

RECEPTORES PARA IMUNOGLOBULINA G (FcγR)

RECEPTORS FOR IMMUNOGLOBULIN G (FcγR)

Cleni M. Marzocchi-Machado¹ e Yara M. Lucisano-Valim²

¹Pós-Doutoranda. Área de Imunologia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP. ²Docente. Departamento de Física e Química. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP.

CORRESPONDÊNCIA: Profa. Dra. Yara M. Lucisano Valim, Depto. de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP. Via do Café s/n, Monte Alegre. CEP 14040-903 Ribeirão Preto - SP, Brasil. Fone: (0xx16) 602-4164. Fax: (0xx16) 633-2960. E-mail: yaluva@usp.br

Marzocchi-Machado CM, Lucisano-Valim YM. Receptores para Imunoglobulina G (FcγR). Medicina (Ribeirão Preto) 2005; 38 (1): 82-95.

Resumo: Os receptores para IgG (FcγR) fazem uma importante ligação entre as respostas imunes humoral e celular. Estes receptores medeiam várias respostas biológicas tais como: fagocitose, endocitose, captura e *clearance* de imunocomplexos, citotoxicidade e liberação de mediadores inflamatórios. Os FcγR humanos pertencem à superfamília das imunoglobulinas e três classes principais destes receptores são descritas, as quais apresentam várias isoformas. Estas moléculas diferem quanto à afinidade e especificidade para os isotipos de IgG, distribuição celular, sinalização intracelular e pesos moleculares. Além disso, o polimorfismo genético é responsável por variações entre os indivíduos. A diversidade estrutural e funcional dos FcγR faz destas moléculas importantes alvos para a imunoterapia. A ativação e desativação de células efectoras via FcγR pode ser explorada para o desenvolvimento de novas terapias para o câncer, doenças infecciosas e desordens auto-imunes. Esta revisão descreve detalhes estruturais e funcionais, relevância clínica e alguns usos terapêuticos dos FcγR.

Descritores: Receptores de IgG. Imunoglobulina G. Imunoterapia.

1- INTRODUÇÃO

As imunoglobulinas da classe G (IgG) exercem inúmeras funções biológicas importantes por interagirem com vários tipos celulares. A base desta interação é a ligação dos domínios Fc (fragmento cristalizável) da IgG com receptores específicos (FcγR: *Fc gamma receptors*) presentes nas membranas de células do sistema imune. Assim, os FcγR são importantes mediadores da ligação entre as respostas imunes humoral e celular¹.

As interações da IgG com os FcγR podem ocorrer sob duas condições principais: o FcγR de alta afinidade pode ligar-se à IgG monomérica antes que esta tenha se ligado ao antígeno, enquanto que os FcγR de baixa afinidade ligam-se à IgG previamente complexada ao antígeno multivalente, ou seja, na for-

ma de imunocomplexos (IC)¹.

A ligação da IgG aos FcγR estimula uma variedade de respostas biológicas, dependendo do tipo celular, do tipo de receptor Fcγ e da natureza do complexo de IgG (Tabela I). Estas respostas incluem processos diretamente relacionados com a eliminação de antígenos tais como: fagocitose, citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC: *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*), geração de espécies reativas de oxigênio, liberação de enzimas lisossomais, *clearance* de IC e regulação da produção de anticorpos¹. Esta diversidade funcional dos FcγR também é atribuída ao polimorfismo genético, que introduz variações entre os indivíduos², bem como à geração de formas solúveis de FcγR³ e ao sinergismo com outros receptores⁴.

Tabela I: Distribuição e propriedades dos FcγR humanos*

FcγR	Expressão			Função	Especificidade
	Constitutiva	Induzida	Modulada		
FcγRI	Monócitos, Macrófagos, precusores mielóides CD34 ⁺	Neutrófilos (IFN-γ, G-CSF); Eosinófilos (IFN-γ)	↑: G-CSF, IFN-γ, IL-10 ↓: IL-4, IL-3	Fagocitose, ADCC, Endocitose, Internalização, Apresentação de antígeno, Produção de superóxido, Liberação de: TNF-α, IL-1β, IL-6	Monômeros e agregados de IgG1 e IgG3 humanas
FcγRII IIa	Monócitos, Macrófagos, Neutrófilos, Eosinófilos, Basófilos, Células de Langerhans, Plaquetas, Células endoteliais da placenta, Linhagem de células megacariocíticas		↓: IL-4 ↑: IFN-γ, IL-3 (eosinófilos somente)	IIa: Fagocitose, ADCC, Endocitose, Internalização, "Burst" respiratório, Liberação de: TNF-α, IL-6	IIa-H131: Imunocomplexos de IgG3>IgG1=IgG2>>IgG4 IIa-R131: Imunocomplexos de IgG3>IgG1>>IgG2,4
IIb	Monócitos, Macrófagos, Células B, Subpopulações de Células T			IIb1: "Capping" IIb2: Internalização IIb1/2: "Down" regulação de células B	Imunocomplexos de IgG1 e IgG3
FcγRIII IIIa	Macrófagos, Linfócitos grandes granulares/células NK, Células T γδ, Subpopulações de monócitos	Monócitos: TGF-β	↓: IL-4 ↑: TGF-β	Fagocitose, ADCC, Endocitose, Internalização, Produção de superóxido, Liberação de: IFN-γ, TNF-α, Indução de apoptose	Afinidade intermediária para IgG monomérica e Imunocomplexos de IgG1 e IgG3
IIIb	Neutrófilos	Eosinófilos: IFN-γ	↑: IFN-γ, GM-CSF, G-CSF		IIIb-NA1: Imunocomplexos de IgG3>>IgG1>>IgG2,4 IIIb-NA2: Imunocomplexos de IgG3 ³ IgG1>>IgG2,4

* Para revisão: Gessner *et al.*, 1998⁷; Rouard *et al.*, 1997⁶⁴.

Os FcγR também participam da imuno-regulação na patogênese de reações alérgicas, auto-imunes e inflamatórias⁵. Desta forma, há um grande interesse científico e clínico no estudo da diversidade das respostas geradas pela interação IgG-receptores, na expectativa de descobertas importantes sobre a suscetibilidade às doenças, a fisiopatologia das mesmas e a intervenção terapêutica^{2,5}. Exemplos disto é a importância terapêutica do conhecimento sobre os FcγR para a identificação de variantes polimórficas favoráveis ao desenvolvimento de doenças auto-imunes; o uso de formas solúveis destes receptores para bloquear a ativação dos FcγR na membrana

de células efectoras; o uso de gamaglobulina intravenosa para o tratamento de várias doenças imunes, bem como a inibição seletiva da ativação celular⁶.

A possibilidade de inibir os efeitos fisiopatológicos da ativação celular mediada pelos FcγR está sendo considerada como uma nova estratégia para o tratamento de doenças relacionadas com a imunoglobulina da classe G⁶. A presente revisão irá detalhar a heterogeneidade estrutural dos FcγR, que é responsável por uma ampla variedade de atividades biológicas¹, para, então, discutir modelos de imunoterapia dirigida aos FcγR.

2- CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS Fc γ R

Os Fc γ R são glicoproteínas de membrana, descritas inicialmente há mais de 30 anos, e, recentemente, formas solúveis destas moléculas têm sido identificadas em alguns fluidos biológicos^{1, 3}. No Homem, todos os Fc γ R pertencem à superfamília das imunoglobulinas e as três classes principais identificadas são: Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) e Fc γ RIII (CD16), além do receptor neonatal para IgG (FcRn)^{1, 7, 8}.

Estas classes de Fc γ R são codificadas por oito genes distintos que estão localizados no cromossomo 1, nas bandas 1p13 e 1q21 (Fc γ RI), na banda 1q22 (Fc γ RII e Fc γ RIII) e no cromossomo 19 nas bandas 19q13 para o FcRn^{1, 7}. Alguns destes genes têm múltiplos *exons* e a seleção entre estes, na junção do RNA-mensageiro (RNA-m) (*splicing* alternativo), pode gerar proteínas diferentes⁷. A análise da seqüência dos RNAs-m indica a possibilidade da ocorrência de várias isoformas das três principais classes de Fc γ R, no entanto, muitas delas ainda não foram demonstradas *in vivo*^{1, 7}.

