

Las células T memoria: un enigma aún por esclarecer.

Miguel Alfonso

Resumen

En esta revisión, se discute sobre el origen y supervivencia de las células T memoria, esenciales para el funcionamiento del sistema inmunológico, cuya comprensión de los mecanismos implicados dará lugar a mejores estrategias para el desarrollo de vacunas. La discusión está centrada sobre recientes resultados que indican la importancia que poseen ciertas citocinas (IL-7 e IL-15) en estos procesos durante la respuesta inmunológica, principalmente en las células T CD8, las cuales han sido mejor caracterizadas que las células T CD4. La revisión está estructurada de acuerdo a la secuencia de la activación de la respuesta inmunológica en presencia de un antígeno: el papel de las citocinas desde la activación inicial de las células T, a través de la fase de contracción hasta el origen y mantenimiento de las células memoria. Asimismo, se discute la implicación de estas citocinas sobre la inmunopatología del VIH (virus de la inmunodeficiencia humana), lo cual puede dar una mayor claridad sobre los procesos involucrados en las células memoria en esta infección.

Palabras claves

células T memoria, IL-2, IL-7, IL-15, VIH

Title

The memory cells: an enigma still to clarify

Abstract

In this revision, it is discussed about the origin and survival of memory T cells, essentials for the operation of the immune system whose compression of implied mechanisms will give rise to better strategies for the vaccine development. The discussion is centered on recent results that indicate the importance of certain cytokines (IL-7 and IL-15) in these processes during the immune response, mainly in the T CD8 cells, which have been characterized better than the T CD4 cells. The revision is structured according to the activation sequence of immune response in presence of an antigen: the role of cytokines in initial T cells activation, through the contraction phase to memory-cell development and maintenance. Also, it is discussed the cytokine implication on the HIV (Human Immunodeficiency Virus) immunopathology, which can give better clarify about the processes involved the memory-cells in this infection.

Key words

memory T cells, IL-2, IL-7, IL-15 and HIV

Introducción

La memoria es una de las características básicas del sistema inmunológico. La habilidad de este sistema para producir una respuesta inmunológica más rápida y más vigorosa ante un segundo encuentro con un antígeno específico, puede persistir por décadas. A pesar de que los procesos que conducen a la generación y persistencia de linfocitos B memoria en los centros germinales son bien conocidos (1, 2), no se puede decir lo mismo para los mecanismos que originan y mantienen a las células T de memoria, los cuales han sido objeto de intensos estudios y debate. La comprensión de estos procesos es clave para el desarrollo de estrategias más efectivas y eficientes para la creación de vacunas. Un sustancial cuerpo de nuevas evidencias ha comenzado a surgir recientemente para dar respuestas a las interrogantes sobre este tópico, donde diversas moléculas, específicamente ciertas citocinas, tales como IL-7 y la IL-15, están jugando un papel muy importante en el desarrollo y supervivencia de las células T de memoria. Previo a la exposición de todas estas evidencias en esta revisión, se discutirá inicialmente la identificación de las células T de memoria, y cómo poderlas distinguir de las células T vírgenes, lo cual no ha sido posible sino a través de la utilización de múltiples criterios, a través de la expresión diferenciada de marcadores de superficie de estos subgrupos celulares.

Diferencias fenotípicas entre células T vírgenes y de memoria.

La suposición que las células T vírgenes y de memoria pueden ser distinguidas fenotípicamente, está basada sobre la noción de que las células T de memoria retienen permanentemente una serie de moléculas marcadoras de superficie después de haber respondido al antígeno, lo cual no se observa en las células T vírgenes. La identificación precisa de las células T de memoria, sin embargo, continúa siendo un problema, debido a varias causas: i) el fenotipo de la célula T de memoria es completamente heterogéneo (3); ii) este fenotipo de memoria es diferente para las células T CD4 y CD8, comprendiendo al menos dos subgrupos denominados como “memoria efector” y “memoria central” (4-6); iii) algunos de estos cambios pueden ser reversibles (3, 7); iv) la proliferación homeostática puede inducir a células T vírgenes a la adquisición del fenotipo memoria/efector en la ausencia de antígenos (8, 10) y iv) el inmunofenotipo de la célula T no siempre se correlaciona con la función (11).

El caso de la discriminación entre las células T de memoria de las efectoras, está basado en criterios que son muy ambiguos y difíciles de determinar experimentalmente: las células T de memoria difieren de las efectoras por su continuada supervivencia después de una respuesta inmune aguda, tienen una baja tasa de apoptosis y presentan un menor estado de activación.

A pesar de todas estas dificultades, se han encontrado numerosas diferencias fenotípicas entre las células T vírgenes y de memoria. La mayoría de estas diferencias son cambios que se producen durante la activación inicial de las células T y parecen persistir en las células de memoria. Estas diferencias predominan especialmente en la expresión diferencial de moléculas de adhesión en la superficie celular entre ambos tipos de células. De este modo, ha sido descrito que en comparación a las células vírgenes, las células de memoria expresan altos niveles de las integrinas $\beta 1$ (CD29, CD49d y CD49e) y $\beta 2$ (CD11a, CD11b y CD18), CD2, CD44, CD54 y CD58 (12-16). El aumento de la expresión de moléculas de adhesión sobre células T recientemente activadas, refleja el requerimiento de las células T efectoras para entrar a los sitios de inflamación de los tejidos periféricos e interactuar con las células dianas, y puede asimismo afectar la función de algunas otras células T de memoria.

La expresión de otras moléculas envueltas en la migración linfocitaria también difiere entre células T de memoria y vírgenes. Últimamente se ha generado un gran interés sobre la expresión de dos moléculas claves requeridas para la entrada de células T en los nódulos linfáticos, a través de las vénulas de endotelio alto (HEVs, en inglés): la CD62L y la CCR7. La primera enlaza a la adhesina vascular expresada sobre las HEVs y es responsable para el estado inicial de adherencia de las células T al HEVs (17), mientras que la molécula CCR7 es un tipo de receptor de quimiocinas que controla la sensibilidad a las mismas. Esta es expresada en las HEVs, específicamente en los sitios de entrada de los linfocitos (18). Mientras las células T vírgenes son uniformes en la expresión de altos niveles de ambas moléculas, algunas células T de memoria pierden la expresión de CD62L y/o CCR7 (4, 19-21).

La molécula CD45, uno de los marcadores de superficie más usado para la discriminación entre células T de memoria de las vírgenes, es una fosfatasa-tirosina que regula la señalización a través del receptor de antígenos y el receptor de ciertas citocinas (22). Esta molécula se diferencia entre las células T vírgenes y memoria, más por su forma que por su nivel de expresión. Efectivamente, múltiples isoformas de la CD45 han sido identificadas, las cuales son generadas por un procesamiento diferencial (*splicing*) de tres exones extracelulares (A, B y C). Estas isoformas restringidas pueden ser detectadas específicamente por anticuerpos monoclonales dirigidos contra los productos de los exones variablemente procesados. De este modo, las células T vírgenes expresan las isoformas con los más altos pesos moleculares, conteniendo los tres exones (comúnmente referidas como CD45RA en humanos). Durante el curso de la activación de las células T, estas células cambian la expresión de las isoformas a las de los bajos pesos moleculares, donde en el caso de los humanos, las células T activadas expresan la isoforma del CD45, careciendo todos los productos de los procesados exones variables (definido como CD45RO) (23).

Debido al hecho de que las propiedades fenotípicas asociadas con las células T de memoria son adquiridas inmediatamente después de la activación, estos marcadores no pueden ser usados para discriminar entre las células recientemente activadas y las células memoria. Por esta razón, se requiere de otros parámetros para tal fin. Recientemente se demostró que las células T CD45RO en sangre humana pueden ser divididas en dos subpoblaciones, CD62L+ CCR7+ y CD62L- CCR7- (4). Estas células han sido denominadas células “memoria centrales” y “memoria efectoras” respectivamente, basado en expresión de moléculas “autoguiadoras” a los nódulos linfáticos y en sus propiedades funcionales. Además, las células T de memoria CD62L+ CCR7+, pueden expresar moléculas asociadas a las células T vírgenes, tales como la CD45RA (4), complicando aún más la identificación de las células T de memoria. Efectivamente, diversos trabajos han descrito la reversión fenotípica de células memoria a células vírgenes, por la re-expresión de un fenotipo “virgen” en la superficie de estas células de moléculas tales como CD62L, CCR7 y CD45RA, donde previamente eran negativas para estos marcadores (24-27). Esta reversión fenotípica puede ocurrir a diferentes tasas y en diferentes especies y también difiere entre las células T CD4 y CD8. Se ha sugerido que esta reversión fenotípica refleja un mecanismo de las células activadas denominado “*cooling down*”, donde la ausencia de contacto con el antígeno resulta en un retorno a un estado de reposo de la célula y la pérdida de la expresión sobre la superficie de las moléculas de activación. Por lo que se deduce que la retención de los marcadores de memoria puede indicar un periódico contacto con el persistente antígeno (23).

