los mastocitos precursores e inmaduros, del proceso de migración desde la médula ósea hasta los tejidos y de los factores que modulan el proceso. Este artículo de revisión describe los últimos avances en la biología y ontogenia de los mastocitos humanos y de ratón.

Mast cells: Molecular and cell biology

Mast cells are important effector cells providing granule and membrane mediators as well as cytokines in allergic and inflammatory diseases. The study of surface molecules such as immunoglobulin receptors and adhesion molecules has greatly expanded our understanding of mast cell physiology. Activatory and inhibitory receptors have been defined with critical roles in maintaining cell functional activity. Anaphylactic responses in IgE deficient mice have confirmed in vivo that mast cell IgG receptors can be involved in immediate hypersensitivity reactions. An active role for mast cells in antigen presentation to T cells has recently been shown, and direct interaction between mast cells and B cells providing signals for specific IgE production has been demonstrated. Mast cells have a protective role in acute septic peritonitis which is mediated in part by their major cytokine, TNF alpha.
Although metachromatic mast cells are easily recognized in peripheral tissues, little is known about the phenotype of their precursors, their fate from the bone marrow to the tissues, the migration and homing processes and the factors and adhesion molecules that affect those processes. This review will describe recent advances in mouse and human mast cells biology and ontogeny.

ONTOGENIA Y DESARROLLO

Papel del protooncogen c-kit y su ligando SCF (factor de crecimiento de células progenitoras)

Los ratones mutantes que expresan el fenotipo W/Wv o Sl/Sld carecen de mastocitos maduros y presentan anemia hipoplástica, hipopigmentación y esterilidad[1, 2]. El locus W codifica el protooncogen c-kit, un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas y de la familia de los receptores de tirosin cinasas[3]. El locus Sl codifica el ligando de c-kit, también llamado factor de crecimiento de células germinales (SCF o KL)[4]. Kitamura y colaboradores han demostrado que el trasplante de médula ósea de ratones normales o mutantes Sl/Sld cura la deficiencia de los ratones W/Wr reflejando así un defecto hematopoiético en la estirpe de los mastocitos[5]. En cambio la deficiencia de los ratones mutantes Sl/Sld no se puede curar con un trasplante de médula ósea indicando que el defecto no está en ninguna estirpe hematopoiética[5]. Las mutaciones de los genes W y Sl afectan profundamente la estirpe de los mastocitos, indicando que c-kit y SCF son

cruciales en el desarrollo de estas células[6]. Las interacciones entre c-kit y su ligando SCF afectan la proliferación, diferenciación, quimiotaxis y la función secretora de los mastocitos humanos, de ratón y de rata[7-11].

Los estudios *in vivo* de Galli et al., en primates no humanos tratados subcutáneamente con SCF recombinante humano durante 21 ó 28 días han demostrado un aumento del número de mastocitos en múltiples órganos[12]. La hiperplasia de mastocitos varía considerablemente dependiendo de la localización anatómica con un predominio en el bazo, la médula ósea y los nódulos linfáticos. A la dosis de 100 µg/kg/día una mastocitosis se desarrolla en el lugar de inyección, médula ósea, nódulos linfáticos, hígado y bazo en un patrón muy similar al que se observa en los pacientes con mastocitosis sistémica[13, 14]. Cuando SCF deja de administrarse durante 15 días, el número de mastocitos decrece y se hace indistinguible del número de los controles o monos no tratados. La expansión y contracción de la población mastocitaria ocurre sin efectos secundarios aparentes. Datos *in vitro* sugieren que SCF promueve la supervivencia de los mastocitos al suprimir la apoptosis o muerte programada[15].

Mutaciones de un solo nucleótido en el dominio tirosina citoplasmático del receptor c-kit demuestran un desarrollo independiente de citocinas o factores de crecimiento en mastocitos de ratón y de rata. La línea celular mastocítica de ratón P815 y la de rata RBL-2H3 tienen sustituida una asparagina por una tirosina en los amino ácidos 814 y 817, respectivamente[16, 17]. Ambas líneas celulares tienen una activación permanente del receptor c-kit como cinasa, no necesitando SCF para su desarrollo celular ni para su supervivencia.

Mastocitosis humanas y precusores mastocitarios

En las mastocitosis humanas existe un elevado número de mastocitos ya sea en la piel (mastocitoma solitario, urticaria pigmentosa) o en varios órganos tales como la médula ósea, los huesos, el hígado, el bazo, los nódulos linfáticos y el tracto gastrointestinal (mastocitosis sistémicas)[13]. El fenotipo de los mastocitos hiperplásticos no es diferente del de los mastocitos normales en el mismo tejido y localización: así pues, los mastocitos expresan el marcador universal de superficie de mastocitos c-kit y poseen en sus gránulos triptasa, quimasa y otras proteasas. La causa de la hiperplasia está aún por aclarar, pero ambos c-kit y SCF han sido implicados en la patogénesis de las mastocitosis humanas. Estudios preliminares en mastocitosis cutáneas (urticaria pigmentosa) demuestran un exceso de SCF soluble en el tejido correspondiente a las lesiones, sin que se pudiese determinar la fuente de SCF. La hiperplasia de mastocitos locales se atribuyó a un defecto post-traduccional con un aumento local de la síntesis protéica de SCF[18]. En pacientes con mastocitosis sistémicas y síndrome mielodisplático asociado, se ha identificado una mutación en el dominio catalítico de c-kit con la sustitución de la asparagina 816 por una valina (Asp816Val)[19], mutación que también se ha identificado en la línea celular humana HMC1, derivada de un paciente con leucemia mastocítica[20]. Esta mutación es análoga a la encontrada en las líneas celulares de ratón y de rata P815 y RBL-2H3, ambas con desarrollo celular independiente de factores de crecimiento y con potencial oncogénico. La misma mutación Asp816Val se ha encontrado en varios pacientes con urticaria pigmentosa y en pacientes con mastocitosis agresiva sin malignidad hematológica[21] y se ha establecido una nueva mutación (Asp820Gly) en el mismo dominio de c-kit en otro paciente con mastocitosis agresiva[22]. Ello indica que las mutaciones del dominio tirosina citoplasmático de c-kit son importantes para el desarrollo de las mastocitosis humanas, tanto en las formas benignas como las formas malignas de la enfermedad. Está por determinar si existen otras mutaciones o factores añadidos que diferencien la patogenia en los casos malignos.

Los mastocitos se originan en la médula ósea y expresan marcadores de superficie hematopoiéticos, pero no circulan de forma reconocible y madura en el torrente sanguíneo[23]. Los precursores mastocitarios humanos expresan el epitopo CD34 y se pueden diferenciar *in vitro* en células metacromáticas que poseen triptasa en sus gránulos bajo la influencia de SCF[24]. Células mononucleares de sangre de cordón umbilical y de hígado fetal son fuente de precursores o progenitores mastocitarios[25, 26]. Sin embargo, la identidad de estos precursores circulantes no está clara y se sabe poco acerca de las vías de diferenciación que inducen a los mastocitos tisulares maduros. La identificación fenotípica de los mastocitos inmaduros o precursores es difícil por la relativa poca frecuencia de estas células circulantes