Quanto à sua estrutura molecular, os Fc γ R podem apresentar dois ou três domínios extracelulares (EC) semelhantes aos das imunoglobulinas (*Ig-like*), que são altamente conservados entre as diferentes classes destes receptores. Além dos domínios EC, os Fc γ R possuem domínios transmembranas (TM) e domínios citoplasmáticos (C), sendo este último de estrutura variável entre as classes de Fc γ R⁷. O sítio de ligação para a IgG encontra-se no domínio EC de uma cadeia de aminoácidos, denominada cadeia α , presente nos Fc γ R. Alguns dos Fc γ R são moléculas formadas apenas por esta cadeia α (receptores de cadeia única), enquanto outros são complexos de uma ou mais cadeias (γ , β ou ζ) associadas à cadeia α (receptores de cadeias múltiplas)⁷.

Todos os Fc γ R de cadeia única são receptores de baixa afinidade. Eles compreendem as isoformas: Fc γ RIIb, Fc γ RIIa/c e Fc γ RIIb. Os Fc γ RII apresentam uma cadeia α com um domínio EC, um domínio TM e um domínio C, este último com uma seqüência de aminoácidos responsável pela transdução de sinal intracelular. Todavia, a cadeia α do Fc γ RIIb não apresenta os domínios transmembrana e citoplasmático e, então, a expressão deste receptor na membrana de neutrófilos é mediada por uma molécula âncora de glicosil fosfatidil inositol (GPI)¹.

Quanto aos receptores de IgG formados por cadeias múltiplas, estes podem ser divididos em dois tipos principais. O primeiro tipo é representado pelos

Fc γ RI e Fc γ RIIIa, que são compostos de uma cadeia ou subunidade α ligante de IgG, semelhante àquela presente nos receptores de cadeia única. Nestes receptores, embora esta subunidade α apresente domínios TM e C, neste último (o citoplasmático) não há seqüência de aminoácidos transdutora de sinal intracelular. No entanto, as subunidades α do Fc γ RI e do Fc γ RIIIa estão associadas a uma ou duas cadeias acessórias, que contêm tais seqüências de sinalização intracelular. Estas cadeias acessórias encontram-se na membrana das células e podem variar dependendo do tipo celular onde estão expressas e, por conseguinte, constituem as subunidades de transdução de sinal quando há ligação da IgG ao seu receptor^{1, 7, 9}.

As subunidades de transdução de sinal podem ser homodímeros ou heterodímeros de cadeias de aminoácidos denominadas γ , α ou β ⁸. O Fc γ RI é o receptor de alta afinidade para IgG e a sua subunidade α está associada com um homodímero de cadeias acessórias do tipo γ . Neste receptor, a cadeia γ parece contribuir tanto para melhorar a afinidade para a ligação com a IgG, quanto para assegurar a expressão do receptor na membrana celular¹⁰. Quanto aos Fc γ RIIIa, estes são receptores de baixa ou intermediária afinidade e a subunidade α pode estar associada a homodímeros de cadeias do tipo γ ou ζ , heterodímeros γ - ζ ou ainda, a um monômero de cadeia do tipo β ¹¹. Embora o Fc γ RIIa foi descrito acima como receptor de cadeia única, homodímeros de subunidades γ podem se associar a subunidade α deste receptor em algumas células¹².

O segundo tipo de receptor de IgG formado por mais de uma cadeia é o receptor Fc neonatal (FcRn). Este receptor tem alta afinidade para a IgG e foi descrito primeiramente em ratos e camundongos recém-nascidos¹³. A estrutura molecular deste receptor apresenta homologia com as cadeias pesadas da molécula de classe I do complexo de histocompatibilidade principal (CHP). Sua subunidade α tem três domínios EC e requer a associação com uma molécula de β 2-microglobulina, tanto para ser expresso na superfície celular, quanto para interagir com a molécula de IgG¹. A subunidade α do FcRn liga-se à IgG no seu domínio EC, mas não possui seqüência de aminoácidos responsável pela transdução de sinal intracelular no seu domínio citoplasmático. A função do FcRn é mediar a transcitose da IgG e, assim, o FcRn é expresso na superfície apical das células, contribuindo para a absorção da imunoglobulina¹⁴.

Quanto às atividades biológicas dos Fc γ R, estas dependem do tipo do receptor e do tipo celular

onde estes receptores estão expressos. Os FcγR podem interagir com a molécula de IgG em duas condições: na forma monomérica da IgG ou quando esta se encontra complexada a antígenos multivalentes, na forma de imunocomplexos. Tal interação pode resultar na estimulação de respostas biológicas específicas de cada tipo celular onde o FcγR está expresso. Os FcγR são expressos em muitas células, principalmente de origem hematopoética, mas não são marcadores específicos de um clone e uma mesma célula pode

expressar mais do que um tipo deste receptor. O resultado da co-expressão de FcγR, bem como de outros tipos de receptores, constitui mais um fator para a diversidade de respostas biológicas envolvendo o mesmo ligante e um complexo-receptor. Assim, quando recrutados por ligantes multivalentes, alguns FcγR podem atuar como co-receptores positivos e outros como negativos¹.

A Tabela I e a Figura 1 ilustram as características da família de FcγR.