Basado en todos estos resultados, se puede deducir que la utilización de un sólo marcador para distinguir entre las células T de memoria de las vírgenes, no es recomendable.

Actualmente, se usa la combinación de múltiples criterios para identificar estas células y aún así, se requiere de un gran cuidado, especialmente en la interpretación de los resultados originados de numerosos experimentos que buscan caracterizar la naturaleza de las células T de memoria definidas por su fenotipo.

Fases de una respuesta inmunológica

Se han descrito cuatro eventos o fases principales durante una respuesta inmunológica, los cuales están íntegramente relacionados a la eventual generación de células T de memoria: fase de iniciación, fase de expansión clonal, fase de contracción y finalmente, la generación de células T de memoria. Siguiendo un encuentro con un antígeno extraño presentado por células especializadas, tales como las células dendríticas (CD), las células T proliferan y se diferencian en células efectoras y memoria (28). Con respecto a las células T CD8, las células T efectoras se convierten en citolíticas y producen ciertas citocinas, en particular IFN- γ , mientras que las células T CD4 producen citocinas (Th1 y Th2) que pueden mediar efectos directos sobre las células dianas o asistir en la activación de otros mecanismos efectoras del sistema inmunológico (29, 30). Seguidamente a la activación, se presenta una fase de eliminación de una gran mayoría de células T específicas, activadas mediante el proceso de la apoptosis, debido a la privación de factores de supervivencia y a la presencia o ausencia de citocinas como producto de la desaparición del estímulo antigénico (31), pero una fracción sobrevive como células de memoria (32-34). Se han propuesto dos mecanismos responsables de la fase de eliminación de una respuesta inmune. La primera consiste en una muerte celular inducida por la activación (AICD, en inglés), la cual depende de la expresión de Fas y Fas ligando, así como de la producción de IL-2 (35, 36) y ocurre en las primeras fases después de la expansión, cuando la concentración de antígenos todavía es alta. Este mecanismo no es inhibido por una sobreexpresión de los factores anti-apoptóticos Bcl-2 y Bcl-x (37). El segundo mecanismo es pasivo, debido a la disminución de IL-2 cuando el estímulo antigénico se está eliminando. Al contrario de la AICD, la muerte pasiva puede ser prevenida por la sobreexpresión de Bcl-2 y Bcl-x (37, 38). Las células sobrevivientes son células de memoria, las cuales son capaces de producir una respuesta más rápida al reencuentro del mismo antígeno, activando a células T CD8 u otra célula del sistema inmunológico, dependiendo del contexto en que se activa este sistema. Si embargo, es importante destacar que repetidos contactos con una persistente fuente de antígenos conduce a una rápida expansión seguida por una fase apoptótica por AICD, lo cual no favorece el desarrollo de memoria (39-42).

a) Fase de iniciación

Se han obtenido evidencias que tres citocinas, (IL-2, IL-7 e IL-15), poseen un papel crucial para la generación y mantenimiento de las células T de memoria, especialmente en las células T CD8 (Figura 1). Aunque sus funciones pueden estar solapadas en algunos casos, sus actividades sobre las células T pueden ocurrir simultáneamente o en diferentes puntos temporales durante una respuesta inmunológica. La mediación de funciones comunes de estas citocinas es debido, en parte, a que comparten subunidades del receptor de citocinas y las vías de señalización (Figura 2). Una cadena β común está presente tanto en el receptor de IL-2 (IL-2R) como en el receptor de la IL-15 (IL-15R), el cual señala a través de la JAK 1 (*Janus kinasa 1*, en inglés). Los tres receptores usan la γC , la cual señala a través de JAK 3 (43). Se piensa que la cadena IL-15R α tiene habilidades de señalización, posiblemente a través de una región que enlaza al TRAF2 (*tumour-necrosis factor receptor-associated factor 2*) (44), aunque esta posibilidad no ha sido explorada en detalle. Un hecho importante consiste en que parte de la regulación de los efectos temporales de estas citocinas, se debe a la regulación

diferencial de la expresión de los receptores de las mismas, tal como se observa en la Figura 3. Por ejemplo, las células T vírgenes expresan IL-7R α , IL-15R α , IL-2 β (CD122) y γ c, pero no expresan IL-2R α (CD25) (Figura 3). Este patrón de la expresión de receptores tiene consecuencias funcionales. El IL-7R α es requerido para la supervivencia de las células T vírgenes, pero no es conocido si la IL-15 participa en este proceso. Sin embargo, ratones deficientes de IL-15R α e IL-15 contienen la mitad del número normal de células T CD8 vírgenes (45, 46), lo cual indica que esta citocina es esencial para la producción o supervivencia de las células T CD8 vírgenes. La expresión de la IL-7R e IL-15R sobre las células T vírgenes provee una oportunidad para que sus citocinas correspondientes puedan participar en las fases iniciales de la activación de la respuesta inmune. Esta activación celular requiere de antígeno, sin embargo, dependiendo del contexto en que es identificado el antígeno, determinará el resultado final la respuesta. Este contexto puede estar alterado por componentes de la respuesta innata y/o por adyuvantes. Un ejemplo de esto es la unión de receptores Toll-like (TLRs) y la inducción de la expresión de IFN- α/β y de otras citocinas, quienes pueden activar las principales células presentadoras de antígeno, las CD (46, 47).

Se ha descrito que la producción de la γ c de la IL-15 por las CD es activada por las citocinas IFN- α/β (48) y estas CD activadas expresan ARNm para IL-2 (49). Además, se conoce por pruebas *in vitro* que la IL-15 es esencial para la activación óptima de las CD (50). De este modo, una vía autocrina de la producción de IL-15 e IL-15R, actuando sobre las CD, puede optimizar la activación de la célula T (Figura 1). Acoplados estos hechos con la demostración de que, la señalización del TLRs es requerida para iniciar una respuesta de las células T (46), indican que la producción de citocinas inducida por TLRs podría ser uno de los eventos tempranos que son esenciales para la iniciación e integración de la respuesta inmune. De esta manera, las citocinas controlan la generación de células T de memoria desde el inicio.

Queda por establecer si las IL-15 e IL-2 producidas por las CD actúan directamente sobre las células T.

b) Fase de expansión clonal

Existe un punto controversial referente a la generación de células de memoria durante la expansión clonal, del cual se han planteado dos hipótesis: a) las células T CD8, son inducidas a dividirse, y progresivamente diferenciarse, en células citotóxicas efectoras (CTLs, *lymphocyte T cytotoxic*, en inglés) y en células de memoria después de cada encuentro con el antígeno. En base a este modelo, la división y diferenciación de las células T CD8 activadas, son dependientes de una continua estimulación antigénica y las células pudieran parar al momento de haber sido removido el antígeno. Si el número de células presentadoras de antígenos está limitado, y las células son de corta vida, entonces las células T CD8 no pueden dividirse el número de veces necesario para estimular los cambios fenotípicos y pueden residir en estados parcialmente diferenciados (51); b). Alternativamente, puede ser que las células T CD8 están programadas desde su origen para proliferar y diferenciarse en células efectoras CTLs y de memoria cuando se encuentren con el antígeno. Este programa se inicia por la activación de las células T CD8 parental, las cuales instruyen a las células hijas para dividirse y diferenciarse en las dos subpoblaciones celulares sin necesidad de la presencia de una fuerte estimulación antigénica. Este modelo predice que si el antígeno no es abundante (por ejemplo, durante ciertas infecciones), entonces las células T CD8, que devienen activadas, son aún capaces de diferenciarse en células de memoria. Con la aplicación de la técnica de tetrámeros del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), se han podido obtener nuevas oportunidades para estudiar la expansión de las células T específicas al antígeno durante una respuesta inmune ante una infección (52). Una sorpresiva característica de esta respuesta es la sincronía de las

poblaciones de células T específicas para el antígeno que difieren en cantidad y estabilidad, sugiriendo que otros factores, más que la persistencia del antígeno, determinan la duración de la expansión de las células T (53). Esta noción fue soportada por tres subsecuentes trabajos que demuestran, que las células T CD8, requieren solamente de una breve estimulación para activar un programa de una proliferación prolongada en la ausencia de una fuerte exposición al antígeno (54-56). Estos estudios sugieren que el encuentro inicial de las células T vírgenes con el antígeno, tiene profundas implicaciones para la duración y la extensión de la proliferación y diferenciación.