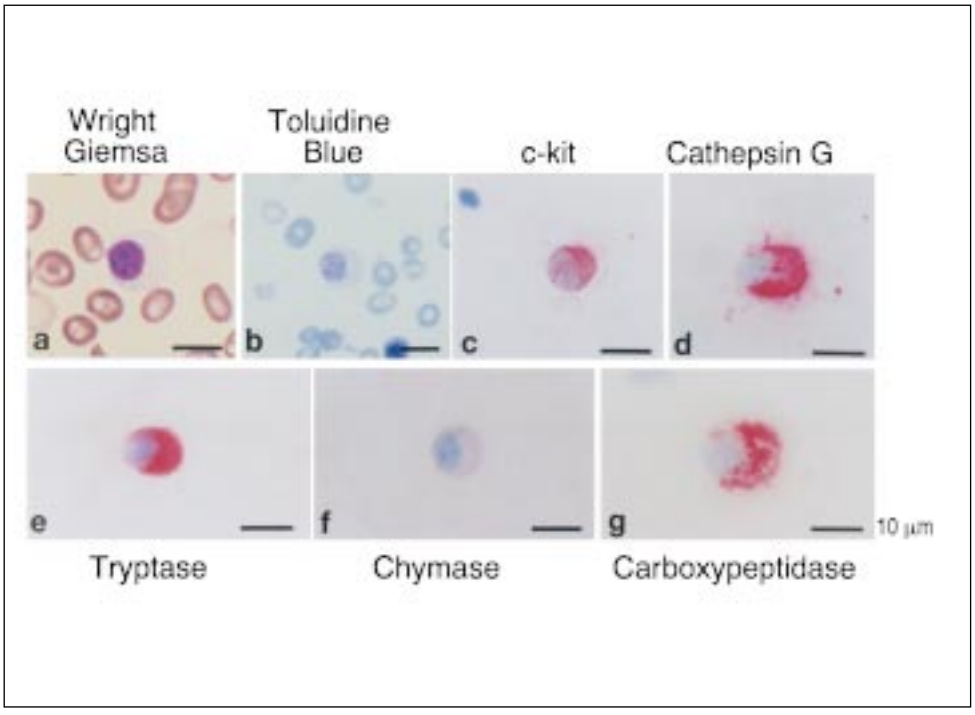

Fig. 1. Células mononucleares inmaduras de la estirpe mastocítica en sangre periférica de un paciente con mastocitosis sistémica agresiva tipo III. En (A) Tincon de Wright en que se observa una célula mononuclear de núcleo excéntrico correspondiente a un mastocito inmaduro. Una célula similar teñida con azul de Toluidina (B) demuestra la ausencia de metacromasia y la presencia de marcadores específicos de mastocitos: c-kit (C), triptasa (E), carboxipeptidasa A (CPA) (G). La tinción con quimasa fue negativa (F) y la de catepsina G fue positiva (G).

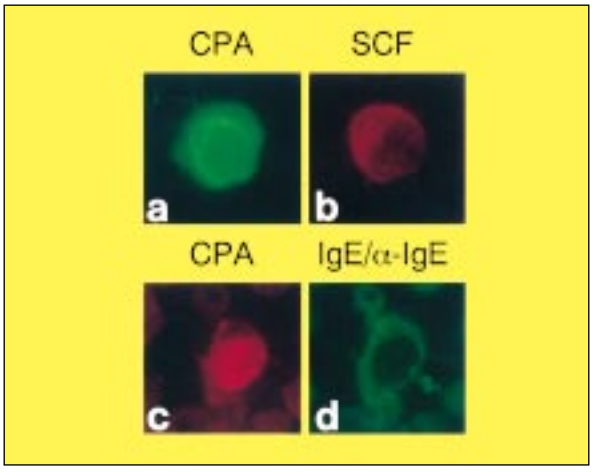

Fig. 2. Célula mononuclear inmadura de la estirpe mastocítica similar a la de la Figura 1. Tinción de immunofluorescencia doble con CPA y SCF en los paneles A y B. Tinción de inmunofluorescencia doble para CPA y IgE en los paneles C y D.

y la falta de marcadores específicos en las etapas tempranas del desarrollo. Los pacientes con mastocitosis sistémica han servido de base para los estudios de precursores circulantes considerando un probable aumento de estos como un reflejo del aumento en el número de mastocitos tisulares. En un paciente con mastocitosis agresiva tipo II, pero sin malignidad hematológica, describimos por primera vez el fenotipo de un mastocito circulante inmaduro[27]. Es una célula agranular no metacromática poco frecuente en sangre periférica (1 a 3%) que expresa tres proteínas granulares (triptasa, carboxipeptidase A y catepsina G) pero no quimasa y con el marcador de superficie c-kit[27] (Figura 1). Esta misma célula agranular y no metacromática se encuentra en el bazo y los nódulos linfáticos asociada a una hiperplasia de mastocitos metacromáticos maduros. Así pues, nuestro estudio reconoce la presencia en sangre periférica de un precursor mastocítico con proteasas granulares (triptasa, catepsina G y CPA) pero no metacromático. Este mismo precursor presenta tinción histoquímica de superficie con anticuerpos anti-SCF, implicando la presencia de SCF en la membrana celular, lo cual sugiere una regulación autocrina de la proliferación y diferenciación de estos precursores (Figura 2). Un estudio reciente en feto de ratón ha identificado un «promastocito» cuyo fenotipo es similar a los precursores humanos. La célula identificada como promastocito es escasamente metacromática, no expre-

sa el receptor de alta afinidad para la IgE (FceRI), expresa niveles bajos del marcador de superficie de células T, Thyl, niveles altos de c-kit y posee RNA mensajero para diversas proteasas granulares (MMCP2 y MMCP4)[28]. Estos estudios demuestran que es posible, pues, reconocer precursores y progenitores mastocitarios circulantes a través de su fenotipo. Las implicaciones clínicas y diagnósticas que se derivan indican que las mastocitosis sistémicas humanas se pueden diagnosticar a partir de un aumento en sangre periférica de estos precursores.

Heterogeneidad de los mastocitos humanos

Los dos criterios fundamentales para la identificación de los mastocitos en los tejidos han sido la morfología (presencia de granulos y núcleo unilobulado) y la metacromasia. Debemos hoy en día ampliar estos conceptos, puesto que existen mastocitos con núcleos multibolulares y, como hemos descrito en el párrafo anterior, los mastocitos inmaduros, los precursores o los mastocitos degranulados pueden expresar escasa metacromasia y, sin embargo, seguir expresando proteasas granulares y c-kit. Recientes estudios en ratón han demostrado la presencia de mastocitos con núcleos segmentados o multilobulares en varios tejidos, que expresan c-kit y con un fenotipo de proteasas granulares normal para su localización tisular. La morfología al microscopio electrónico es idéntica a la de los mastocitos con núcleos no segmentados[29]. Puesto que la metacromasia es variable, depende de la expresión de proteoglicanos y sólo es específica de los mastocitos maduros tisulares; la heterogeneidad debe basarse en la presencia diferencial de las diversas proteasas granulares.

La evidencia bioquímica de la heterogeneidad de los mastocitos humanos cuyo sustrato es la presencia de las proteasas intragranulares triptasa y quimasa tiene ya una década y se inició con los trabajos pioneros de Schwartz et al.[30].. Inicialmente se describieron dos tipos de mastocitos, los mastocitos T (MCt) que sólo contienen triptasa y se localizan en las mucosas y el tejido alveolar y poseen estructuras cristalinas características en sus gránulos, y los mastocitos TC (MCtc) con quimasa, tripasa y carboxipeptidasa A que se encuentran en las submucosas y la piel y se caracterizan por tener unos gránulos amorfos carentes de estructuras cristalinas como los MCt. A estos dos tipos se ha añadido un tercero, el mastocito C (MCc) que sólo contiene quimasa, pero no triptasa y se localiza en algunas submucosas como la intestinal y la nasal[31]. La cantidad total de MCt de la mucosa intestinal disminuye en pacientes de SIDA y en inmunodeficiencias severas, mientras que el número de MCtc permanece constante o aumenta. Ello indica una dependencia de los MCt de las células T helper CD4+[32]. Estos MCt en diferentes tejidos pueden representar una población heterogénea en sí, puesto que se han clonado diferentes ADN complementarios para triptasa: dos de pulmón humano (formas a y b) y tres de piel humana (formas I, II y III con 98% de identidad con la forma b), con diferentes patrones de glicosilación[33]. La similitud entre las diversas triptasa a nivel de secuencia de aminoácidos es muy alta, alcanzando el 92%. Las proteínas codificadas por los RNA mensajeros de las formas triptasa a y b se transcriben en mastocitos tisulares con un predominio de la forma b en los mastocitos de piel y pulmón. Por otra parte, la línea leucémica mastocítica HMC-1 no expresa la forma a de la triptasa[34]. La expresión de las triptasas está regulada por factores tisulares y sugiere un patrón de heterogeneidad en los mastocitos más complejos que el hasta ahora reconocido. Se han reconocido diversas funciones para la triptasa purificada de pulmón y otros tejidos entre las cuales destacan: la proteolisis de péptidos broncodilatadores, la actividad mitótica para fibroblastos y células epiteliales, la activación de la colagenasa de células sinoviales, la estimulación de la liberación de IL-8, y el aumento de la expresión de ICAM-1 en células epiteliales[35]. Todas las funciones son proinflamatorias, induciendo y aumentando el broncoespasmo, atrayendo células inflamatorias y aumentado los depósitos de colágeno en los diferentes tejidos.