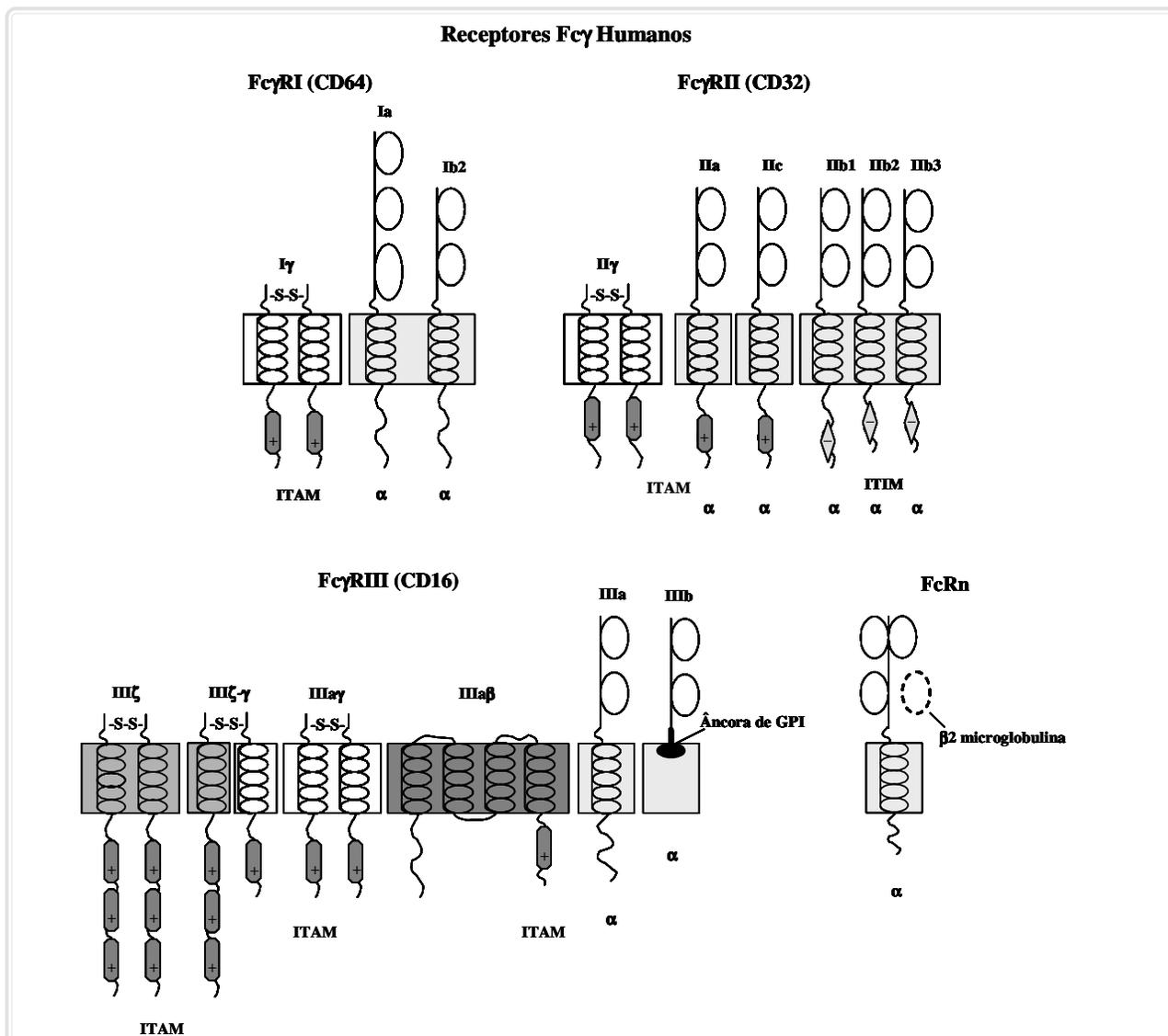


Figura 1: Representação esquemática da família de receptores humanos para Fc de Imunoglobulina G (FcγR). S-S: pontes de dissulfeto; ITAM: seqüência de ativação de imuno-receptor baseada em tirosina (*Immunoreceptor tyrosine-based activation motif*); ITIM: seqüência de inibição de imuno-receptor baseada em tirosina (*Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*); GPI: glicosil fosfatidil inositol (*glycosylphosphatidylinositol*). Os domínios Ig-semelhantes (*Ig-like*) próximos à membrana são os domínios ligantes de IgG. Com exceção do FcγRIIb, todos os FcγR são moléculas transmembrana. Os produtos dos genes para cada classe de FcγR e suas subunidades individuais estão indicados como: a, b, e c; e α, β, γ, e ζ, respectivamente. Adaptado de Deo *et al.* (1997)⁶ e Gessner *et al.* (1998)⁷.

da IgG ao receptor. O alótipo FcγRIIa-R131 não interage, ou o faz muito fracamente, com a IgG2. Ao contrário, o alótipo FcγRIIa-H131 é o único FcγR capaz de ligar IgG2 com significativa especificidade¹⁷. Quanto à sua estrutura molecular, este receptor é formado por uma única cadeia α, que apresenta domínios EC, onde se liga a IgG, TM e citoplasmático. No domínio C desta cadeia α, encontram-se as seqüências transdutoras de sinal intracelular denominadas de ITAM^{1,8}.

As diferenças funcionais entre as subclasses do FcγRII estão na presença de motivos de sinalização especializados. Isto é, o FcγRIIa apresenta um motivo ITAM, enquanto que no FcγRIb é encontrado um motivo de inibição de imuno-receptor baseado em tirosina (ITIM: *Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif*). Os resíduos de tirosina em ambos os motivos de sinalização intracelular (ITAM e ITIM) são críticos para a ativação e a inibição celular, respectivamente¹⁸.

2.3- FcγRIII (CD16)

Os FcγRIII (CD16) em humanos são proteínas altamente glicosiladas e com pesos moleculares que variam entre 50 a 80 kDa. Estes receptores ligam IgG na forma de IC, com especificidade para IgG1 e IgG3 ($K_a = \leq 10^7 \text{ M}^{-1}$) e mínima ligação para IgG4 e IgG2^{5,7}.

O FcγRIII é codificado por dois genes distintos altamente homólogos: os genes FcγRIIIA e FcγRIIIB. O produto do gene FcγRIIIA é o FcγRIIIa, um receptor transmembrana em células *natural killer* (NK) e macrófagos, enquanto que o gene FcγRIIIB codifica o FcγRIIIb, um receptor ligado por âncora de glicosil fosfatidil inositol (GPI) em neutrófilos, que é o único FcγR sem domínio TM¹⁹. O gene FcγRIIIB apresenta um polimorfismo, que determina a ocorrência dos alótipos de antígenos nos neutrófilos 1 (NA: *neutrophil antigen 1*) e 2 (NA2), que diferem entre si apenas pelo maior número de sítios de glicosilação em NA2²⁰ (Figura 2). Um novo alo-antígeno, chamado SH, foi localizado no FcγRIIIb e é resultante de uma mutação no gene FcγRIIIB-NA2 de um única base C → A na posição 266, que resulta na substituição de uma alanina por um ácido aspártico²¹. Desta forma, três genes são identificados: FcγRIIIB-NA1, FcγRIIIB-NA2 e FcγRIIIB-SH²².

A expressão do FcγRIIIb é predominante no neutrófilo, com $1-3 \times 10^6$ moléculas/célula, comparada ao FcγRIIa com $1-2 \times 10^4$ moléculas/célula²³. Enquanto o FcγRIIIb ancorado por GPI na superfície celular é uma proteína monomérica, o receptor FcγRIIIa é

um complexo formado pela associação da sua cadeia α, ligante de IgG, com dímeros das subunidades acessórias γ, ζ e/ou β¹⁵, as quais apresentam as seqüências ITAM, transdutoras de sinal intracelular. Assim como para o FcγRI, as cadeias γ no complexo receptor FcγRIIIa, parecem influenciar a ligação da IgG, conferindo afinidade intermediária para esta isoforma em contraste à baixa afinidade do FcγRIIIb, que não se associa às subunidades γ⁷.

Embora o FcγRIIIb não possua seqüência de sinalização no citoplasma, a sua interação com outros receptores na superfície celular é importante para uma resposta efetora completa, visto que a cooperação do FcγRIIIb com o FcγRIIa e o receptor para complemento tipo 3 (CR3) é necessária para a fagocitose, ADCC e degranulação eficientes²⁴. Além disso, a co-agregação dos FcγRIIIb nos neutrófilos leva à ativação celular⁴.

2.4- FcRn

O receptor neonatal para IgG, o FcRn, foi isolado pela primeira vez a partir de intestino fetal de rato, o que justifica sua nomenclatura²⁵. No entanto, o FcRn é expresso em tecidos do feto, de recém-nascido e de adultos humanos²⁶. Além de mediar o transporte da IgG da mãe para o feto ou para o intestino do recém-nascido, o FcRn também regula os níveis plasmáticos de IgG^{26,27}.

Do ponto de vista estrutural, o FcRn difere dos demais FcγR. Ele é um heterodímero, sendo uma cadeia do tipo α, de 41-50 kDa, com domínios transmembrana e citoplasmático, que está associada com uma β2-microglobulina. A região extracelular da cadeia α possui três domínios, que são homólogos à molécula de classe I do CHP, no entanto, o sítio de ligação para a IgG no FcRn é diferente daquele onde o peptídeo liga-se ao CHP. O FcRn interage com a IgG na extremidade dos seus domínios EC α1-α2 e na porção NH2-terminal da β2-microglobulina^{1,28}.

Quanto à interação da IgG com o FcRn, uma única molécula da IgG liga-se a duas moléculas deste receptor e todas as subclasses de IgG ligam-se com alta afinidade ($K_a = 2-5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$). A forma dimérica do receptor aumenta a afinidade de ligação com a IgG. A interação da IgG com o FcRn é dependente do pH, sendo ótima entre pH 5,0 e 6,5 e diminuindo duas ordens de grandeza em pH 7,0. Esta propriedade permite ao FcRn, no intestino de recém-nascidos, ligar-se à IgG, presente no leite materno ingerido, que se encontra em pH ácido. A ligação da IgG ao FcRn é seguida

pela liberação de um sinal para a endocitose e, assim, a IgG é transportada em endossomos através do epitélio intestinal e liberada na corrente sanguínea em pH neutro^{1, 8, 9}.