En el caso de las células T CD4, su respuesta es más heterogénea (57, 58), donde los mecanismos que ocasionan estas diferencias son desconocidos pero pueden estar relacionados con requerimientos diferenciales para citocinas particulares. Por ejemplo, se ha demostrado que la diferenciación a células T CD4 de memoria, no requiere que las células vírgenes pasen por un estado efector intermedio (59, 60), mientras que las células T CD8 vírgenes, transitan a través de un estado efector antes de la diferenciación a una célula T de memoria (8, 55, 56, 61).

La expansión de las células T durante una infección, resulta de un predominio de la proliferación con respecto a la muerte celular. En el pico de la fase de expansión, ambos procesos están balanceados y a partir de este momento, comienza a predominar la muerte celular donde se inicia la fase de contracción. Las proteínas pro y anti-apoptóticas están jugando un papel importante en estos cambios de la tasa de apoptosis. Se conoce que en las células vírgenes, los niveles de Bcl-2 son relativamente altos, pero comienzan a disminuir en las células efectoras cuando ellas sufren la expansión/contracción entre 8 a 20 días después de una infección (62).

Por otra parte, las evidencias indican que la extensión de la expansión clonal primaria de las células T está correlacionada con el nivel de memoria generada, por lo que factores que participen en esta expansión estarían involucrados en la generación de las células de memoria.

Durante la expansión clonal, la expresión de IL-2R es rápidamente aumentada, pero de forma transitoria (63, 64), mientras que la expresión incrementada de IL-15R se mantiene (65) (Figura 3). Numerosas citocinas, tales como IL-2, IL-4, IL-7 e IL-15, pueden afectar la proliferación y supervivencia de las células T. Existen evidencias de que la IL-2 autocrina controla la magnitud de la respuesta de las células T CD8 en tejidos no linfoides mediante efectos combinados sobre el crecimiento celular y sobre la apoptosis, pero no es esencial para el crecimiento de las células T CD8 (66). En el caso de las células T CD4, se conoce mediante experimentos *in vivo*, que la IL-2 puede controlar su expansión, a través de la inducción de apoptosis (67); asimismo se ha observado que la IL-2 es requerida para la expansión *in vitro* de las células T CD4, pero aún no se ha demostrado este efecto *in vivo* (67-69). Por otra parte, se ha demostrado que la IL-7 es indispensable para la expansión homeostática de células T CD4 y CD8 vírgenes, pero no se requiere para la expansión de células T CD8 antiviral (65, 70). Finalmente, la IL-15 es capaz de inducir *in vitro* la proliferación de células T, mediada por el receptor de la célula T (TCR) (71), contribuyendo así, a la amplitud del pico de la expansión clonal. Se ha descrito una disminución del 50% de células T CD8 específica al VSV (*Vesicular Stomatitis Virus*) en ratones deficientes de IL-15 (72), indicando la importancia de esta citocina sobre la generación de células T CD8 de memoria.

c) Fase de contracción celular

En el momento que comienza a activarse una respuesta inmune por la presencia de un antígeno, las células efectoras producidas comienzan a sufrir de apoptosis, ocasionando un retorno del equilibrio de las poblaciones celulares que habían proliferado inicialmente. Sin embargo, hay un pequeño número de estas células que escapan de la muerte y devienen en células de memoria. Se conoce que la programación de la apoptosis se inicia desde el mismo momento de la activación de la respuesta, la cual es independiente de la magnitud de la misma y de la presencia del antígeno (73). Esto indica que la contracción es un fenómeno pasivo, aunque el IFN- γ y la IL-2, pueden estar jugando un papel importante sobre la misma (36, 74, 75).

En el caso de las citocinas IL-7 e IL-15, se ha observado que son necesarias durante o antes de la fase de contracción para la estimulación de la producción de las células memoria (65, 72). Por ejemplo, se ha observado que en ratones deficientes de IL-15 e IL-15R, comienza a evidenciarse, al principio de la fase de contracción, un déficit importante de células T CD8 específicas al antígeno, sin tener en cuenta, si hay un defecto en el pico de la respuesta (72, 76). En caso contrario, en ratones transgénicos a la expresión de IL-15, al ser infectados con *Listeria monocytogenes*, se produce una fase de contracción mucho más prolongada en el tiempo y una mayor cantidad de células de memoria (77). Según estos últimos resultados, los autores proponen que puede ser por un efecto positivo en la proliferación celular por parte de la IL-15 y/o por un aumento de Bcl-2 y Bcl-X. Por otra parte, existen diversos trabajos que demuestran el papel que está jugando la IL-7, especialmente para la homeostasis de las células T CD8. A pesar que el uso de ratones deficientes en IL-7 y/o IL-7R les ocasiona una inmunodeficiencia severa, lo cual hace difícil estudiar si los niveles de IL-7 están aumentados en una respuesta inmunológica, se han podido obtener algunos resultados interesantes. Por ejemplo, en reciente estudio usando ratones knock-out para IL-7 e IL-7R, se demostró que esta citocina es importante para la proliferación homeostática, tanto de células vírgenes como de memoria (65). Interesantemente, en ese trabajo se pudo observar que ocurría una baja regulación de la IL-7R en las células T CD8 activadas, acompañada de una disminución del nivel de Bcl-2, lo cual afectaba la expansión de estas células, sugiriendo la relación que existe entre la IL-7, la Bcl-2 y la tasa de apoptosis. Previamente se había observado que el efecto de supervivencia que ejerce la IL-7, se debe en parte a la capacidad que posee esta citocina para aumentar o sostener la expresión de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 (78-80).

Finalmente, en base a todos estos resultados se ha propuesto la hipótesis que una población pequeña que retenga expresada la IL-7R, es la que se va a transformar en células de memoria, gracias al rescate de estas células de la apoptosis por la presencia de IL-7 (81).

d) Mantenimiento de las células T de memoria

Similar a las células T vírgenes, las células T de memoria están en un estado de reposo, sin embargo, ellas retienen muchas de los atributos funcionales de las células efectoras. Estos atributos incluyen la expresión de muchas de las moléculas de adhesión o de interacción celular, rápida producción de citocinas polarizadas como resultado de la demetilación del promotor de citocinas y rápida expansión después de la re-estimulación (7, 82,83).

La homeostasis de las células T de memoria es mediada por un balance entre un bajo nivel de proliferación de estas células con la supervivencia y muerte. Esto es muy diferente a lo que sucede en las células T vírgenes, las cuales no se dividen y tienen una limitada vida media (84-86). La renovación y supervivencia de las células T CD4 y CD8 memoria no requiere ni de antígenos ni del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (86-90), aunque las

interacciones del complejo TCR/CMH se requieren para mantener la función de las células T de memoria (90).

A partir de los estudios de Tough y col., (91, 92) se obtuvieron evidencias de que las citocinas juegan un papel esencial en el mantenimiento de las células T de memoria en ratones. Los autores, inyectando en ratones tanto IFN tipo I (IFN $-\alpha/\beta$) como inductores de IFN $-\alpha/\beta$ lograron estimular la proliferación (independiente del TCR) de células T CD8 de memoria (CD44^{hi}). Subsecuentemente, se encontraron otras citocinas, incluyendo IL-12, IL-15, IL-18 e IFN- γ , que ejercían efectos similares (93, 94) pero notablemente, el aumento de la proliferación estaba restringido a las células T CD8 CD44^{hi} (células de memoria) y no se observaba en las células T CD8 vírgenes. De todas estas citocinas, solamente la IL-15 tenía un similar efecto *in vitro* en células T CD8 de memoria purificadas, asociado a una sobreexpresión de la cadena β de la IL-15R (93). Debido a que las citocinas IL-12, IL-18, IFN- α/β e IFN- γ , son capaces de sobrerregular la expresión de IL-15 por las células presentadoras de antígenos (las dos primeras por la inducción de IFN- γ), se ha propuesto que la IL-15 actúa como una molécula común efectora final, mediando los efectos sobre las células T CD8 de memoria (93, 94).