Por otra parte, existe también heterogeneidad en cuanto a las citocinas que expresan los diferentes tipos de mastocitos. Estudios histoquímicos de localización de proteínas y de hibridización de RNA indican que existe una expresión diferencial de las citocinas IL-4, IL-5 y IL-6 en la piel, el tejido de la mucosa nasal y en los bronquios. La citocina IL-4 se encuentra de forma preferencial en el subtipo de los MCtc, incluyendo la piel, con poca expresión de IL-4 en el subtipo de los MTc (15%). En cambio, las citocinas IL-5 y IL-6 se restringen al subtipo de los MCt[36]. Estos hallazgos son consistentes con una síntesis y liberación de citocinas dependiendo del tejido y del subtipo de mastocito e

indican una función biológica distinta para cada tipo de mastocito.

Citocinas y desarrollo de mastocitos

Los estudios originales de Kitamura, et al., sugieren que la reconstitución de ratones deficientes en mastocitos se consigue con el trasplante de células de médula ósea o con mastocitos de médula ósea cultivados con IL-3. La reconstitución tisular que se obtiene incluye todos los subtipos e indica que un precursor único bajo la influencia de factores tisulares es capaz de diferenciarse en los diferentes tipos de mastocito[37]. Numerosas citocinas influencian la expresión *in vitro* de las proteasas de mastocitos de ratón[38], determinando su fenotipo. La asociación de SCF con IL-9 induce la expresión de casi todas las proteasas creando un fenotipo idéntico al que se observa en los mastocitos maduros de hígado y bazo[39]. Células humanas de médula ósea, cordón umbilical o hígado que expresan el marcador CD34 pueden derivarse hacia la estirpe mastocitaria cuando se las cultiva en presencia de una combinación de SCF y IL-6[40, 41]. Estos mastocitos son de predominio MCt con una minoría de MCtc, y expresan el receptor de alta afinidad para la IgE (FceRI). Los mastocitos de ratón producen IL-1 beta, IL-6 y TNF alfa que es una de las citocinas preformadas. TNF alfa se almacena en los gránulos de los mastocitos humanos[42], de rata y de ratón y se libera tras activación inmunológica (IgE) y no inmunológica (PMA). TNF alfa es hoy en día objeto de intenso estudio por su papel protector en el aclaramiento de organismos tales la *Klebsilla Pneumoniae* en la sepsis experimental *in vitro*. Los elegantes experimentos de Malaviya et al. y Echtenacher et al.[43, 44] demuestran que los ratones deficientes en mastocitos tienen una mortalidad significativamente más elevada que los ratones normales en presencia de organismos infecciosos gram negativos. Esta protección se puede adquirir con la reconstitución de la población de mastocitos y está mediada parcialmente por TNF alfa liberado por los mastocitos. La inyección de anticuerpos anti-TNF alfa conlleva la pérdida parcial del efecto protector[44].

Migración de mastocitos

Las observaciones de Enerback et al., ya hace 15 años sugerían la migración de los mastocitos en la mucosa nasal inducida por factores externos ambientales, tales el polen[45]. En ese estudio el recuento de mastocitos de pacientes con rinitis alérgica se hizo fuera de la estación polínica y durante la época de polinización. El número total de mastocitos no varió durante las dos épocas, pero sí de forma sustantiva la distribución de estos: durante la época previa a la polinización los mastocitos se localizan en el tejido conectivo de la submucosa y durante la época de polen existe una redistribución en la cual los mastocitos predominan en la mucosa nasal en contacto más directo con el exterior. Recientes estudios en ratones infectados con *Trichinella Spiralis* han confirmado que los mastocitos expresan diferentes proteasas dependiendo de su localización tisular durante el proceso infectivo y de expulsión del parásito. Así pues, durante el pico de la infección, cuando los mastocitos migran y aparecen progresivamente en la submucosa, lámina propia y el epitelio mucoso expresan MMCP-1 y MMCP-2. En la fase de recuperación, cuando los mastocitos vuelven a la submucosa y a las vellosidades, expresan el fenotipo de los mastocitos residentes con un predominio de la expresión de MMCP-5 y MMCP-6[46]. Es, pues, evidente que los mastocitos son capaces de alterar su fenotipo de forma reversible inducidos por factores, ya sea ambientales, ya sea internos u infecciosos. No disponemos aún de ningún estudio que nos indique qué moléculas de superficie (moléculas de adhesión o receptores de citocinas) intervienen en el proceso y qué factores tisulares solubles o celulares lo controlan.

MOLECULAS DE SUPERFICIE Y RECEPTORES

Moléculas de adhesión

El fenotipo de los mastocitos está influenciado por factores tisulares que no sólo afectan la expresión de proteasas o mediadores granulares, sino también a la expresión de moléculas de superficie. Las moléculas que median la unión de los mastocitos a la matriz protéica extracelular (ECM) y a otras células residentes de los tejidos son importantes durante la diferenciación, migración y localización[47].

Los mastocitos se adhieren a la fibronectina, vitronectina y a la laminina presentes en la ECM e interactúan con los fibroblastos y las células endoteliales. La adherencia de los mastocitos a los fibroblastos está mediada por la interacción entre c-kit y SCF que expresan los fibroblastos en la membrana celular[48]. Los mastocitos se adhieren espontáneamente a la vitronectina[49], pero necesitan ser activados para poder adherirse a la fibronectina[50] o la laminina[51]. La adhesión a la fibronectina está regulada por SCF a dosis fisiológicas y con un patrón dosis-respuesta[50]. Esta interacción es dependiente del tripéptido RGD, lo cual indica que las integrinas alfa4 beta1 y/o alfa4 beta7 de los mastocitos son los ligandos para la fibronectina. La expresión de los genes de estas integrinas se ha comprobado en mastocitos de ratón y, asimismo, anticuerpos monoclonales han demostrado la presencia de estas integrinas en la superficie de los mastocitos[52]. La adhesión entre los componentes de la matriz extracelular y los ligandos presentes en los mastocitos induce en éstos aumento de la motilidad celular, fosforilación de proteínas intracelulares[53] y liberación de mediadores y citocinas[54]. Cuando los mastocitos de ratón RBL-2H3 se adhieren a superficies recubiertas de fibronectina aumenta sustancialmente su capacidad de activación a través de IgE[55]. La transcripción de los genes de integrinas está modulada durante la diferenciación de los mastocitos de forma que los genes de las integrinas beta1 y beta7 se expresan en los mastocitos de tejido conectivo, pero no la integrina alfa4[56]. Por otra parte, la expresión de las integrinas expresadas por los mastocitos está regulada por factores solubles: los mastocitos cultivados en SCF transcriben la integrina alfa4 pero no la beta7 y los mastocitos cultivados en presencia de IL-3 inducen la integrina beta7, pero no expresan la alfa4[56]. Se ha descrito una nueva integrina M290 que se expresa en mastocitos inmaduros y es homóloga a la integrina humana alfaE que está unida a la cadena beta7[57]. El par alfaE beta7 es un nuevo ligando de la caderina E y tiene un rol en la migración y proceso de localización de los linfocitos intraepiteliales[58, 59]. La citocina TGF beta y la activación por IgE inducen la expresión de la integrina M290 en los mastocitos. Los sobrenadantes de mastocitos activados que expresan M290 inducen la expresión paracrina de la misma integrina en otras células[57]. Ello indica que los productos solubles de mastocitos son capaces de modificar la expresión de integrinas en otras células, influenciando las interacciones celulares y la adhesión de las células a la matriz extracelular. En mastocitos metacromáticos humanos de origen en hígado fetal cultivados en presencia de SCF y que expresan triptasa se ha visto que se adhieren espontáneamente a vitronectina a través de las integrinas alfav beta3[60].