2.5- FcγR solúveis

Formas solúveis dos FcγR de baixa afinidade podem ser encontradas nos fluidos biológicos. Estas moléculas podem ser geradas pela clivagem enzimática dos receptores de membrana ou como produtos de *splicing* alternativo³.

No Homem, as formas solúveis dos FcγRIIIa de células NK, FcγRIIIb de neutrófilos e FcγRIIb de linfócitos B ativados são geradas pela clivagem enzimática do receptor ancorado na membrana celular. Além disso, em camundongos e em humanos, um *splicing* alternativo do *exon* que codifica o domínio TM também pode gerar FcγRII solúvel³.

Os FcγR solúveis são capazes de ligar IgG com a mesma especificidade do seu receptor correspondente presente na membrana celular. Uma vez que os FcγR solúveis interagem com a porção Fc da IgG, estas moléculas podem interferir com a resposta imune por competir com os receptores de membrana e, então, modular as funções efetoras dependentes de Fc²⁹.

A forma solúvel de ambas as isoformas do FcγRIII tem sido detectada e quantificada nos soros de indivíduos saudáveis³ e vários estudos têm mostrado que os níveis séricos desta classe de receptor, especialmente da isoforma FcγRIIIb, variam significativamente em algumas desordens imunológicas ou doenças relacionadas^{30, 31}.

Os FcγR solúveis também podem interagir com outros ligantes além das imunoglobulinas³. A forma solúvel do FcγRIIIb pode se ligar aos receptores para o complemento, CR3 e CR4, e inibir a ligação de partículas revestidas com iC3b (fragmento inativado do componente C3b do complemento) a estes receptores. Assim, o FcγRIIIb solúvel pode contribuir para modular a ligação de agentes infecciosos opsonizados ao CR3 e ter um papel nos processos infecciosos. Além disso, CR3 e CR4 são receptores importantes para a adesão de neutrófilos ativados às superfícies do endotélio vascular. Uma vez que os neutrófilos expressam altos níveis de FcγRIIIb, estes receptores podem ser liberados da membrana, quando estas células são ativadas. O FcγRIIIb solúvel pode interferir com a interação entre o CR3 e seus ligantes e, assim, exercer um controle da reação inflamatória local³².

3. SINALIZAÇÃO CELULAR MEDIADA PELOS FcγR

Os FcγR não reconhecem diretamente o antígeno, mas funcionam como receptores de membrana para antígenos sem nenhuma especificidade pré-determinada. Quando se liga ao FcγR, o anticorpo confere ao antígeno especificidade para uma grande variedade de células, a maioria das quais são destituídas de estruturas de reconhecimento de antígeno⁸.

A sinalização mediada pelos FcγR requer a agregação destes receptores na superfície da célula, o que permite o contato entre enzimas e substratos intracelulares. A agregação pode ocorrer sob duas condições principais: a) os FcγR de alta afinidade podem ligar IgG monomérica antes que esta tenha se complexado com o antígeno e b) os FcγR de baixa afinidade requerem que a IgG tenha sido previamente complexada ao antígeno multivalente. No entanto, os FcγR de baixa e de alta afinidade estimulam respostas celulares com eficiências equivalentes⁸. Os mecanismos pelos quais os FcγR estimulam a resposta celular aos IC e o que determina a especificidade da resposta celular têm sido amplamente investigados^{8,9}.

Para discutirmos as propriedades biológicas dos FcγR de membrana, podemos dividi-los em dois grupos principais sob o aspecto funcional: os FcγR que induzem a ativação celular e os FcγR que não o fazem⁸.

O primeiro grupo de receptores possui um ou mais motivos de ativação (ITAM) citoplasmáticos e incluem os receptores de cadeia única (FcγRIIa) e os de cadeias múltiplas (FcγRI e FcγRIIIa). O segundo grupo, o dos receptores sem ITAM, inclui os FcγR que não estimulam a ativação celular e podem ser divididos em: a) receptores de cadeia única (FcγRIIb), apresentando ITIM no seu domínio C, que inibe a ativação celular mediada pelos receptores com ITAM, b) o FcγRIIIb, que não possui domínio C e por si só não é capaz de ativar a célula, mas contribui para a sinalização graças à co-expressão com outros receptores (FcγRIIa e CR3) e c) o FcRn, que não estimula nem inibe a célula, apenas medeia a transcitose da IgG em células polarizadas^{1, 8}.

Muitos dos FcγR compartilham motivos de ativação com os receptores de antígenos das células B (o BCR: *B cell receptor*) e das células T (o TCR: *T cell receptor*) e, sob algumas circunstâncias, estimulam respostas celulares usando as mesmas vias de transdução de sinal dos BCR e dos TCR⁸.

3.1- FcγR com ITAM

O motivo de ativação celular, ITAM, é composto por duas seqüências YxxL intercaladas por doze resíduos de aminoácidos variáveis, nos receptores de cadeia única³³, ou por sete resíduos nas cadeias acessórias dos receptores de cadeias múltiplas³⁴.

A agregação dos FcγR pela interação com seus ligantes específicos desencadeia uma cascata de sinalização citoplasmática, que se inicia pela ativação de tirosina quinases associadas aos domínios citoplasmáticos destes receptores ou de suas cadeias acessórias, que possuem os ITAMs. Os resíduos de tirosina (Y) conservados nas seqüências dos ITAMs são, então, fosforilados. O recrutamento das quinases é um evento crítico para a ativação celular. O primeiro grupo é a família *src* de tirosina quinases. Cada classe de FcγR ativa proteínas quinases específicas pertencentes a este grupo, por exemplo, as quinases: *lck*, *lyn*, *hck* e *Fgr*. O segundo grupo de quinases, que se tornam ativadas, é a família *syk*^{1, 8}.

A fosforilação dos resíduos de tirosina nos ITAMs induz outros eventos de fosforilação, que promovem a ativação de várias enzimas. Para os receptores contendo ITAM, as principais vias bioquímicas de sinalização estimuladas são aquelas relacionadas à mobilização de Ca²⁺ intracelular, vias que levam à ativação da proteína quinase C (PKC: *protein kinase C*) e as vias sinalizadoras Ras e da proteína ativada por mitógeno (MAP: *mitogen-activated protein*-quinase³⁵).

As proteínas *syk* ativam a fosfolipase C γ (PLCγ), a qual gera metabólitos que ativam a PKC e o ciclo do fosfato inositol. O trifosfato inositol (IP3: *inositol phosphate 3*) estimula a mobilização de Ca²⁺ dos estoques celulares, por se ligar aos receptores para IP3 no retículo endoplasmático. Acredita-se que este aumento transitório na concentração de cálcio intracelular abra os canais de Ca²⁺ da membrana plasmática, mantendo um nível elevado de Ca²⁺ intracelular, o que é uma característica constante da ativação celular mediada pelos FcγR com ITAM. A ativação das quinases *syk* também leva à fosforilação de fosfatidil inositol 3 quinases, as quais associadas com *syk* são essenciais para a fagocitose^{1, 8}.

A ativação de fosfolipases promove a hidrólise dos fosfolípídeos de membrana, gerando uma variedade de lipídeos bioativos, como por exemplo, o diacilglicerol, que é capaz de ativar a PKC associada à membrana plasmática. Esta PKC, por sua vez,

fosforila o componente citosólico da NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato, forma reduzida)-oxidase, uma cadeia transmembrana transportadora de elétrons essencial para a função bactericida dos fagócitos³⁶.