Basado en la observación de que la inyección de IL-15 o la inducción de la sobreexpresión de IL-15 *in vivo*, resulta en una proliferación de células T CD8 de memoria, se hipotetizó que la alta proliferación de estas células en ratones normales se debía a una producción basal de esta citocina. Apoyando esta idea, al inyectar anticuerpos anti-CD122 (IL-15R) en ratones, se pudo evidenciar que ocurría una reducción drástica de la proliferación de las células T CD8 de memoria (95). A pesar que este anticuerpo puede bloquear la señalización a través de IL-15R y de IL-2R, parece ser que los efectos inhibitorios son ejercidos por el bloqueo de IL-15, debido a que la inyección de anti-IL-2 + anti-IL-2R α aumenta la proliferación de las células T CD8 de memoria. Los autores concluyen que estas dos citocinas, IL-15 e IL-2, tienen efectos antagonistas *in vivo* sobre la proliferación de las células T CD8 CD44^{hi}. En el caso de los humanos, se pudo evidenciar que esta citocina, la IL-15, ejerce un efecto proliferativo en células T CD4 y CD8 de memoria (96, 97).

Adicionalmente, para estudiar los mecanismos involucrados en el mantenimiento de las células T de memoria por la IL-15, se utilizaron ratones deficientes en IL-15 o IL-15R para medir la renovación de células T CD8 de memoria, específicas al VSV y al LCMV (*Virus de la Coriomeningitis Linfocítica*) (76, 98). Los autores encontraron que la incorporación de Bromodeoxyuridine (BrdU) (marcador de proliferación celular) fue muy deficiente en los ratones mutantes. Además, se pudo observar que estas células no proliferaban al ser transferidas a ratones deficientes de IL-15. Finalmente, las células T CD8 de memoria específicas al LCMV generadas en ratones deficientes de IL-15, se dividían al ser transferidas a ratones normales, indicando que cualquier efecto causado por la ausencia de IL-15 es reversible (76). Los resultados de ambos estudios hacen concluir que la IL-15 es esencial para el mantenimiento de las células T CD8 de memoria por su capacidad de generar su división.

En el caso de las células T CD4 de memoria, la IL-15 parece ser que no ejerce ningún papel importante en su proliferación ni *in vitro* ni *in vivo* (93). Se ha observado una cantidad normal de estas células T CD4 de memoria en ratones deficientes de IL-15 o IL-15R (45, 99). Además, ratones deficientes de la cadena $\gamma 2$ común presentan células T CD4 de memoria con larga vida, indicando claramente que ninguna de las citocinas que utilicen este componente del receptor (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15), son esenciales para la supervivencia de esta población celular (100). De este modo, si las citocinas juegan un papel sobre el mantenimiento de las células T

CD4 de memoria, los factores involucrados son claramente distintos de aquellos que ejercen efectos sobre las células T CD8 de memoria y/o vírgenes. Sin embargo, es importante señalar que en el caso de los humanos, se han obtenido evidencias de que la IL-15 ejerce un efecto proliferativo en células T CD4 de memoria (96, 97), lo cual hace pensar que los procesos responsables del mantenimiento de las células T CD4 de memoria son diferentes entre distintas especies.

Como se ha observado, el mantenimiento de las células T de memoria es dependiente de la IL-15, sin embargo, una de las preguntas que queda en el aire es si esta citocina interviene en la función de estas células. Para responder a esta cuestión, el trabajo de Becker y col., (76) pudo constatar que la funcionalidad de las células T CD8 de memoria, específicas a LCMV, expresada como la producción de citocinas efectoras, era normal en la ausencia de la IL-15. Los autores obtuvieron resultados donde se observa una producción similar de IFN- α y TNF- α por células T CD8 de memoria, específicas a LCMV en ratones deficientes de IL-15 o IL-15R con respecto a ratones normales, indicando claramente que la IL-15 parece ser que no ejerce ningún efecto sobre la funcionalidad de las células T CD8 de memoria.

Por otra parte, el papel de la IL-7 sobre la supervivencia de las células T de memoria se ha investigado debido a que estas células presentan una gran expresión de IL-7R (Figura 3) y esta citocina es un factor de supervivencia de la célula T (65, 98, 101, 102). Ratones transgénicos que expresan la IL-7 bajo el control de un promotor del CMH clase II, presentan un número alto de células T CD8 de memoria, el cual no está asociado a un aumento de la tasa de proliferación de estas células (103). Además, la IL-7 tiene la capacidad de mantener la sobrevivencia de un subgrupo de células T de memoria que no se dividen de forma constitutiva. Efectivamente, hay una pequeña población de células T CD8 de memoria específica a VSV o LCMV, que persiste después de un año de haber sido infectados ratones deficientes de IL-15 o IL-15R, indicando que la IL-15 no se requiere de forma absoluta para ejercer esta función de supervivencia (65, 76). Aunado a esto, se ha observado que esta población celular no declina en el tiempo en la ausencia de IL-15, sugiriendo que otro factor está interviniendo en este fenómeno. Se ha propuesto que es la IL-7 la protagonista de este fenómeno. Efectivamente, bloqueando la IL-7R con un anticuerpo monoclonal inyectado en ratones deficientes en IL-15, se encontró una mayor deficiencia de células T CD8 de memoria (102). Todos estos resultados hacen concluir que la IL-15 e IL-7, intervienen en diferentes parámetros para el mantenimiento de las células T CD8 de memoria. Por un lado, la IL-15 interviene en la regulación de la renovación celular, y por el otro lado, la IL-7, ejerce su papel homeostático en la supervivencia de las células T CD8 de memoria.

Las citocinas IL-7 e IL-15 en la infección por VIH

Es conocido que la homeostasis de las células T se pierde durante la infección por el VIH. Este virus es capaz de producir un aumento de la destrucción de los linfocitos T, una disminución de la producción de los mismos y graves defectos en la inmunidad mediada por células (104, 105). Se ha demostrado *in vitro* que las células de memoria son más fáciles de ser infectadas por el VIH en relación a las células vírgenes, (106, 107) y que son más susceptibles de sufrir los efectos citotóxicos inducidos por el virus (108, 109). Sin embargo, en los individuos infectados con VIH-1, esta subpoblación celular es la menos eliminada durante la infección (110-112), paradoja que se ha tratado de esclarecer en los últimos años. En efecto, en el trabajo de Riley y col., (109), se demuestra que las células T CD4, vírgenes soportan menos la replicación del VIH tipo X4 que las células de memoria, pero estas últimas son más resistentes a la infección y a la replicación del virus tipo R5, con respecto a las células vírgenes. Esta protección se debe a una significativa producción de β -quimiocinas tales como RANTES, MIP-1 α y MIP-2,

por parte de estas células de memoria, las cuales son capaces de bloquear la unión del virus con su co-receptor CCR5, expresado en las células T. Los autores proponen un modelo de la transmisión y patogénesis del VIH-1, en el cual las células T CD4 vírgenes, más que las células T CD4 de memoria, sirven como blancos para los tempranos ciclos de la replicación del VIH-1, donde predomina generalmente, el virus tipo R5. Esto ocasiona una mayor disminución de las mismas en relación a las células T de memoria.

Como se expuso en los capítulos anteriores de esta revisión, en la homeostasis de las células T intervienen diferentes factores que estimulan la diferenciación, supervivencia y/o expansión de estas células, donde unos de estos factores son la IL-7 y la IL-15, cuyas funciones son esenciales para los mencionados procesos homeostáticos de las células T de memoria. En los últimos años diversos grupos de investigación han intensificado sus trabajos sobre el papel de estas citocinas en el marco de la inmunopatología del VIH.