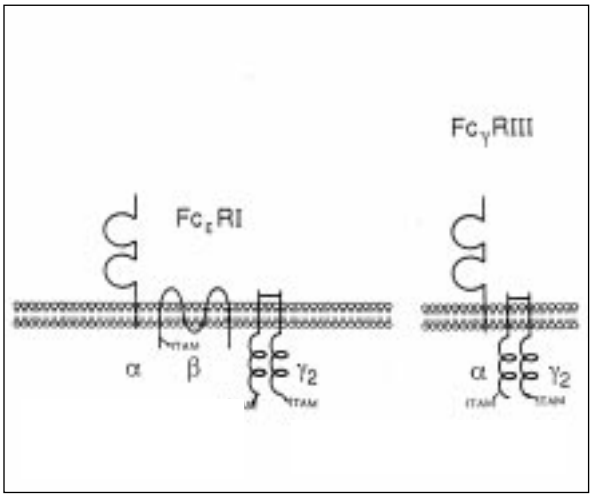

Fig. 3. Receptores de activación en mastocitos de ratón. Representación esquemática del receptor de alta afinidad para la IgG (FceRI) y del receptor de baja afinidad para la IgG (FcgRIII). Las cadenas extracelulares alfa tienen dos dominios C2 similares. La cadena beta del FceRI tiene un ITAM y las cadenas gama son idénticas y tienen dos ITAMs.

Familia de las immunoglobulinas

Receptores de activación: FceRI y FcgRIII

La activación de mastocitos ocurre tras la agregación de dos receptores de alta afinidad para la IgE (FceRI), pero también sucede en presencia de agregados de IgG[61]. La naturaleza de los receptores de IgG (FcgR) presentes en la superficie de los mastocitos ha sido determinada recientemente, así como las funciones *in vivo.* Se conocen tres receptores de baja afinidad por la IgG: FcgRIIb1, FcgRIIb2 y FcgRIII que están expresados en la membrana celular de los mastocitos de ratón y rata y tiene especificidad para la IgG1, IgG2a y IgG2b sin reactividad cruzada con la IgE[62]. El FcgRIII se compone de dos cadenas y tiene una estructura similar a la del FceRI (Figura 3). La cadena alfa del FcgRIII es similar a la del FceRI, pues las dos pertenecen a la familia

de las inmunoglobulinas con dos dominios C2 en la porción extracelular. Ambos receptores están asociados a dos cadenas homólogas gama que contienen el motivo esencial de activación de receptores inmunológicos llamado ITAM (Motivo de Activación de Receptor Inmunológico basado en Tirosina). Este motivo de 6 aminoácidos tiene dos tirosinas, que se fosforilan tras el puenteo y acercamiento de las dos cadenas alfa de dos receptores de IgE (FceRI) o IgG (FcgRIII). La fosforilación de la tirosina central del ITAM se debe a la activación de las cinasas scr y una vez fosforiladas las cadenas gama propagan senales intracelulares de fosforilación de sustratos específicos destinados al aumento del calcio intracelular y la liberación de mediadores intragranulares y de membrana[63]. La expresión de los receptores de IgE está en parte controlada por la presencia de IgE, puesto que los ratones deficientes en IgE no tienen receptores de alta afinidad para la IgE (FceRI)[64]. En estos ratones la expresión de los FceRI se corrige con tratamiento con IgE inyectada y este aumento de FceRI se acompaña de un aumento en la capacidad secretora de los mastocitos. Los mastocitos inmaduros de médula ósea de ratón cultivados con IL-3 tienen FcgRIIb1 y FcgRIIb2, pero no tienen apenas FcgRIII, mientras que los mastocitos maduros de cavidad peritoneal (SMC) expresan casi exclusivamente FcgRIII[65]. Cuando se activan los receptores FcgRIII de los SMC se consigue liberación de mediadores, tales la b-hexosaminidasa e histamina en niveles comparables a los que se consigue con la activación de los FceRI en estas mismas células, pero no se consigue liberación de mediadores al activar los FcgRIIb1 y FcgRIIb2 de los BMMC[66]. En estudios de transfección en los cuales estos receptores se han expresado en la membrana celular de mastocitos de rata (RBL) se ha visto que únicamente los FcgRIII inducen activación celular con liberación de serotonina, leucotrieno LTC4 y citocina TNF alfa[67]. Estas respuestas son dependientes de la secuencia citoplasmática de las cadenas gama que contienen el motivo ITAM y que comparte con el FceRI[68]. Durante la maduración de los mastocitos estos dos receptores se expresan antes del proceso de granulación[69]. La función de los FcgRIII *in vivo* se ha demostrado en los experimentos de sensibilización y activación de mastocitos de ratones deficientes en IgE (a estos ratones se les ha inducido una mutación no funcional del gen que codifica la cadena epsilon). Tras

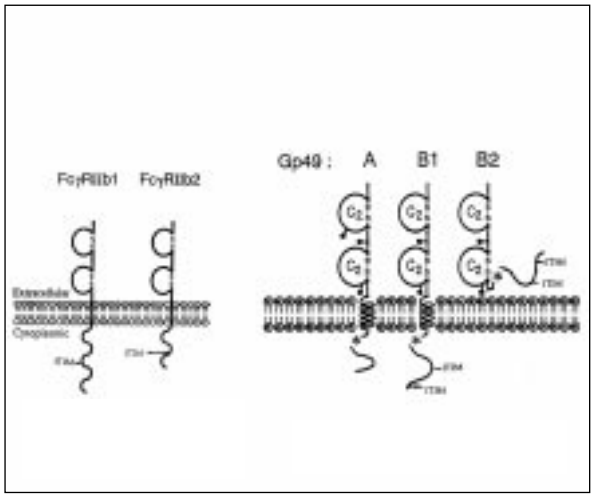

Fig. 4. Receptores de inhibición en mastocitos de ratón. Representación esquemática de los receptores de baja afinidad FcgRIIb1 y FcgRIIb2 compuestos de una sola cadena y de tres miembros de la familia gp49. Los motivos ITIM están presentes en los FcgRIIb1, FcgRIIb2, gp49B1 y gp49B2, pero no en gp49A.

sensibilización y provocación con antígeno se observa liberación anafiláctica de mediadores, encontrándose niveles elevados de histamina en suero y evidencia a nivel histológico en los tejidos de degranulación activa de mastocitos aún en ausencia de IgE[70]. Este cuadro es consistente con la activación de los mastocitos por IgG y puenteo de los receptores FcgRIII como se ha demostrado in vitro. Por otra parte los FcgRIII tienen un papel relevante en la reacción cutánea pasiva de Artus[71], pues en ratones W/Wv deficientes en mastocitos y con reconstitución de la piel con mastocitos carentes de FcgRIII presentan una respuesta atenuada al dano mediado por inmunocomplejos.