A ação coordenada destas cascatas enzimáticas leva à ativação de fatores de transcrição, que induzem a expressão de genes cujos produtos são necessários para a ativação funcional das células. Os principais fatores de transcrição ativados em resposta à estimulação dos FcγR são os fatores nucleares de células T ativadas (NFAT: *nuclear factors of activated T cells*)³⁷ e o fator nuclear kappa B (NFκB: *nuclear factor k B*)³⁸. Quando ocorre a ativação celular, em resposta à interação de um ligante com seu receptor na superfície da célula, os NFAT são ativados. Por ação da fosfatase calcineurina dependente do complexo cálcio-calmodulina, os NFAT são transportados para o núcleo, onde irão atuar para aumentar a expressão gênica na célula ativada³⁹, o que leva ao rearranjo do citoesqueleto-actina, internalização das partículas e liberação de mediadores.

Os ITAMs presentes em diferentes tipos de cadeias nos receptores para imunoglobulinas não possuem as mesmas propriedades estimulatórias. Isto sugere que em receptores de cadeias múltiplas, o significado biológico da presença de várias subunidades com ITAM deva ser a cooperação para gerar sinais mais eficientes⁸.

3.1.1- Respostas biológicas estimuladas pelos FcγR com ITAM

Os ITAMs estimulam ou contribuem para estimular três atividades biológicas: ativação celular, endocitose e fagocitose. As respostas biológicas são principalmente determinadas pelo tipo celular onde o FcγR encontra-se expresso. Diferentes receptores com ITAM estimulam as mesmas respostas, quando expressos nas mesmas células. Ao contrário, o mesmo receptor, quando expresso em células diferentes, estimula respostas específicas de cada tipo celular^{1, 7, 9}.

Como ilustrado na Tabela I, os FcγR podem induzir diferentes respostas biológicas. Nas células NK, o FcγRIIIa medeia a morte de células alvos, revestidas por IgG, pelo mecanismo de ADCC. A ADCC também pode ser mediada pelo FcγRI em macrófagos e monócitos. Estes receptores estimulam a produção de superóxido e secreção de citocinas por estas células. O FcγRIIIa estimula o *burst* ou explosão respiratória em neutrófilos e liberação de mediadores pelas pla-

quetas. Além da ativação celular, os FcγR com ITAM induzem a internalização dos seus ligantes, que podem ser IC solúveis, os quais são endocitados por todos os tipos celulares, ou podem ser IC particulados, internalizados somente por células fagocíticas⁸.

Embora a associação das diversidades estrutural e de distribuição celular dos FcγR assegure a estes receptores uma ampla variedade de respostas biológicas, receptores diferentes podem compartilhar características comuns. Os FcγR associados com cadeias γ (FcγRI e FcγRIIIa), bem como o FcγRIIa, recrutam as mesmas quinases após a sua agregação. Além disso, tanto para os receptores FcγRI e FcγRIIIa, quanto para os FcγRIIa, a fagocitose e a endocitose são dependentes da presença de ITAM. No entanto, estas duas funções efetoras são independentes da propriedade de ativação celular do ITAM^{1, 7, 8, 9}.

3.2- FcγR sem ITAM

FcγRIIb - O FcγRIIb apresenta um motivo de inibição celular (ITIM) no seu domínio citoplasmático e é considerado um co-receptor negativo de todos os receptores com ITAM. O ITIM tem como característica uma seqüência de treze aa (AENTITYSLLKHP), contendo um resíduo de tirosina (Y) conservado. Em outros receptores, tais como o receptor de inibição de células NK (KIR: *killer-cell inhibitory receptor*), pode ocorrer resíduos conservados de isoleucina (I) ou de valina (V) a dois resíduos da porção N-terminal da tirosina (Y) conservada (AENTI/VTYSLLKHP), o que propõe uma estrutura mínima para os ITIMs (I/VxYxxL/V)⁴⁰. Esta seqüência de aa no ITIM é necessária para a inibição da ativação da célula B pelo FcγRIIb⁴⁰ e determina a habilidade deste receptor para mediar a endocitose de IC solúveis. Em humanos, o FcγRIIb2 não estimula a fagocitose¹⁸, enquanto o FcγRIIb1 é incapaz de mediar a endocitose⁴¹.

O FcγRIIb pode inibir a ativação celular dependente do receptor de antígeno da célula B (BCR) e de todos os FcR, incluindo os FcR para IgG, IgE e IgA, quando co-expresso com estes receptores. Em células B, a co-agregação do FcγRIIb com receptores de ativação contendo ITAM capacita uma proteína da família de tirosina quinases *src* a fosforilar não somente o ITAM, mas também o ITIM. O ITIM fosforilado recruta a fosfatase 1 inositol fosfato que contém um domínio 2 de homologia *src* (SHIP-1: *src-homology 2 domain-containing inositol phosphate 5-phosphatase 1*), que inibe as vias estimuladas pe-

los receptores com ITAM, a via moduladora de Ca²⁺ e a via sinalizadora Ras. Como conseqüência, a ativação de enzimas dependentes de Ca²⁺, como a calcineurina, que promove a translocação do NFAT para o núcleo, é inibida, bem como os eventos dependentes da MAP-quinase. Os substratos da via da MAP-quinase são fatores de transcrição que cooperam com o NFAT para induzir a transcrição de genes de citocinas³⁹ entre outras funções.

A relevância biológica da inibição celular mediada pelo FcγRIIb é o controle da produção de anticorpos pelas células B⁴². Alguns experimentos também têm mostrado que anticorpos IgG podem regular negativamente a ativação de mastócitos, pela co-agregação dos FcγRIIb e FcεRI (receptor de alta afinidade para IgE)⁴³. A propriedade imuno-regulatória da IgG conferida pelo FcγRIIb completa as habilidades desta classe de imunoglobulina para influenciar todos os estágios da resposta imune⁸.

FcγRIIIb- Embora os FcγRIIIb sejam incapazes de estimular a ativação celular por si só, estes receptores são importantes para a fagocitose e degranulação eficientes. A ativação simultânea do FcγRIIIb e CR3 leva ao *burst* respiratório em neutrófilos, devido à fosforilação do domínio C do FcγRIIa e ao *cross-linking* do CR3, que induz a associação do FcγRIIa com o citoesqueleto⁴. Alguns estudos sugerem que em neutrófilos o FcγRIIIb seria importante para o acúmulo de IC na membrana para ativar o FcγRIIa e para o aumento do influxo de cálcio, enquanto que o FcγRIIa seria o responsável pelo potencial de membrana e geração de superóxido⁴⁴.

FcRn- Assim como outros FcγR, o FcRn após a agregação libera um sinal endocítico de natureza desconhecida. A expressão do FcRn no pólo apical das células intestinais contribui para a absorção da IgG. Este receptor também foi encontrado em hepatócitos de ratos, onde eles ligam a IgG da bile⁴⁵ e em sincitiotrofoblasto de placenta de humanos, onde eles provavelmente permitem a endocitose da IgG e sua translocose para os tecidos fetais por um gradiente de pH⁴⁶. Além disso, o FcRn protege a IgG plasmática do catabolismo²⁶.

4- RELEVÂNCIA DO POLIMORFISMO DOS FcγR

FcγRI - Embora o FcγRIa não seja polimórfico, uma única família foi identificada na Bélgica com alguns indivíduos deficientes da expressão deste recep-

tor. Neste caso, a ausência do receptor está relacionada a uma diferença de um único nucleotídeo e esses indivíduos eram aparentemente saudáveis e não apresentavam desordens auto-imunes, infecciosas ou inflamatórias⁴⁷.

FcγRII – O polimorfismo do FcγRIIa (CD32) é o melhor estudado e aparentemente de maior interesse e implicações clínicas. A variação alélica representada pela mutação de um único aa na posição 131 (arginina ou histidina) do segundo domínio EC é crítica para a ligação da IgG2. Outro aa polimórfico está localizado na posição 27 (glutamina ou triptofano), mas parece não afetar a ligação da IgG⁴⁸. O alótipo FcγRIIa-H131 é o único capaz de ligar IgG2 eficientemente, o que confere a este alótipo um importante papel na imunidade mediada por IgG2. Esta subclasse de IgG é essencial para a defesa contra bactérias encapsuladas, tais como *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*⁵.