Efectivamente, dentro del marco de la infección VIH, se ha observado que existe una correlación entre el aumento de los valores sanguíneos de IL-7 y la elevada producción en CD de nódulos linfáticos de pacientes VIH(+), con la pérdida de las células T CD4 (113). En ese trabajo, se propone que esta alta producción de IL-7 es parte de una respuesta homeostática del organismo ante la drástica eliminación de células T por el virus, a través de la estimulación de la timopoyesis y de la inducción de la expansión de linfocitos T maduros. Asimismo, se indica que los altos valores de IL-7, están correlacionados con un aumento de la replicación del VIH en todas las fases de la infección, hecho que confirma los resultados obtenidos en estudios *in vitro* (114, 115). Todos estos resultados tienen implicaciones directas e importantes sobre la posibilidad de la utilización de esta citocina en inmunoterapias para la infección VIH.

En el caso de la IL-15, los resultados obtenidos en los últimos años por diversos grupos de investigación, están abriendo un abanico de posibilidades muy interesantes para su futura utilización en protocolos clínicos de pacientes infectados por el VIH. A pesar de que existen resultados que indican un papel nulo de esta citocina IL-15 sobre la proliferación, supervivencia y sobre la funcionalidad de clones de CTL anti-VIH (116), la mayoría de trabajos recientes sugieren todo lo contrario. En efecto, se ha observado que esta citocina ejerce un efecto muy importante en la actividad citotóxica anti-VIH de las células NK (Natural killer) de pacientes seropositivos al VIH (117). Los autores demuestran que el efecto citotóxico de esta citocina radica en su capacidad de aumentar la expresión del ligando del factor de necrosis tumoral relacionado a la apoptosis. Un hecho adicional e interesante en este trabajo, es que la IL-7 ejerce también un efecto estimulador de la actividad citotóxica anti-VIH en las células NK, pero de menor cuantía con respecto a la IL-15, gracias a la capacidad que posee la IL-7 de aumentar la expresión del Fas ligando en las células NK.

Por otra parte, se ha observado que la IL-15 es capaz de inhibir la apoptosis por la vía del Fas-L en células T CD8 anti-VIH por una inducción de la producción de Bcl-2 y Bcl-xL (118), ocasionando una mayor supervivencia de estas importantes células en el individuo infectado: es capaz de aumentar la funcionalidad de las células T CD4 y CD8 efectoras/memoria purificadas de pacientes VIH+, al ser estimuladas con anti-CD3, ocasionando una mayor secreción de INF- γ y TNF- α , conjuntamente con un efecto inhibitorio de la apoptosis vía Fas-L sobre estas subpoblaciones celulares (119). Además, en modelos animales (*Macacus rhesus*) infectados con el VIS (Virus de Inmunodeficiencia Simio) se ha observado este mismo efecto estimulador por la IL-15 de la producción de INF- γ en linfocitos CD8 específicos al virus (120).

En el campo de la terapéutica de la infección del VIH, la utilización de estas citocinas, conjuntamente con TARVAE (Terapia Antirretroviral Altamente Efectiva o HAART, por sus siglas en inglés) en los pacientes VIH(+), ha permitido tener una visión más amplia del papel que están ejerciendo estas moléculas en esta infección viral y los resultados obtenidos son prometedores para su uso en inmunoterapia. Pacientes VIH(+) que han sido tratados con la triterapia y que han obtenido beneficios virológicos e inmunológicos, denominados pacientes respondedores, presentan una mayor producción de IL-15 en sus monocitos con respecto a pacientes no respondedores al tratamiento antirretroviral (121). Interesantemente, en este mismo trabajo, se observó que la IL-15 fue capaz de estimular más la producción INF- γ y β -quimiocinas (RANTES, MIP-1 α y MIP- β) de las células T CD4 y CD8 purificadas de los pacientes respondedores, con respecto a los pacientes no respondedores. Sin embargo, se ha observado que células dendríticas derivadas de monolitos, provenientes del grupo de pacientes no respondedores, producen una mayor secreción de IL-15 y una mayor proliferación linfocitaria en presencia de antígenos de VIH (122). Por otra parte, se han correlacionado los niveles plasmáticos de IL-15 con aquellos pacientes que son respondedores ante un tratamiento interrumpido estructuralmente (123), donde los autores proponen que puede ser utilizado ese parámetro para predecir el éxito del tratamiento antirretroviral.

CONCLUSION

A partir de todos estos resultados, podemos decir que los estudios que se desarrollen sobre las citocinas IL-7 e IL-15, presentan un enorme potencial para la comprensión de los procesos que se desencadenan durante la activación del sistema inmunológico con la consecuente génesis de las células T de memoria, pilares del mantenimiento e integración funcional de este sistema. Asimismo, estos estudios realizados en el marco de la infección por VIH, pueden aportar luces muy importantes en la comprensión de la inmunopatología de esta infección viral, donde las células T de memoria, son blanco del ataque viral, y cuyo deterioro es una de las causas del origen de la fase SIDA durante el curso de la infección. Finalmente, los resultados que arrojen estos estudios pueden ayudar de forma significativa en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en la infección por VIH, vinculadas con la inmunoterapia, que pudiesen ser más efectivas y menos costosas que los actuales tratamientos antirretrovirales.

REFERENCIAS

1. **MacLennan IC.** Germinal centers. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 117-139.
2. **Ahmed R, Gray D.** Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science* 1996; 272(5258): 54-60.
3. **Zimmerman C, Brduscha-Riem K, Blaser C, Zinkernagel RM, Pircher H.** Visualization, characterization, and turnover of CD8+ memory T cells in virus-infected hosts. *J Exp Med* 1996; 183(4): 1367-1375.
4. **Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, Lanzavecchia A** Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401(6754): 708-712.
5. **Geginat J, Lanzavecchia A, Sallusto F.** Proliferation and differentiation potential of human CD8+ memory T cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines. *Blood* 2003; 101(11): 4260-4266.
6. **Wherry EJ, Teichgraber V, Becker TC, Masopust D, Kaech SM, Antia R, et al.** Lineage relationship and protective immunity of memory CD8 T cell subsets. *Nat Immunol* 2003; 4(3): 225-234.
7. **Rogers PR, Dubey C, Swain SL.** Qualitative changes accompany memory T cell generation: faster, more effective responses at lower doses of antigen. *J Immunol* 2000; 164(5): 2338-2346.