Receptores de inhibición

FcgRII: Estos receptores, a diferencia de los FcgRIII, sólo poseen una cadena (Figura 4) y también son de baja afinidad para la IgG. Se expresan, asimismo, antes del proceso de granulación celular[72]. Estos receptores se habían considerado hasta ahora con escasa función y posiblemente fagocíticos, pero recientes avances han demostrado que tienen una función inhibitoria esencial para la homoestasis del mastocito. Experimentos de transfección de estos receptores en células RBL y puenteo de

estos con los receptores FceRI induce la inhibición de la liberación de mediadores (serotonina)[73]. Esta inhibición es reversible al dejar libre el FcgRIIb1 y FcgRIIb2 y depende de una secuencia central de la porción citoplasmática de estos receptores llamada ITIM (Motivo Inhibitorio de Inmunoreceptores basado en Tirosina). Este motivo, que aunque tiene también una tirosina central difiere del ITAM (Figura 3) y se compone de sólo 4 aminoácidos, se halla también en los importantes receptores llamados KIR (Killing Inhibitory Receptor) presentes en las células NK (Natural Killer) y en la molécula CTL4 de los linfocitos T entre otros receptores. La función de los KIR es de vigilancia del yo del sistema inmune y lo hacen al inhibir la lisis de las células propias que expresan los antígenos de histocompatibilidad MHC de clase 1. Así pues, las moléculas MHC-1 actúan de ligando de los KIR y se ha descrito ya una gran heterogeneidad de los KIR que concuerda con la de las moléculas MHC-1[74]. En los mastocitos, la inhibición por receptores de IgG ocurre tras el puenteo de los FcgRIIb1 o FcgRIIb2 con los FceRI y la consiguiente fosforilación de la tirosina del ITIM por la familia de las cinasas scr[73]. Esto induce la fosforilación de otras moléculas asociadas con función inhibitoria que inducen la inhibición de la liberación de mediadores. Estímulos fisiológicos que pueden en teoría puentear un receptor de IgG y un receptor de IgE incluyen antígenos agregados con IgG, lo cual se produce durante la inmunoterapia específica en la que se hallan niveles elevados de IgG contra los antígenos inmunizantes. Así pues, la inhibición de mastocitos ocurre a través de la activación de los receptores de IgG. En humanos estos están presentes de forma exclusiva en los mastocitos uterinos, pero no se ha descartado en el resto de mastocitos tisulares la presencia de moléculas de superficie con capacidad inhibitoria.

La familia de glicoproteínas gp49

Esta nueva familia se expresa de forma preferencial en mastocitos de ratón de todos los tejidos, así como en macrófagos mononucleares[75] y estudios recientes han localizado a uno de sus miembros, gp49B1, en células NK. Se han clonado 3 de sus miembros: gp49A, gp49B1 y gp49B2 y se han aislado dos genes. El gen A codifica gp49A y el gen B codifica gp49B1 y gp49B2 que tienen la misma porción extracelular, pero gp49B2 carece de porción citoplasmática[76]. gp49A y gp49B1 son proteínas de membrana integrales tipo I y gp49B2 es una forma secretoria[77]. La porción extracelular de las tres glicoproteínas presenta dos dominios C2 de la superfamilia de las inmunoglobulinas como los receptores FceRI y FcgRIII y las moléculas de adhesión intercelular ICAMs. Análisis de homología a nivel de la secuencia de aminoácidos entre varias moléculas de esta superfamilia ha demostrado que existe una subfamilia de moléculas con alto grado de identidad formada por gp49B1, el receptor de IgA mieloide humano, el receptor de IgG2 (Fc) mieloide bovino y los KIRs expresados en las células NK y en una población de linfocitos T. Una característica esencial de gp49B1 es la presencia de dos motivos ITIMs en su porción citoplasmática, lo cual indujo la hipótesis de una posible función inhibitoria[78]. Así pues, utilizando mastocitos inmaduros de médula ósea que expresan altos niveles de gp49B1 se hizo el puenteo entre gp49B1 y FceRI con anticuerpos monoclonales específicos. Posteriormente se activaron los mastocitos con antígeno específico tras sensibilización y se comprobó que estos mastocitos estaban inhibidos y la inhibición de mediadores dependía de la dosis de anticuerpo anti-gp49B1. Esta inhibición llegó a ser del 70% en cuanto a la liberación de mediadores preformados granulares (beta hexosaminidasa) y también en cuanto a leucotrienos (LTC4)[79]. Este poderoso mecanismo de inhibición a través de gp49B1 está mediado por los ITIMs citoplasmáticos, pues estos se fosforilan al hacerse el puenteo de gp49B1 con el FceRI. Por otra parte, en experimentos de ingeniería genética en que se crearon moléculas quiméricas con una porción de KIR extracelular y la porción citoplasmática de gp49B1 y estas se expresaron en células NK se pudo comprobar que la porción citoplasmática de gp49B1 podía sustituir a la de los KIR e incluso se demostró que su potencia inhibitoria era superior[80]. Así pues, gp49B1 es la molécula inhibitoria mayor de los mastocitos de ratón y ya se han clonado varios ADN complementarios en humanos con alta homología con gp49B1 cuya expresión se está estudiando, así como su función inhibitoria[81]. Como indicamos en el párrafo anterior los homólogos humanos de gp49B1 podrían tener función inhibitoria y sustituir a los FcgR en los mastocitos que carecen de estos receptores. Por otra parte, no se conoce la función de gp49A que carece de ITIMs citoplasmáticos y se postula

que podría tener función de activación que modularía tanto a gp49B1 como a FceRI. La caracterización y estudio de la función de esta familia es, pues, el avance más importante en los últimos años en la fisiología de los mastocitos, pues permite entender que estas células tienen una homeostasis interna regulada por mecanismos de activación e inhibición[78].

Expresión de antígenos de histocompatibilidad tipo II (MHC) y presentación de antígenos específicos

Los mastocitos se hallan en proximidad de los linfocitos T en todas las localizaciones tisulares y se conocen influencias bidireccionales a través de factores solubles. En particular, se sabe que las citocinas liberadas por las células T tienen una influencia directa en los mastocitos, puesto que la IL-3 es un factor de crecimiento y desarrollo de mastocitos *in vitro*. La influencia o contacto directo entre estas dos células se ha descrito tras ver que los mastocitos de médula ósea cultivados en presencia de interferón gama pueden expresar antígenos de histocompatibilidad MHC tipo II que se requieren para la presentación de antígeno por las células presentadoras (APC) para la generación de una respuesta por parte de los linfocitos T[82]. La expresión de MHCII en los mastocitos aumenta con la estimulación por lipopolisacárido y disminuye en presencia de IL-3. Se pueden estimular hibridomas de células T induciendo proliferación y liberación de IL-2 por mastocitos que expresan MHCII en presencia de antígeno apropiado y de forma similar a la que se produce cuando se utilizan linfocitos B como control APC. La interacción entre los mastocitos y las células T se bloquea con anticuerpos anti-MHCII y está limitada a un cierto tipo de hibridomas y de antígenos indicando que el repertorio de los mastocitos es más limitado que el de las células B. Así pues, se infiere de estos experimentos que pueden existir interacciones cognitivas entre células T y mastocitos que presenten antígeno en el contexto de moléculas MHCII apropiadas. No se conoce si existen moléculas accesorias en estas interacciones, cuáles son los requerimientos para el procesamiento de antígeno en los mastocitos y qué tipos de péptidos son presentados. En vivo se ha visto que los mastocitos derivados de serosas de rata pueden expresar moléculas accesorias para la presentación de antígeno pudiendo cumplir la misma función que los mastocitos *in vitro* de estimulación antigénica específica de células T[83].

Síntesis de IgE y expresión del ligando para CD40

La expresión de IgE está controlada por los eventos de recombinación genética que incluyen la síntesis protéica de la cadena pesada e y la diferenciación y supervivencia de las células B que la sintetizan. Las dos señales esenciales para que ello se produzca son la presencia de la citocina IL-4 o IL-13 y la interacción directa entre la molécula CD40 en los linfocitos B y el ligando de CD40 (CD40L) en los linfocitos T. El CD40L se ha descrito en los linfocitos T, así como la citocina IL-4, teniendo estas células los dos ingredientes suficientes y necesarios para la síntesis de IgE[84]. Los mastocitos humanos purificados de piel y de pulmón, así como la línea celular basofílica KU812 y la línea derivada de una leucemia mastocítica HMC-1 expresan CD40L por fluorescencia indirecta y la expresión aumenta en presencia de ésteres de forbol (PMA). Tanto los mastocitos pulmonares estimulados con SCF como las líneas celulares HMC-1 y KU812 inducen la síntesis de IgE de células B de amígdala tras cultivo en presencia de IL-4 durante 12 días y en cantidades similares a las que se obtiene al utilizar células T como control[85, 86]. Este estudio indica que los mastocitos situados en los lugares de inflamación alérgica como son la piel, el pulmón o el intestino, tienen potencial capacidad para proveer estimulación directa a las células B tisulares e inducir la síntesis específica local de IgE. Esto podría aumentar los niveles de IgE específica tisular sin necesariamente un aumento de la IgE plasmática o total. Se necesitan estudios que indiquen si los mastocitos tisulares necesitan ser estimulados para la expresión de suficientes moléculas de CD40L y si ellos mismos son la fuente de las citocinas necesarias como la IL-4.