Os neutrófilos de indivíduos homocigotos para FcγRIIa-H/H131 fagocitam bactérias opsonizadas por IgG2 significativamente melhor do que as células FcγRIIa-R/R131⁴⁹. Uma vez que a IgG2 é um ativador fraco do sistema complemento, o polimorfismo do FcγRIIa pode ser mais crítico para os mecanismos de defesa contra patógenos encapsulados, quando os níveis de IgG2 estão relativamente baixos, como por exemplo em crianças⁵⁰. Esta importância do polimorfismo do FcγRIIa é reforçada pelos estudos epidemiológicos, que mostram uma baixa incidência de infecções por bactérias encapsuladas na população japonesa, onde o alótipo FcγRIIa-H/H131 é predominante⁵¹.

Clinicamente, o interesse para o estudo dos FcγR tem origem nos mecanismos de *clearance* de IC. A ineficiência destes mecanismos pode levar à deposição de IC em órgão vulneráveis⁵². Um exemplo clássico de doença auto-imune mediada por IC é o lúpus eritematoso sistêmico (LES). A disfunção dos FcγR correlaciona-se com a atividade da doença, nefrite e com os níveis séricos de IC^{53, 54, 55}. Uma associação significativa entre o alótipo FcγRIIa-R/R131 e nefrite lúpica já foi descrita⁵⁶. Algumas manifestações do LES, tais como anemia hemolítica auto-imune e hipocomplementemia pronunciada, foram observadas com maior frequência em pacientes com o alótipo FcγRIIa-R/R131².

O polimorfismo do FcγRIIa também pode ser considerado um fator de risco para a trombocitopenia induzida por heparina (TIH). A TIH é caracterizada pela ativação de plaquetas mediada por FcγRIIa na

presença de soro do paciente e heparina. A frequência do alótipo FcγRIIa-H/H131 foi significativamente maior em pacientes com TIH (34,4 %) comparada com os pacientes não trombocitopênicos⁵⁷.

A subclasse FcγRIIb exibe uma heterogeneidade genética baseada na diferença de um aa na posição 11 do domínio C, onde uma tirosina é substituída por um ácido aspártico, modificando as características de internalização do receptor⁵⁸.

FcγRIII – Um polimorfismo trialélico do FcγRIIIa ocorre por substituição do nucleotídeo na posição 230, que resulta na presença de leucina, histidina ou arginina na posição 48 do primeiro domínio EC do receptor. Tal polimorfismo resulta em diferenças nas características para a ligação da IgG⁵⁹. Outra substituição de nucleotídeo na posição 559 do gene FcγRIIIA codifica para uma valina ou fenilalanina na posição 158 do receptor⁶⁰ (Figura 2). Algumas variações nos níveis de expressão do FcγRIIIa em células NK em humanos sugerem outro polimorfismo do receptor com diferenças para a ADCC e para a ligação da IgG monomérica. No entanto, estas variações ainda não foram associadas com seqüelas clinicamente evidentes⁶¹.

O FcγRIIIb é expresso somente em neutrófilos e apresenta um polimorfismo de três alo-antígenos NA1, NA2, e SH. Este polimorfismo, bem como a deficiência deste receptor, têm sido associados com neutropenia neonatal, quando mães são alo-imunizadas em gestações anteriores, passando anticorpos IgG anti-FcγRIIIb para o feto FcγRIIIb (+)^{21, 62}.

Os alótipos NA1 e NA2 diferem entre si em vários aa, com mutações nas posições 65 e 82, resultando em dois sítios extras de glicosilação (seis ao invés de quatro) no FcγRIIIb-NA2 (Figura 2). Os neutrófilos de indivíduos com o alótipo FcγRIIIb-NA2 são menos eficientes para fagocitar eritrócitos sensibilizados com IgG1 e IgG3, bem como bactérias opsonizadas com IgG1, quando comparados com os neutrófilos de indivíduos do alótipo FcγRIIIb-NA1. No entanto, estes alótipos não apresentam diferenças quanto à fagocitose mediada por IgG^{20, 50}.

A expressão do FcγRIIIb é pronunciadamente reduzida em pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna, cujo defeito primário é a deficiência de síntese da molécula de GPI, que é necessária para ancorar o receptor na membrana¹⁹.

Quanto à relevância clínica do polimorfismo do FcγRIIIb, há uma associação altamente significativa entre o fenótipo combinado FcγRIIa-R/R131 e

Fc γ RIIIb-NA2/NA2 e infecções meningocócicas em pacientes com deficiência de componentes da via terminal do sistema complemento⁶³.

5- Fc γ R COMO ALVOS PARA A IMUNOTERAPIA

Os Fc γ R são moléculas importantes para estimular respostas inflamatórias, citotóxicas, de hipersensibilidade, endocíticas e fagocíticas das células efetoras do sistema imune. Além disso, a fagocitose mediada pelos Fc γ R nas células, tais como macrófagos e células dendríticas, pode levar à apresentação de antígeno e amplificação da resposta imune. A ativação e regulação destas funções mediadas pelos Fc γ R estão envolvidas na fisiopatologia de várias doenças. Assim, os Fc γ R têm sido explorados como alvos para o desenvolvimento de novas terapias para o câncer, doenças infecciosas e desordens auto-imunes^{6,64}.

O determinante do sucesso dos anticorpos convencionais para dirigir a ADCC contra tumores é a sua habilidade para ligar e estimular eficientemente o Fc γ R. Diante disto, para sobrepor as limitações dos Fc γ R de humanos para ligar os monoclonais murinos, os domínios constantes destes anticorpos têm sido substituídos por domínios constantes de anticorpos de humanos. Estes anticorpos quiméricos combinam a especificidade dos anticorpos murinos com as regiões Fc dos anticorpos de humanos. Esta nova molécula tem uma habilidade maior para mediar a lise da célula tumoral por ADCC e para fixar complemento⁶⁵. Além destes anticorpos quiméricos, anticorpos bi-específicos (Ac-bi) têm sido desenvolvidos para melhorar o recrutamento de células efetoras e a ativação mediada pelos Fc γ R no sítio de localização do tumor. Estes Ac-bi também são moléculas quiméricas e possuem duas especificidades diferentes, uma para um antígeno tumoral e outra para o Fc γ R na célula efetora⁶⁶.

Os Fc γ R de interesse para mediar a citotoxicidade contra tumores são os Fc γ RI e Fc γ RIIIa. O Fc γ RI é expresso somente em célula efetora citotóxica e é sempre capaz de estimular atividade citotóxica. No entanto, em condições fisiológicas normais este receptor é saturado com a IgG sérica. O uso de Ac-bi pode estimular este receptor mais eficientemente para induzir a ADCC, fagocitose e outras funções. Os Ac-bi dirigidos para o Fc γ RI e para alguns antígenos tumorais têm sido desenvolvidos e se ligam ao Fc γ R fora do domínio ligante de Fc^{6, 64}.

O Fc γ RIIIa é uma molécula importante para

estimular a ADCC em células NK e também é funcional em macrófagos. Os Ac-bi dirigidos para este receptor e para antígenos tumorais têm sido testados em estudos *in vitro*, demonstrando eficiência para destruir as células tumorais⁶.

Alguns Ac-bi dirigidos para os Fc γ RI e Fc γ RIIIa já estão sendo usados em testes clínicos sozinhos ou combinados com citocinas que podem aumentar sua eficácia. Nestes testes, após a administração dos Ac-bi, observou-se um desaparecimento transitório das células efetoras Fc γ RI (+) da circulação e aumentos significativos dos níveis séricos de citocinas inflamatórias. As células efetoras revestidas com Ac-bi infiltraram o tumor, causando inflamação local, regressão da massa tumoral, diminuição dos níveis de antígenos tumorais na circulação e melhora da sintomatologia^{67, 68}. Estes resultados apontam para o potencial promissor do uso de Ac-bi dirigidos para os Fc γ R no tratamento do câncer.