8. **Oehen S, Brduscha-Riem K.** Differentiation of naive CTL to effector and memory CTL: correlation of effector function with phenotype and cell division. *J Immunol* 1998; 161(10): 5338-5346.
9. **Goldrath AW, Bogatzki LY, Bevan MJ.** Naive T cells transiently acquire a memory-like phenotype during homeostasis-driven proliferation. *J Exp Med* 2000; 192(4): 557-564.
10. **Cho BK, Rao VP, Ge Q, Eisen HN, Chen J.** Homeostasis-stimulated proliferation drives naive T cells to differentiate directly into memory T cells. *J Exp Med* 2000; 192(4): 549-556.
11. **Murali-Krishna K, Ahmed R.** Cutting edge: naive T cells masquerading as memory cells. *J Immunol* 2000; 165(4): 1733-1737.
12. **Sanders ME, Makgoba MW, Sharrow SO, Stephany D, Springer TA, Young HA, et al.** Human memory T lymphocytes express increased levels of three cell adhesion molecules (LFA-3, CD2, and LFA-1) and three other molecules (UCHL1, CDw29, and Pgp-1) and have enhanced IFN-gamma production. *J Immunol* 1988; 140(5): 1401-1407.
13. **Butterfield K, Fathman CG, Budd RC.** A subset of memory CD4+ helper T lymphocytes identified by expression of Pgp-1. *J Exp Med* 1989; 169(4): 1461-1466.
14. **McFarland HI, Nahill SR, Maciaszek JW, Welsh RM.** CD11b (Mac-1): a marker for CD8+ cytotoxic T cell activation and memory in virus infection. *J Immunol* 1992; 149(4): 1326-1333.
15. **Okumura M, Fujii Y, Takeuchi Y, Inada K, Nakahara K, Matsuda H.** Age-related accumulation of LFA-1high cells in a CD8+CD45RAhigh T cell population. *Eur J Immunol* 1993; 23(5): 1057-1063.
16. **Hamann D, Baars PA, Rep MH, Hooibrink B, Kerkhof-Garde SR, Klein MR, et al.** Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *J Exp Med* 1997; 186(9): 1407-1418.
17. **Berg EL, Robinson MK, Warnock RA, Butcher EC.** The human peripheral lymph node vascular addressin is a ligand for LECAM-1, the peripheral lymph node homing receptor. *J Cell Biol* 1991; 114(2): 343-349.
18. **Gunn MD, Tangemann K, Tam C, Cyster JG, Rosen SD, Williams LT.** A chemokine expressed in lymphoid high endothelial venules promotes the adhesion and chemotaxis of naive T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(1): 258-263.
19. **Swain SL, Bradley LM, Croft M, Tonkonogy S, Atkins G, Weinberg AD, et al.** Helper T-cell subsets: phenotype, function and the role of lymphokines in regulating their development. *Immunol Rev* 1991; 123: 115-144.
20. **Bradley LM, Atkins GG, Swain SL.** Long-term CD4+ memory T cells from the spleen lack MEL-14, the lymph node homing receptor. *J Immunol* 1992; 148(2): 324-331.
21. **Hou S, Doherty PC.** Partitioning of responder CD8+ T cells in lymph node and lung of mice with Sendai virus pneumonia by LECAM-1 and CD45RB phenotype. *J Immunol* 1993; 150(12): 5494-5500.
22. **Irie-Sasaki J, Sasaki T, Matsumoto W, Opavsky A, Cheng M, Welstead G, et al.** CD45 is a JAK phosphatase and negatively regulates cytokine receptor signalling. *Nature* 2001; 409(6818): 349-354.
23. **Berard M, Tough DF.** Qualitative differences between naive and memory T cells. *Immunology* 2002; 106(2): 127-138.
24. **Jung TM, Gallatin WM, Weissman IL, Dailey MO.** Down-regulation of homing receptors after T cell activation. *J Immunol* 1988; 141(12): 4110-4117.
25. **Fujii Y, Okumura M, Inada K, Nakahara K.** Reversal of CD45R isoform switching in CD8+ T cells. *Cell Immunol* 1992; 139(1): 176-184.
26. **Sparshott SM, Bell EB.** Membrane CD45R isoform exchange on CD4 T cells is rapid, frequent and dynamic in vivo. *Eur J Immunol* 1994; 24(11): 2573-2578.

27. **Tripp RA, Hou S, Doherty PC.** Temporal loss of the activated L-selectin-low phenotype for virus-specific CD8+ memory T cells. *J Immunol* 1995; 154(11): 5870-5875.
28. **Dutton RW, Bradley LM, Swain SL.** T cell memory. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 201-223.
29. **Mosmann TR, Coffman RL.** TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145-173.
30. **Cho BK, Wang C, Sugawa S, Eisen HN, Chen J.** Functional differences between memory and naive CD8 T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(6): 2976-2981.
31. **Lenardo M, Chan KM, Hornung F, McFarland H, Siegel R, Wang J, et al.** Mature T lymphocyte apoptosis--immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 221-253.
32. **Akbar AN, Salmon M, Savill J, Janossy G.** A possible role for bcl-2 in regulating T-cell memory--a 'balancing act' between cell death and survival. *Immunol Today* 1993; 14(11): 526-532.
33. **Akbar AN, Borthwick N, Salmon M, Gombert W, Bofill M, Shamsadeen N, et al.** The significance of low bcl-2 expression by CD45RO T cells in normal individuals and patients with acute viral infections. The role of apoptosis in T cell memory. *J Exp Med* 1993; 178(2): 427-438.
34. **Murali-Krishna K, Altman JD, Suresh M, Sourdive DJ, Zajac AJ, Miller JD, et al.** Counting antigen-specific CD8 T cells: a reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity* 1998; 8(2): 177-187.
35. **Lenardo MJ.** Fas and the art of lymphocyte maintenance. *J Exp Med* 1996; 183(3): 721-724.
36. **Refaeli Y, Van Parijs L, London CA, Tschopp J, Abbas AK.** Biochemical mechanisms of IL-2-regulated Fas-mediated T cell apoptosis. *Immunity* 1998; 8(5): 615-623.
37. **Van Parijs L, Peterson DA, Abbas AK.** The Fas/Fas ligand pathway and Bcl-2 regulate T cell responses to model self and foreign antigens. *Immunity* 1998; 8(2): 265-274.
38. **Petschner F, Zimmerman C, Strasser A, Grillot D, Nunez G, Pircher H.** Constitutive expression of Bcl-xL or Bcl-2 prevents peptide antigen-induced T cell deletion but does not influence T cell homeostasis after a viral infection. *Eur J Immunol* 1998; 28(2): 560-569.
39. **Jones LA, Chin LT, Longo DL, Kruisbeek AM.** Peripheral clonal elimination of functional T cells. *Science* 1990; 250(4988): 1726-1729.
40. **Webb S, Morris C, Sprent J.** Extrathymic tolerance of mature T cells: clonal elimination as a consequence of immunity. *Cell* 1990; 63(6): 1249-1256.
41. **MacDonald HR, Baschieri S, Lees RK.** Clonal expansion precedes anergy and death of V beta 8+ peripheral T cells responding to staphylococcal enterotoxin B in vivo. *Eur J Immunol* 1991; 21(8): 1963-1966.
42. **Moskophidis D, Laine E, Zinkernagel RM.** Peripheral clonal deletion of antiviral memory CD8+ T cells. *Eur J Immunol* 1993; 23(12): 3306-3311.
43. **Lin JX, Migone TS, Tsang M, Friedmann M, Weatherbee JA, Zhou L, et al.** The role of shared receptor motifs and common Stat proteins in the generation of cytokine pleiotropy and redundancy by IL-2, IL-4, IL-7, IL-13, and IL-15. *Immunity* 1995; 2(4): 331-339.
44. **Bulfone-Pau SS, Bulanova E, Pohl T, Budagian V, Durkop H, Ruckert R, et al.** Death deflected: IL-15 inhibits TNF-alpha-mediated apoptosis in fibroblasts by TRAF2 recruitment to the IL-15R alpha chain. *Faseb J* 1999; 13(12): 1575-1585.
45. **Kennedy MK, Glaccum M, Brown SN, Butz EA, Viney JL, Embers M, et al.** Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. *J Exp Med* 2000; 191(5): 771-780.