CONCLUSIONES

El estudio de los mastocitos es complejo pero fascinante y nuevos roles se le atribuyen al conocerse nuevas moléculas y sus funciones. A pesar de su origen hematopoiético los mastocitos son resi-

dentes permanentes de los tejidos una vez se localizan en ellos, pero mantienen una capacidad migratoria y de transdiferenciación. Tienen complejas interacciones con las células vecinas y las proteínas de las matrices extracelulares que les proveen de nutrientes y estímulos. Sus funciones son autocrinas y paracrinas y la modulación de su fenotipo y funciones ocurre a través de factores solubles y de receptores celulares y moléculas de adhesión. El mantenimiento fisiológico de los estados de reposo y activación requiere un equilibrio fino entre la estimulación de los receptores de activación y los receptores de inhibición. Las implicaciones son de gran importancia en el terreno terapéutico abriendo fronteras para el control de la liberación inadecuada de mediadores a través de la estimulación farmacológica o fisiológica de las vías inhibitorias naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kitamura, Y.; Go, S.: Decreased production of mast cells in S1/S1d anemic mice. *Blood* 1978; 43: 492.
2. Kitamura, Y.; Go, S.; Hatanaka, S.: Decrease of mast cells in W/Wv mice and their increase by bone marrow transplantation. *Blood* 1978; 52: 447-452.
3. Chabot, B.; Stephenson, D. A.; Chapman, V. M.; Besner, P.; Bernstein, A.: The protooncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. *Nature* 1988; 335: 88-89.
4. Huang, E., Nocka, K., Beier, D. R.; Chu, T.-Y.; Buck, H.; Lahm, H.-W.; Wellner, D.; Leder, P.; Besner, P.: The hematopoietic growth factor KL is encoded by the S1 locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell* 1990; 63: 225.
5. Jarboe, D. L.; Huff, T. F.: W/W^{v} mice do not make mast cell-committed progenitors and SI/SI^{d} fibroblasts do not support development of normal mast cell-committed progenitors. *J Immunol* 1989; 142: 2418-2423.
6. Galli, S. J.; Tsai, M.; Wershil, B. K., et al.: The effects of Stem cell factor, the ligand for c-kit receptor, on mouse and human mast cell development, survival and function. In: Biological and molecular aspects of mast cell and basophil differentiation and function. Kitamura, et al. (eds.). New York: Raven Press, Ltd. 1994; p: 1-11.
7. Galli, S. J.; Tsai, M.; Wershil, B. K.: The c-kit receptor, stem cell factor, and mast cells. What each is teaching us about the others. *Am J Pathol* 1993; 142: 965-974.
8. Nocka, K.; Buck, J.; Levi, E.; Besmer, P.: Candidate ligand for the c-kit transmembrane kinase receptor KL, a fibroblast derived growth factor stimulates mast cells and erythroid progenitors. *EMBO J* 1990; 10: 3287-3294.
9. Nilsson, G.; Butterfield, J. H.; Nilsson, K.; Siegbahn, A.: Stem cell factor is a chemotactic factor for human mast cells. *J Immunol* 1994; 143: 3717-3723.
10. Columbo, M.; Horowitz, E. M.; Botana, L. M.; MacGlashan, D. W., Jr.; Bochner, B. S.; Gillis, S.; Zsebo, K. M.; Galli, S. J.; Lichtenstein, L. M.: The recombinant human c-kit receptor ligand, rhSCF, induces mediator release from human cutaneous mast cells and enhances IgE-dependent mediator release from both skin mast cells and peripheral blood basophils. *J Immunol* 1992; 149: 599-608.
11. Tsai, M.; Shih, L.-S.; Newlands, G. F. J.; Takeishi, T.; Langley, K. E.; Zsebo, K. M.; Miller, H. R. P.; Geissler, E. N.; Galli, S. J.: The rat c-kit ligand, stem cell factor, induces the development of connective tissue-type and mucosal mast cells in vivo. Analysis by anatomical distribution, histochemistry, and protease phenotype. *J Exp Med* 1991; 174: 125-131.
12. Galli, S. J.; Iemura, A.; Garlick, D. S.; Ganba-Vitalo, C.; Zsebo, K. M.; Andrews, R. G.: Reversible expansion of primate mast cell populations in vivo by stem cell factor. *J Clin Invest* 1993; 91: 148-152.
13. Travis, W. D.; Li, C. Y.; Bergstraih, E. J.; Yam, L. T.; Swee, R. G.: Systemic mast cell disease: analysis of 58 cases and literature review. *Medicine* 1988; 67: 345-368.
14. Metcalfe, D. D.: The liver, spleen, and lymph nodes in mastocytosis. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 45S-46S.
15. Iemura, A.; Tsai, M.; Ando, A.; Wershil, B. K.; Galli, S. J.: The c-kit ligand, stem cell factor, promotes mast cell survival by suppressing apoptosis. *Am J Pathol* 1994; 144: 321-328.
16. Tsujimura, T.; Furitsu, T.; Morimoto, M., et al.: Ligand-independent activation of c-kit receptor tyrosine kinase in a murine mastocytoma cell line P-815 generated by a point mutation. *Blood* 83: 2619-26.
17. Kitamura, Y.; Tsujimura, T.; Jippo, T.; Kasugai, T.; Kanakura, Y.: Development of mast cells and basophils: Role of c-kit receptor tyrosine kinase for development, survival and neoplastic transformation of mast cells. Biological and molecular aspects of mast cell and basophil differentiation and function. Kitamura, et al. (eds.) New York: Raven Press, Ltd. 1995; p. 91-104.
18. Longley, B. J., Jr.; Morganroth, G. S.; Tyrrell, L., et al.: Altered metabolism of mast-cell growth factor (c-kit ligand) in cutaneous mastocytosis. *N Engl J Med* 1993; 328: 1302-7.