Os Fc γ R também são moléculas importantes para mediar a captura e destruição de vírus, bactérias e uma variedade de parasitas. A importância dos Fc γ R nos mecanismos de defesa contra estes patógenos é enfatizada pela suscetibilidade a doenças infecciosas observada em indivíduos que expressam variáveis alotípicas destes receptores. Os indivíduos que apresentam o alótipo Fc γ RIIa-R131 nos neutrófilos são mais suscetíveis à infecções por bactérias encapsuladas⁴⁹. As formas alotípicas do Fc γ RIIIb (NA1 *versus* NA2) também apresentam diferenças quanto à ligação e à fagocitose e podem ter relevância clínica para a suscetibilidade à doenças infecciosas²⁰.

Em algumas circunstâncias a interação de anticorpos com os Fc γ R pode contribuir para a infecção de células que possuem estes receptores. Este fenômeno é conhecido como aumento da infecção dependente de anticorpo (ADE: *antibody-dependent enhancement*) e é sugerido que ocorra em algumas infecções virais, tais como a do vírus da dengue e a do vírus da imunodeficiência humana (HIV: *human immunodeficiency virus*). O ADE tem sido relacionado com baixas concentrações de anticorpos neutralizantes, que pela interação com os Fc γ R, seriam capazes de estabilizar o vírus na superfície da célula, facilitando a ligação do vírus com um receptor específico para efetuar a infecção. No caso da dengue, o bloqueio do sítio de ligação da IgG no Fc γ RII poderia reduzir a infecção. Na infecção pelo HIV, é proposto que este vírus, quando altamente opsonizado com anticorpos, faça interações multivalentes de alta afinidade com os Fc γ R, o que estimula a endocitose e

a degradação intracelular do complexo vírus-anticorpo. Ao contrário, os níveis baixos de anticorpos permitem o ADE facilitando a interação do vírus com a molécula CD4. Assim, a interação do HIV, altamente opsonizado por anticorpos, com os Fc γ R através de Ac-bi pode reduzir a infectividade viral por mecanismos citotóxicos mediados por estes receptores⁶⁹.

Nas desordens auto-imunes, os Fc γ R estão envolvidos na destruição de células normais opsonizadas com auto-anticorpos ou no *clearance* ineficiente de imunocomplexos. A ineficiência para remover IC solúveis descrita no LES leva à deposição destes complexos nos tecidos, estimulando inflamação e destruição tecidual, que é característica da reação de hipersensibilidade do tipo III. Os Fc γ R também medeiam a destruição de eritrócitos ou plaquetas autólogas na presença de auto-anticorpos para estas células, o que pode resultar em anemia hemolítica auto-imune (AHAI) ou púrpura trombocitopênica idiopática (PTI), respectivamente. Ambas condições são característi-

cas de reações de hipersensibilidade do tipo II. Estas observações sugerem que terapias dirigidas para os Fc γ R possam ser desenvolvidas para tratar desordens auto-imunes mediadas por reações de hipersensibilidade dos tipos II e III. O tratamento da PTI com imunoglobulina intravenosa suporta a idéia de que o bloqueio do Fc γ R seja um mecanismo relevante de ação⁶⁴.

Estes estudos estabelecem o papel pleiotrópico dos Fc γ R em várias doenças e identifica os Ac-bi dirigidos para estes receptores como uma abordagem terapêutica promissora. Novas técnicas que afetam diretamente a cascata de sinalização intracelular dos Fc γ R e moléculas multiespecíficas, que podem simultaneamente ativar ou regular várias classes de Fc γ R, podem oferecer opções terapêuticas adicionais.

AGRADECIMENTOS

Este estudo teve o apoio financeiro da FAPESP, processos 96/09626-2 e 03/05366-1.

Marzocchi-Machado CM, Lucisano-Valim YM. Receptors for Immunoglobulin G (Fc γ R). *Medicina (Ribeirão Preto)* 2005; 38 (1): 82-95.

Abstract: Receptors for immunoglobulin G (Fc γ R) provide an important link between the humoral and cellular branches of the immune response. These receptors can trigger a variety of biological responses such as phagocytosis, endocytosis, capture and clearance of immune complexes, antibody-dependent cell cytotoxicity and release of inflammatory mediators. Human Fc γ R belong to the Ig superfamily and three classes of these receptors are distinguished specifying many receptor isoforms. These molecules differ in affinity and specificity for IgG isotypes, cell distribution patterns, intracellular signal delivery and molecular weights. Moreover, the genetic polymorphism introduces variations among individuals. The structural and functional diversity makes these receptors potential targets for immunotherapy. Activation and deactivation of effector cells via Fc γ R can be exploited to develop novel therapies for cancer, infectious diseases and autoimmune disorders. This review describes structural and functional details, clinical relevance and some therapeutic use of the Fc γ R molecules.

keywords: Fc γ R. IgG. Immunotherapy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Daéron M. Structural bases of Fc γ R functions. *Int Rev Immunol* 1997; 16: 1-27.
- 2 - Rascu A, Repp R, Westerdaal NAC, Kalden JR, Van de Winkel JGJ. Clinical relevance of Fc γ receptor polymorphisms. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 815: 282-95.
- 3 - Galon J, Bouchard C, Fridman WH, Sautès C. Ligands and biological activities of soluble Fc γ receptors. *Immunol Letters* 1995; 44: 175-81.
- 4 - Zhou MJ, Brown EJ. CR3 (Mac-1, alpha M beta 2, CD11b/CD18) and Fc gamma RIII cooperate in generation of a neutrophil respiratory burst: requirement for Fc gamma RIII and tyrosine phosphorylation. *J Cell Biol* 1994; 125: 1407-16.
- 5 - Kimberly RP, Salmon JE, Edberg JC. Receptors for immunoglobulin G. Molecular diversity and implications for disease. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 306-14.
- 6 - Deo YM, Graziano RF, Repp R, Van de Winkel JG. Clinical significance of IgG Fc receptors and Fc γ R-directed immunotherapies. *Immunol Today* 1997; 18: 127-35.