46. **Schnare M, Barton GM, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R.** Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2001; 2(10): 947-950.
47. **Biron CA.** Interferons alpha and beta as immune regulators--a new look. *Immunity* 2001; 14(6): 661-664.
48. **Mattei F, Schiavoni G, Belardelli F, Tough DF.** IL-15 is expressed by dendritic cells in response to type I IFN, double-stranded RNA, or lipopolysaccharide and promotes dendritic cell activation. *J Immunol* 2001; 167(3): 1179-1187.
49. **Granucci F, Vizzardelli C, Pavelka N, Feau S, Persico M, Virzi E, et al.** Inducible IL-2 production by dendritic cells revealed by global gene expression analysis. *Nat Immunol* 2001; 2(9): 882-888.
50. **Ohteki T, Suzue K, Maki C, Ota T, Koyasu S.** Critical role of IL-15-IL-15R for antigen-presenting cell functions in the innate immune response. *Nat Immunol* 2001; 2(12): 1138-1143.
51. **Gray D.** A role for antigen in the maintenance of immunological memory. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(1): 60-65.
52. **Altman JD, Moss PA, Goulder PJ, Barouch DH, McHeyzer-Williams MG, Bell JI, et al.** Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science* 1996; 274(5284): 94-96.
53. **Busch DH, Pilip IM, Vijh S, Pamer EG.** Coordinate regulation of complex T cell populations responding to bacterial infection. *Immunity* 1998; 8(3): 353-362.
54. **Wong P, Pamer EG.** Cutting edge: antigen-independent CD8 T cell proliferation. *J Immunol* 2001; 166(10): 5864-5868.
55. **Van Stipdonk MJ, Lemmens EE, Schoenberger SP.** Naive CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. *Nat Immunol* 2001; 2(5): 423-429.
56. **Kaech SM, Ahmed R.** Memory CD8+ T cell differentiation: initial antigen encounter triggers a developmental program in naive cells. *Nat Immunol* 2001; 2(5): 415-422.
57. **Foulds KE, Zenewicz LA, Shedlock DJ, Jiang J, Troy AE, Shen H.** Cutting edge: CD4 and CD8 T cells are intrinsically different in their proliferative responses. *J Immunol* 2002; 168(4): 1528-1532.
58. **Roman E, Miller E, Harmsen A, Wiley J, Von Andrian UH, Huston G, et al.** CD4 effector T cell subsets in the response to influenza: heterogeneity, migration, and function. *J Exp Med* 2002; 196(7): 957-968.
59. **Manjunath N, Shankar P, Wan J, Weninger W, Crowley MA, Hieshima K, et al.** Effector differentiation is not prerequisite for generation of memory cytotoxic T lymphocytes. *J Clin Invest* 2001; 108(6): 871-878.
60. **Lauvau G, Vijh S, Kong P, Horng T, Kerksiek K, Serbina N, et al.** Priming of memory but not effector CD8 T cells by a killed bacterial vaccine. *Science* 2001; 294(5547): 1735-1739.
61. **Opferman JT, Ober BT, Ashton-Rickardt PG.** Linear differentiation of cytotoxic effectors into memory T lymphocytes. *Science* 1999; 283(5408): 1745-1748.
62. **Grayson JM, Zajac AJ, Altman JD, Ahmed R.** Cutting edge: increased expression of Bcl-2 in antigen-specific memory CD8+ T cells. *J Immunol* 2000; 164(8): 3950-3954.
63. **Smith KA.** Interleukin-2: inception, impact, and implications. *Science* 1988; 240(4856): 1169-1176.
64. **Janeway CA, Jr., Bottomly K.** Signals and signs for lymphocyte responses. *Cell* 1994; 76(2): 275-285.
65. **Schluns KS, Kieper WC, Jameson SC, Lefrancois L.** Interleukin-7 mediates the homeostasis of naive and memory CD8 T cells in vivo. *Nat Immunol* 2000; 1(5): 426-432.

66. **D'Souza WN, Schluns KS, Masopust D, Lefrancois L** Essential role for IL-2 in the regulation of antiviral extralymphoid CD8 T cell responses. *J Immunol* 2002; 168(11): 5566-5572.
67. **Khoruts A, Mondino A, Pape KA, Reiner SL, Jenkins MK** A natural immunological adjuvant enhances T cell clonal expansion through a CD28-dependent, interleukin (IL)-2-independent mechanism. *J Exp Med* 1998; 187(2): 225-236.
68. **Kneitz B, Herrmann T, Yonehara S, Schimpl A** Normal clonal expansion but impaired Fas-mediated cell death and anergy induction in interleukin-2-deficient mice. *Eur J Immunol* 1995; 25(9): 2572-2577.
69. **Leung DT, Morefield S, Willerford DM**. Regulation of lymphoid homeostasis by IL-2 receptor signals in vivo. *J Immunol* 2000; 164(7): 3527-3534.
70. **Tan JT, Ernst B, Kieper WC, LeRoy E, Sprent J, Surh CD**. Interleukin (IL)-15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8+ cells but are not required for memory phenotype CD4+ cells. *J Exp Med* 2002; 195(12): 1523-1532.
71. **Grabstein KH, Eisenman J, Shanebeck K, Rauch C, Srinivasan S, Fung V, et al.** Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science* 1994; 264(5161): 965-968.
72. **Schluns KS, Williams K, Ma A, Zheng XX, Lefrancois L**. Cutting edge: requirement for IL-15 in the generation of primary and memory antigen-specific CD8 T cells. *J Immunol* 2002; 168(10): 4827-4831.
73. **Badovinac VP, Porter BB, Harty JT**. Programmed contraction of CD8(+) T cells after infection. *Nat Immunol* 2002; 3(7): 619-626.
74. **Badovinac VP, Tvinnereim AR, Harty JT**. Regulation of antigen-specific CD8+ T cell homeostasis by perforin and interferon-gamma. *Science* 2000; 290(5495): 1354-1358.
75. **Dalton DK, Haynes L, Chu CQ, Swain SL, Wittmer S**. Interferon gamma eliminates responding CD4 T cells during mycobacterial infection by inducing apoptosis of activated CD4 T cells. *J Exp Med* 2000; 192(1): 117-122.
76. **Becker TC, Wherry EJ, Boone D, Murali-Krishna K, Antia R, Ma A, et al.** Interleukin 15 is required for proliferative renewal of virus-specific memory CD8 T cells. *J Exp Med* 2002; 195(12): 1541-1548.
77. **Yajima T, Nishimura H, Ishimitsu R, Watase T, Busch DH, Pamer EG, et al.** Overexpression of IL-15 in vivo increases antigen-driven memory CD8+ T cells following a microbe exposure. *J Immunol* 2002; 168(3): 1198-1203.
78. **Akashi K, Kondo M, von Freeden-Jeffrey U, Murray R, Weissman IL**. Bcl-2 rescues T lymphopoiesis in interleukin-7 receptor-deficient mice. *Cell* 1997; 89(7): 1033-1041.
79. **Maraskovsky E, O'Reilly LA, Teepe M, Corcoran LM, Peschon JJ, Strasser A** Bcl-2 can rescue T lymphocyte development in interleukin-7 receptor-deficient mice but not in mutant rag-1^{-/-} mice. *Cell* 1997; 89(7): 1011-1019.
80. **Kim K, Lee CK, Sayers TJ, Muegge K, Durum SK**. The trophic action of IL-7 on pro-T cells: inhibition of apoptosis of pro-T1, -T2, and -T3 cells correlates with Bcl-2 and Bax levels and is independent of Fas and p53 pathways. *J Immunol* 1998; 160(12): 5735-5741.
81. **Schluns KS, Lefrancois L**. Cytokine control of memory T-cell development and survival. *Nat Rev Immunol* 2003; 3(4): 269-279.
82. **Pihlgren M, Dubois PM, Tomkowiak M, Sjogren T, Marvel J**. Resting memory CD8+ T cells are hyperreactive to antigenic challenge in vitro. *J Exp Med* 1996; 184(6): 2141-2151.
83. **Garcia S, DiSanto J, Stockinger B**. Following the development of a CD4 T cell response in vivo: from activation to memory formation. *Immunity* 1999; 11(2): 163-171.