19. Nagata, H.; Worobec, A. S.; Oii, C. K.; Chowdhury, B. A.; Tannenbaum, S.; Suzuki, Y.; Metcalfe, D. D.: Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients whohave mastocytosis with an associated hematologic disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1-5.
20. Furisu, T.; Tsjimura, T.; Tono, T.: Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogen c-kit in a human mast cell leukemia line causing ligand independent activation of c-kit product. *J Clin Invest* 1993; 92: 1736-44.
21. Longley, B. J., et al.: Somatic c-kit activating mutation in urticaria pigmentosaand aggressive mastocytosis: establishment of clonality in a human mast cellneoplasm, *Nat Genet* 1996; 12: 312-314.
22. Pignon, J. M.; Giraudier, S.; Duquesnoy, P.; Jouault, H.; Imbert, M.; Vainchenker, W.; Vernant, J. P.; Tulliez, M.: A new c-kit mutation in a case of aggressive mast cell disease. *Br J Haematol* 1997; 96(2): 374-6.
23. Valent, P.; Spanblochl, E.; Sperr, W. R.; Sillaber, C.; Zsebo, K. M.; Agis, H.; Strobl, H.; Geissler, K.; Bettelheim, P.; Lechner, K.: Induction of differentiation of human mast cells from bone marrow and peripheral blood mononuclear cells by recombinant human stem cell factor/kit-ligand in long-term culture. *Blood* 1992; 80: 2237-2245.
24. Kirschenbaum, A. S.; Goff, J. P.; Kessler, S. W.; Mican, J. M.; Zsebo, K. M.; Metcalfe, D. D.: Effect of IL-3 and Stem Cell Factor on the appearance of human basophils and mast cells from CD34+ pluripotent progenitor cells. *J Immunol* 1992; 148: 772-777.
25. Ishikaza, T.; Furitsu, T.; Mitsui, H.; Takei, M.; Koszloski, M. A.; Irani, A.-M. A.; Scbwartz, L. B.; Dvorak, A. M.; Zsebo, K. M.; Gillis, S.: Development of human mast cells from umbilical cord blood cells by human and murine c-kit ligand. *FASEB J* 1992; 6: A1403.
26. Irani, A. A.; Craig, S. S.; Nilsson, G.; Ishizaka, T.; Schwartz, L. B.: Characterization of human mast cells developed in vitro from fetal liver cells co-cultured with murine 3T3 fibroblasts. *Immunology* 1992; 77: 136-143.
27. Castells, M.; Friend, D.; Bunnell, C.; Austen, K. F.: The presence of membrane-bound stem cell factor on highly immature nonmetachromatic mast cells in the peripheral blood of a patient with aggressive systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 831-40.
28. Rodewald, H. R.; Dessing, M.; Dvorak, A. M.; Galli, S. J.: Identification of a committed precursor for the mast cell lineaje. *Science* 1996; 217: 818-22.
29. Gurish, M. F.; Friend, D. S.; Webster, M.; Ghildyal, N.; Nicodemus, C. F.; Stevens, R.: Mouse mast cells that possess segmented multi-lobular nuclei. *Blood* 1997; 90: 382-90.
30. Irani, A. A.; Schechter, N. M.; Craig, S. S.; Deblois, G.; Schwartz, L. B.: Two types of mast cells that have distinct neutral protease composition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4464-8.
31. Weidner, N.; Austen, K. F.: Evidence for morphologic diversity of human mast cells. *Lab Invest* 1990; 63: 63-72.
32. Irani, A. A.; Craig, S. S.; DeBlois, G.; Elson, C. O.; Schechter, N. M.; Schwartz, L. B.: Deficiency of the tryptase positive, chymase negative mast cell in gastrointestinal mucosa of patients with defective T lymphocyte function. *J Immunol* 138: 4381-86; 1987.
33. Vanderslice, P.; Ballinger, S. M.; Tam, E. K.; Goldstein, M.; Craik, C. S.; Caughey, G. H.: Human mast cell tryptase multiple cDNAs and genes reveal a multigene serine protease family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3811.
34. Xia, H. Z.; Kepley, C. L.; Sakai, K.; Chelliah, J.; Irani, A. M.; Schwartz, L. B.: Quantitation of Tryptase, Chymase, FceRIa, and FceRI mRNAS in human mast cells and basophils by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Immunol* 1995; 154: 5472-5480.
35. Schwartz, L. B.: Structure and function of human mast cell tryptase. In Biological and Molecular Aspects of Mast Cell and Basophil Differentiation and Function. Ed. Y. Kitamura, S. Yamamoto, S. J. Galli, and M. W. Greaves. *Raven Press Ltd NY* 1995; p. 161-172.
36. Bradding, P.; Okayama, Y.; Church, M. K.; Holgate, S. T.: Heterogeneity of human mast cells based on their cytokine content. *J Immunol*, 1995.
37. Nakano, T.; Sonoda, T.; Hayashi, C.; Yamatodani, A.; Kanayama, Y.; Yamamura, T.; Asai, H.; Yonezawa, T.; Kitamura, Y.; Galli, S. J.: Fate of bone marrow-derived cultured mast cells after intracutaneous, intraperitoneal, and intravenous transfer into genetically mast cell-deficient W/W^v mice. Evidence that cultured mast cells can give rise to both connective tissue type and mucosal mast cells. *J Exp Med* 1985; 162: 1025.
38. Gurish, M. F.; Ghildyal, N.; McNeil, H. P.; Austen, K. F.; Gillis, S.; Stevens, R. L.: Differential expression of secretory granule proteases in mouse mast cells exposed to interleukin 3 and c-kit ligand. *J Exp Med* 1992; 175: 1003-1012.
39. Eklund, K. K.; Ghildyal, N.; Austen, K. F.; Stevens, R. L.: Induction by IL-9 and suppression by IL-3 and IL-4 of the levels of chromosome 14-derived transcripts that encode late-expressed mouse mast cell proteases. *J Immunol* 1993; 151: 4266-4273.
40. Nakahata, T.; Tanaka, I.; Muraoka, K., et al.:

Synergy of stem cell factor and other cytokines in mast cell development. In: Biological and Molecular Aspects of Mast Cell and Basophil Differentiation and Function. Galli, et al. (eds.) New York: *Raven Press*, 1995; 8-9.
41. Saito, H.; Ebisawa, M.; Sakaguchi, N., et al.: Characterization of cord blood-derived human mast cells cultured in the presence of Steel factor and IL-6. In_ Biological and Molecular Aspects of Mast Cell and Basophil Differentiation and Function. Galli, et al. (eds.) New York: *Raven Press*, 1995, p. 50.
42. Church, M. K.; Levi-Schaffer, F.: The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 155-160.
43. Malaviya, R.; Ikeda, T.; Ross, E.; Abraham, S. N.: Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearence at sites of infection through TNF-a. *Nature* 1996; 381: 77-80.
44. Echtenacher, B.; Mannel, D. N.; Hultner, L.: Critical protective role of mast cells in a model of acute septic peritonitis. *Nature* 1996; 381: 75-77.
45. Enerback, L.; Pipkorn, U.; Granerus, G.: Intraepithelial Migration of nasal mucosal mast cells in hay fever. *Int Archs Allergy Appl Immun* 1986; 80: 44-51.
46. Friend, D. S.; Ghidyal, N.; Austen, K. F.; Gurish, M. F.; Matsumoto, R.; Stevens, R.: Mast cells that reside at different locations in the jejunum of mice infected with Trichinella spiralis exhibit sequential changes in their granule ultrastructure and chymase phenotype. *J Cell Biol* 1996; 135: 279-90.
47. Hamawy, M. M.; Mergenhagen, S. E.; Siraganian, R. P.: Adhesion molecules as regulators of mast-cell and basophil function. *Immunol Today* 1994; 15: 62-66.
48. Kinashi, T.; Springer, T. A.: Steel factor and c-kit regulate cell-matrix adhesion. *Blood* 1994; 83: 1033-1038.
49. Bianchine, P. J.; Burd, P. R.; Metcalfe, D. D.: IL-3-dependent mast cells attach to plate-bound vitronectin. *J Immunol* 1992; 149: 3665-3671.
50. Dastycj, J.; Costa, J. J.; Thompson, H. L.; Metcalfe, D. D.: Mast cell adhesion to fibronectin. *Immunology* 1991; 99: 478-484.
51. Thompson, H. L.; Burbelo, P. D.; Metcalfe, D. D.: Regulation of adhesion to mouse bone marrow-derived mast cells to laminin. *J Immunol* 1990; 145: 3425-3431.
52. Gurish, M. F.; Bell, A. F.; Smith, T. J.; Ducharme, L. A.; Wang, R.-K.; Weis, J. H.: Expression of murine $beta_7$, $alpha_4$, and $beta_1$ integrin genes by rodent mast cells. *J Immunol* 1992; 149: 1964-1972.
53. Hamawy, M. H.; Mergenhagen, S. E.; Siraganian, R. P.: Cell adherence to fibronectin and the aggregation of the high affinity immunoglobulin E receptor synergistically regulate tyrosine phosphorylation of 105-115-kDa proteins. *J Biol Chem* 1993; 268: 5227-5233.
54. Ra, C.; Yasuda, M.; Kim, Z.; Saito, H.; Nakahata, T.; Yagita, H.; Okumura, K.: Fibronectin receptor (FNR) integrins on mast cells are involved in cellular activation. In: Biological and Molecular Aspects of Mast Cell and Basophil Differentiation and Function. Kitamura, et al. (eds.) New York: *Raven Press*, 1995; p. 239-247.
55. Hamawy, M. H.; Oliver, C.; Mergenhagen, S. E.; Siraganan, R. P.: Adherence of rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells to fibronectin-coated surfaces enhances secretion. *J Immunol* 1992; 149: 615-621.
56. Ducharme, L. A.; Weis, J. H.: Modulation of integrin expression during mast cell differentiation. *Eur J Immunol* 1992; 22: 2603-2607.
57. Smith, T. J.; Ducharme, L. A.; Shaw, S. K.; Parker, C. M.; Brenner, M. B.; Kilshaw, P. J.; Weis, J. H.: Murine M290 integrin expression modulated by mast cell activation. *Immunity* 1994; 1: 393-403.
58. Cepek, K. L.; Parker, C. M.; Maara, J. L.; Brenner, M. B.: Integrin "E&7 mediates adhesion of T lymphocytes to epithelial cells. *J Immunol* 1993; 150: 3459-3470.
59. Cepek, K. L.; Shaw, S. K.; Parker, C. M.; Russell, G. J.; Morrow, J. S.; Rimm, D. L.; Brenner, M. B.: Adhesion between epithelial cells and T lymphocytes mediated by E-cadherin and the $alpha^E beta7$ integrin. *Nature* 1994; 372: 190-193.
60. Shimizu, Y.; Irani, A. M.; Brown, E. J.; Ashman, L. K.; Schwartz, L. B.: Human mast cells derived from fetal liver cells cultured with stem cell factor express a functional CD51/CD61 (alpha v beta 3) integrin. *Blood* 1995; 86: 930-939.
61. Tigelaar, R. E.; Vaz, N. M.; Ovary, Z.: Immunoglobulin receptors on mouse mast cells. *J Immunol* 1971; 106: 661.
62. Ravetch, J. V.; Luster, A. D.; Weinshank, R.; Kochan, J.; Pavlovec, A.; Portnoy, D. A.; Hulmes, J.; Pan, Y. E.; Unkeless, J. C.: Structural heterogeneity and functional domains of murine immunoglobulin G Fc receptors. *Science* 1986; 234: 718.
63. Cambier, J. C.: Antigen and fc Receptor Signaling. The awesome power of the Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motif (ITAM). *J Immunol* 1995; 155: 3281-85.
64. Yamagushi, M., et al.: IgE enhances mouse mast cell FceRI expression in vitro and in vivo: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. *J Exp Med* 1997; 185: 663-672.
65. Katz, H. R.; Arm, J. P.; Benson, A. C.; Austen, K. F.: Maturation-related changes in the expression of FcgRII and FcgRIII on mouse mast cells with 3T3 fibroblasts stimulates synthesis of globpentaoxylceramide (Forssman glycoplipd) by fibroblasts and surface expression on both populations. *J Immunol* 1988; 140: 3090.
66. Katz, H. R.; Raizman, M. B.; Gartner, C. S.; Scott,