84. **Tough DF, Sprent J** Turnover of naive- and memory-phenotype T cells. *J Exp Med* 1994; 179(4): 1127-1135.
85. **Tough DF, Sprent J**. Lifespan of lymphocytes. *Immunol Res* 1995; 14(1): 1-12.
86. **Tanchot C, Lemonnier FA, Perarnau B, Freitas AA, Rocha B**. Differential requirements for survival and proliferation of CD8 naive or memory T cells. *Science* 1997; 276(5321): 2057-2062.
87. **Bruno L, von Boehmer H, Kirberg J** Cell division in the compartment of naive and memory T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1996; 26(12): 3179-3184.
88. **Murali-Krishna K, Lau LL, Sambhara S, Lemonnier F, Altman J, Ahmed R**. Persistence of memory CD8 T cells in MHC class I-deficient mice. *Science* 1999; 286(5443): 1377-1381.
89. **Swain SL, Hu H, Huston G** Class II-independent generation of CD4 memory T cells from effectors. *Science* 1999; 286(5443): 1381-1383.
90. **Kassiotis G, Garcia S, Simpson E, Stockinger B**. Impairment of immunological memory in the absence of MHC despite survival of memory T cells. *Nat Immunol* 2002; 3(3): 244-250.
91. **Tough DF, Borrow P, Sprent J**. Induction of bystander T cell proliferation by viruses and type I interferon in vivo. *Science* 1996; 272(5270): 1947-1950.
92. **Tough DF, Sun S, Sprent J**. T cell stimulation in vivo by lipopolysaccharide (LPS). *J Exp Med* 1997; 185(12): 2089-2094.
93. **Zhang X, Sun S, Hwang I, Tough DF, Sprent J** Potent and selective stimulation of memory-phenotype CD8+ T cells in vivo by IL-15. *Immunity* 1998; 8(5): 591-599.
94. **Tough DF, Zhang X, Sprent J**. An IFN-gamma-dependent pathway controls stimulation of memory phenotype CD8+ T cell turnover in vivo by IL-12, IL-18, and IFN-gamma. *J Immunol* 2001; 166(10): 6007-6011.
95. **Ku CC, Murakami M, Sakamoto A, Kappler J, Marrack P**. Control of homeostasis of CD8+ memory T cells by opposing cytokines. *Science* 2000; 288(5466): 675-678.
96. **Kanai T, Thomas EK, Yasutomi Y, Letvin NL**. IL-15 stimulates the expansion of AIDS virus-specific CTL. *J Immunol* 1996; 157(8): 3681-3687.
97. **Kanegane H, Tosato G**. Activation of naive and memory T cells by interleukin-15. *Blood* 1996; 88(1): 230-235.
98. **Vella A, Teague TK, Ihle J, Kappler J, Marrack P**. Interleukin 4 (IL-4) or IL-7 prevents the death of resting T cells: stat6 is probably not required for the effect of IL-4. *J Exp Med* 1997; 186(2): 325-330.
99. **Lodolce JP, Boone DL, Chai S, Swain RE, Dassopoulos T, Trettin S, et al**. IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation. *Immunity* 1998; 9(5): 669-676.
100. **Lantz O, Grandjean I, Matzinger P, Di Santo JP**. Gamma chain required for naive CD4+ T cell survival but not for antigen proliferation. *Nat Immunol* 2000; 1(1): 54-58.
101. **Vella AT, Dow S, Potter TA, Kappler J, Marrack P**. Cytokine-induced survival of activated T cells in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(7): 3810-3815.
102. **Goldrath AW, Sivakumar PV, Glaccum M, Kennedy MK, Bevan MJ, Benoist C, et al**. Cytokine requirements for acute and Basal homeostatic proliferation of naive and memory CD8+ T cells. *J Exp Med* 2002; 195(12): 1515-1522.
103. **Kieper WC, Tan JT, Bondi-Boyd B, Gapin L, Sprent J, Ceredig R, et al**. Overexpression of interleukin (IL)-7 leads to IL-15-independent generation of memory phenotype CD8+ T cells. *J Exp Med* 2002; 195(12): 1533-1539.

104. **Ho, D.D.; Neumann, A.U.; Perelson, A.S.; Chen, W.; Leonard, J.M.; Markowitz, M.** Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995; 373(6510): 123-6.
105. **Hellerstein, M. K., and McCune, J. M.** T cell turnover in HIV-1 disease. *Immunity* 1997; 7(5): 583-9.
106. **Schnittman, S. M.; Lane, H.C.; Greenhouse, J.; Justement, J.S.; Baseler, M. and Fauci, A.S.** Preferential infection of CD4 memory T cells by human immunodeficiency virus type I: evidence for a role in the selective T-cell functional defects observed in infected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6058.
107. **Roederer, M.; Raju, P.A.; Mitra, D.K.; and Herzenberg, L.A.** HIV do not replicate in naive CD4 T cells stimulated with CD3/CD28. *J Clin Invest* 1997; 99: 1555.
108. **Chun, T.W.; Chadwick, K.; Margolick, J.; and Siliciano, F.** Differential susceptibility of naive and memory CD4+ T cells to the cytopathic effects of infection with human immunodeficiency virus type I strain LAI. *J. Virol* 1997; 71: 4436.
109. **Riley, J.L.; Levine, B.L.; Graighead, N.; Francomano, T.; Kim, D.; Carroll, R.G. and June, C.H.** Naive and memory CD4 T cells differ in their susceptibilities to human immunodeficiency virus type I infection following CD28 costimulation: implications for transmission and pathogenesis. *J Virol* 1998; 72(10): 8273.
110. **Chou, H.; Gudeman, C.V.; O'Rourke, S.; Isacescu, V.; Detels, R.; Williamns, G.J.; Mitsuyasu, R.T. and Giorgi, J.V.** Phenotypically defined memory CD4+ cells are not selectively decreased in chronic HIV disease. *J Acquired Immune Defic Syndr* 1994; 7: 665.
111. **Meyaard, I.; Otto, S.A.; Hoolbrink, B.; and Miedema, F.** Quantitative analysis of CD4+ T cell function in the course of human immunodeficiency virus infection . Gradual decline of both naive and memory alloreactive T cells. *J. Clin. Invest* 1994; 94: 1947.
112. **Roederer, M.; Dubs, J.G.; Anderson, M.T.; Raju, P.A. and Herzenberg, L.A.** CD8 naive T cells counts decrease progressively in HIV-infected adults. *J Clin Invest* 1995; 95: 2061.
113. **Napolitano, L.A.; Grant, R. M.; Deeks, S.G.; Schmidt, D.; De Rosa, S.C.; Herzenberg, L.A.; Herndier, B.G.; Anderson, J. And McCune, J.M.** Increased production of IL-7 accompanies IV-1-mediated Tcell depletion: implications for Tcell homeostasis. *Nat Med* 2001; 7: 73.
114. **Smithgall, M.D.; Wong, J.G.P.; Critchett, K.E.Haffar, O.K** IL-7 up-regulates HIV-1 replication in naturally infected peripheral blood mononuclear cells. *J Immunol* 1996; 156: 2324.
115. **Chene. L. et al.** Thymocyte-thymic epithelial cell interaction leads to high-level replication of human immunodeficiency virus exclusively in mature CD4+CD8-CD3+ thymocytes: a critical role for tumor factor and interleukin-7. *J. Virol* 1999; 73: 7533.
116. **Lubong, R.; Ng, H.L.; Uittenbogaart, C.H. and Yang, O.O.** Culturing of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes with interleukin-7 and interleukin-15. *Virology* 2004; 325(2): 175-80
117. **Lum, J.J.; Schnepple, D.J.; Nie, Z.; Sanchez-Dardon, J.; Mbisa, G.L.; Mihowich, J.; Hawley, N.; Narayan, S.; Kim, J.E.; Lynch, D.H. and Badley, A.D.** Differential effects of interleukin-7 and interleukin-15 on NK cell anti-human immunodeficiency virus activity. *J Virol* 2004; 78(11): 6033-42.
118. **Petrovas, C.; Mueller, Y.M.; Dimitriou, I.D.; Bojczuk, P.M.; Mounzer, K.C.; Witek, J.; Altman, J.D. and Katsikis, P.D.** HIV-specific CD8+ T cells exhibit markedly reduced levels of Bcl-2 and Bcl-xL. *J Immunol* 2004; 172(7): 4444-53.

119. **Mueller, Y.M.; Makar, V.; Bojczuk, P.M.; Witek, J. and Katsikis, P.D.** IL-15 enhances the function and inhibits CD95/Fas-induced apoptosis of human CD4+ and CD8+ effector-memory T cells. *Int Immunol* 2003; 15(1): 49-58.
120. **Calarota, S.A., Otero, M., Hermanstayne, K., Lewis, M., Rosati, M., Felber, B.K., Pavlakis, G.N., Boyer, J.D., Weiner, D.B.** Use of interleukin 15 to enhance interferon-gamma production by antigen-specific stimulated lymphocytes from rhesus macaques. *J Immunol Methods* 2003; 279(1-2): 55-67.
121. **Forcina, G., D'Ettorre, G., Mastroianni, C.M., Carnevalini, M., Scorzolini, L., Ceccarelli, G., D'Agostino, C., Lichtner, M., Massetti, A.P., Vullo, V.** Interleukin-15 modulates interferon-gamma and beta-chemokine production in patients with HIV infection: implications for immune-based therapy. *Cytokine* 2004; 25(6): 283-90.
122. **D'Ettorre, G., Forcina, G., Andreotti, M., Sarmati, L., Palmisano, L., Andreoni, M., Vella, S., Mastroianni, C.M., Vullo, V.** Interleukin-15 production by monocyte-derived dendritic cells and T cell proliferation in HIV-infected patients with discordant response to highly active antiretroviral therapy. *Clin Exp Immunol* 2004; 136(1): 189.
123. **Amicosante, M.; Poccia, F.; Gioia, C.; Montesano, C.; Topino, S.; Martín, F.; Narciso, P.; Pucillo, L.P. and D'Offizi, G.** Levels of interleukin-15 in plasma may predict a favorable outcome of structured treatment interruption in patients with chronic human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 2003; 188(5): 661-65