H. C.; Benson, A. C.; Austen, K. F.: Secretory granule mediator release and generation of oxidative metabolities of arachidonic acid via Fc-R bridging in mouse mast cells. *J Immunol* 1992; 148: 868.
67. Latour, S.; Bonnerot, C.; Fridman, W. H.; Daeron, M.: Induction of TNF-” production by mast cells via Fc-R. *J Immunol* 1992; 149: 2155-62.
68. Daeron, M.; Bonnerot, B.; Latour, S.; Fridman, W. H.: Murine recombinant Fc-RIII but not Fc-RIII trigger serotonin release in rat basophilic leukemia cells. *J Immunol* 1992; 149: 1365.
69. Rottem, M.; Barbieri, S.; Kinet, J.-P.; Metcalfe, D. D.: Kinetics of the appearance of Fc-RI-bearing cells in interleukin-3-dependent mouse bone marrow cultures: Correlation with histamine content and mast cell maturation. *Blood* 1992; 79: 972-980.
70. Oettgen, H. C.; Martin, T. R.; Wynshaw-Boris, A.; Deng, C.; Drazen, J. M.; Leder, P.: Active anaphylaxis in IgE-deficient mice. *Nature* 1994; 370: 367-370.
71. Sylvestre, D. L.; Ravetch, J. V.: A dominant role for mast cell Fc Receptors in the Arthus reaction. *Immunity* 1996; 5: 387-390.
72. Huff, T. F.; Lantz, C. S.; Ryan, J. J.; Leftwich, J. A.: Mast cell committed progenitors. In: Biological and molecular aspects of mast cell and basophil differentiation and function. Kitamura, et al. (eds.) New York: *Raven Press* 1995; p. 105-117.
73. Daeron, M.; Malbec, O.; Latour, S.; Arock, M.; Fridman, W. H.: Regulation of high-affinity IgE receptor-mediated mast cell activation by murine low-affinity IgG receptors. *J Clin Invest* 1995; 95: 577-85.
74. Scharenberg, A. M.; Kinet, J. P.: The emerging field of receptor-mediated inhibitory signaling: SHP or SHIP? *Cell* 1996; 87: 961-64.
75. Castells, M.; Katz, H. R.; Austen, K. F.: Molecular and cellular biology of rodent mast cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 99: 189-195.
76. Castells, M.; Wu, S.; Arm, J. P.; Austen, K. F.; Katz, H. R.: Cloning of the gp49B gene of the immunoglobulin superfamily and demonstration that one of its two products is an early-expressed mast cell surface protein originally described as gp49. *J Biol Chem* 1994; 269: 8393-8401.
77. Arm, J. P.; Gurish, M. F.; Reynolds, D. S.; Scott, H. C.; Gartner, C. S.; Austen, K. F.; Katz, H. R.: Molecular cloning of gp49, a cell surface antigen that is preferentially expressed by mouse mast cell progenitors and is a new member of the immunoglobulin superfamily. *J Biol Chem* 1991; 266: 159-66.
78. Katz, H. R.; Austen, K. F.: A newly recognized pathway for the negative regulation of mast cell-dependent hypersensitivity and inflammation mediated by an endogenous cell surface receptor of the gp49 family. *J Immunol* 1997; 158.
79. Katz, H. R.; Vivier, E.; Castells, M. C.; McCormick, M.; Chambers, J. M.; Austen, F. K.: PNAS USA 1996; 93: 10809-12.
80. Rojo, S.; Burshtyn, D. N.; Long, E. O.; Wagtmann: Type I Tranmembrane receptor with inhibitory function in mouse mast cells and NK cells. *J Immunol* 1997; 158.
81. Arm, J. P.; Nwankwo, Ch.; Austen, F. K.: Molecular identification of a novel family of human Ig superfamily members that possess immunoreceptor Ytrosine-based inhibition motifs and homology to the mouse gp49B1 inhibitory receptor. *J Immunol* 1997; 15: 2342-49.
82. Franji, P.; Oskerizian, C.; Cacaraci, F., et al.: Antigen-dependent stimulation of bone marrow-derived mast cells of MHC class II-restricted T cell hybridoma. *J Immunol* 1993; 151: 6318-6328.
83. Fox, C. C.; Lakshmanan, R. R.: Rat mast cells express accessory molecules for antigen presentation. FASEB *Journal* 1994, A498 (Abstract).
84. Fuleihan, R.; Ramesh, N.; Geha, R. S.: Role of CD40-CD40-ligand interaction in Ig-isotope switching. *Current Opin Immunol* 1993; 5: 963-967.
85. Gascan, H.; Gauchat, J.-F.; Aversa, G.; van Vlassalaer, P.; de Vries, J. E.: Anti-CD40 monoclonal antibodies or CD4-T cell clones and IL-4 induce IgG4 and IgE switching in purified human B cells via different signaling pathways. *J Immunol* 1991; 147: 8.
86. G. Gauchat, J.-F.; Henchoz, S.; Mazzel, G.; Aubrey, J.-P., et al.: Induction of human IgE synthesis in B cells by mast cells and basophils. *Nature* 1993; 365: 340-343.