- 7 - Gessner JE, Heiken H, Tamm A, Schmidt RE. The IgG Fc receptor family. *Ann Hematol* 1998; 76: 231-48.
- 8 - Daëron M. Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 203-34.
- 9 - Flesch BK, Neppert J. Functions of the Fc receptors for immunoglobulin G. *J Clin Lab Anal* 2000; 14: 141-56.
- 10 - Miller KL, Duchemin A-M, Anderson CL. A novel role for the Fc receptor γ subunit: enhancement of Fc γ ligand affinity. *J Exp Med* 1996; 183: 2227-33.
- 11 - Lanier LL, Yu G, Phillips JP. Co-association of CD3 ζ with a receptor (CD16) for IgG Fc on human NK cells. *Nature* 1989; 42: 803-5.
- 12 - Masuda M, Ross D. Association of all three types of Fc gamma R (CD64, CD32, and CD16) with a gamma-chain homodimer in cultured human monocytes. *J Immunol* 1993; 51: 7188-95.
- 13 - Orloff DG, Ra CS, Frank SJ, Klausner RD, Kinet JP. Family of disulphide-linked dimers containing the zeta and eta chains of the T-cell receptor and the gamma chain of Fc receptors. *Nature* 1990; 347:189-91.
- 14 - Mostov KE, Altschuler Y, Chapin SJ, Enrich C, Low S-H, Luton F, Richman-Eisenstat J, Singer KL, Tang K, Weimbs T. Regulation of protein traffic in polarized epithelial cells: the polymeric immunoglobulin receptor model. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1997; 60: 775-81.
- 15 - Letourneur O, Kennedy IC, Brini AT, Ortaldo JR, O'Shea JJ, Kinet JP. Characterization of the family of dimers associated with FC receptors (Fc γ RI and Fc γ RIII). *J Immunol* 1991; 147: 2652-6.
- 16 - Brooks DG, Qiu WQ, Luster A, Ravetch JV. Structure and expression of human IgG FcRII (CD32). Functional heterogeneity is encoded by the alternatively spliced products of multiple genes. *J Exp Med* 1989; 170: 1369-85.
- 17 - Warmerdam PA, Van de Winkel JG, Vlug A, Westerdal NA, Capel PJ. A single amino acid in the second Ig-like domain of the human Fc γ receptor II is critical for human IgG2 binding. *J Immunol* 1991; 147: 1338-43.
- 18 - Van Den Herik-Oudijk IE, Capel PJ, Van Der Bruggen T, Van de Winkel JG. Identification of signalling motifs within human Fc γ RIIA and Fc γ RIIB isoforms. *Blood* 1995; 85: 2202-11.
- 19 - Selvaraj P, Rosse WF, Silber R, Springer TA. The major Fc receptor in blood has a phosphatidylinositol anchor and is deficient in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nature* 1988; 333: 565-7.
- 20 - Salmon JE, Edberg JC, Kimberly RP. Fc γ RIII on human neutrophils. Allelic variants have functionally distinct capacities. *J Clin Invest* 1990; 85: 1287-95.
- 21 - Bux J, Stein E-L, Bierling P, Fromont P, Clay M, Stroncek D, Santoso S. Characterization of a new alloantigen (SH) on the human neutrophil Fc γ receptor III b. *Blood* 1997; 89: 1027-34.
- 22 - Koene HR, Kleijer M, Roos D, De Haas M, Von Dem Borne AE. Fc γ RIIIB gene duplication: evidence for presence and expression of three distinct Fc γ RIIIB genes in NA (1+, 2+) SH(+) individuals. *Blood* 1998; 91: 673-9.
- 23 - Unkless JC, Shen Z, Lin CW, Debeus E. Function of human Fc γ RIIA and Fc γ RIIIB. *Semin Immunol* 1995; 7: 37-44.
- 24 - Hundt M, Schmidt RE. The glycosylphosphatidylinositol-linked Fc gamma receptor III represents the dominant receptor structure for immune complex activation of neutrophils. *Eur J Immunol* 1992; 22: 811-6.
- 25 - Simister NE, Rees AR. Isolation and characterization of an Fc receptor from neonatal rat small intestine. *Eur J Immunol* 1985; 15: 733-8.
- 26 - Junghans RP, Anderson CL. The protection receptor for IgG catabolism is the β 2-microglobulin-containing neonatal intestinal transport receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5512-6.
- 27 - Ghetie V, Ward ES. FcRn: the MHC class I-related receptor that is more than an IgG transporter. *Immunol Today* 1997; 18: 592-8.
- 28 - Raghavan M, Bjorkman PJ. Fc receptors and their interaction with immunoglobulins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996; 12: 181-220.
- 29 - Teillaud JL, Bouchard C, Astier A, Teillaud C, Tartour E, Michon J, Galinha A, Moncuit J, Mazieres N, Spagnoli R, Fridman WH, Sautès C. Natural and recombinant soluble low-affinity Fc gamma R: detection, purification, and functional activities. *Immunomethods* 1994; 4: 48-64.
- 30 - Moldovan I, Galon J, Maridonneau-Parini I, Roman Roman S, Mathiot C, Fridman WH, Sautès-Fridman C. Regulation of production of soluble Fc gamma receptors type III in normal and pathological conditions. *Immunol Lett* 1999; 68: 125-34.
- 31 - Khayat D, Soubrane C, Andrieu JM, Visonneau S, Eme D, Tourani JM, Beldjord K, Weil M, Fernandez E, Jacquillat C. Changes of soluble CD16 levels in serum of HIV-infected patients: correlation with clinical and biologic prognostic factors. *J Infect Dis* 1990; 161: 430-5.
- 32 - Middelhoven PJ, Van Buul JD, Hordijk PL, Roos D. Different proteolytic mechanisms involved in Fc gamma RIIB shedding from human neutrophils. *Clin Exp Immunol* 2001; 125: 169-75.
- 33 - Reth MG. Antigen receptor tail clue. *Nature* 1989; 338: 383-4.
- 34 - Cambier JC. New nomenclature for the Reth motif (or ARH1/TAM/ARAM/YXXL) *Immunol Today* 1995; 16: 110.
- 35 - Durden DL, Kim HM, Calore B, Liu Y. The Fc gamma RI receptor signals through the activation of hck and MAP kinase. *J Immunol* 1995; 154: 4039-47.
- 36 - Thelen M, Dewald B, Baggiolini M. Neutrophil signal transduction and activation of the respiratory burst. *Physiol Rev* 1993; 73: 797-821.
- 37 - Aramburu J, Azzoni L, Rao A, Perussia B. Activation and expression of the nuclear factors of activated T cells, NFATp and NFATc, in human natural killer cells: regulation upon CD16 ligand binding. *J Exp Med* 1995; 182: 801-10.
- 38 - Tsitsikov EM, Fuleihan R, Mcintosh K, Scholl PR, Geha RS. Cross-linking of Fc gamma receptors activates HIV-1 long terminal repeat-driven transcription in human monocytes. *Int Immunol* 1995; 7: 1665-70.
- 39 - Rao A, Luo C, Hogan PG. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 707-47.
- 40 - Vivier E, Daëron M. Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs. *Immunol Today* 1997; 18: 286-91.

- 41 - Miettinen HM, Matter K, Hunziker W, Rose JK, Mellman I. Fc receptor endocytosis is controlled by a cytoplasmic domain determinant that actively prevents coated pit localization. *J Cell Biol* 1992; 116: 875-88.
- 42 - Sinclair NRS, Chan PL. Regulation of the immune response. IV. The role of the Fc-fragment in feedback inhibition by antibody. *Adv Exp Med Biol* 1971; 12: 609-15.
- 43 - Daëron M, Latour S, Malbec O, Espinosa E, Pina P, Pasmans S, Fridman WH. The same tyrosine-based inhibition motif, in the intracytoplasmic domain of Fc γ RIIB, regulates negatively BCR-, TCR-, and FcR-dependent cell activation. *Immunity* 1995; 3: 635-46.
- 44 - Brunkhorst BA, Strohmeier G, Lazzari K, Weil G, Melnick D, Fleit HB, Simons ER. Differential roles of Fc γ RII and Fc γ RIII in immune complex stimulation of human neutrophils. *J Biol Chem* 1992; 267: 20659-66.
- 45 - Blumberg RS, Koss T, Story CM, Barisani D, Polischuk J, Lipin A, Pablo L, Green R, Simister NE. A major histocompatibility complex class I-related Fc receptor for IgG on rat hepatocytes. *J Clin Invest* 1995; 95: 2397-402.
- 46 - Simister NE, Story CM, Chen HL, Hunt JS. An IgG-transporting Fc receptor expressed in the syncytiotrophoblast of human placenta. *Eur J Immunol* 1996; 26: 1527-31.
- 47 - Ceuppens JL, Baroja ML, Van Vaecck F, Anderson CL. Defect in the membrane expression of high affinity 72-kD Fc γ receptors on phagocytic cells in four healthy subjects. *J Clin Invest* 1988; 82: 571-8.
- 48 - Warmerdam PA, Van de Winkel JG, Gosselin EJ, Capel PJ. Molecular basis for a polymorphism of human Fc γ receptor II (CD32). *J Exp Med* 1990; 172: 19-25.
- 49 - Sanders LA, Feldman RG, Voorhorst-Ogink MM, De Haas M, Rijkers GT, Capel PJ, Zegers BJ, Van de Winkel JG. Human immunoglobulin G (IgG) Fc receptor IIA (CD32) polymorphism and IgG2-mediated bacterial phagocytosis by neutrophils. *Infect Immun* 1995; 63: 73-81.
- 50 - Bredius RG, Derckx BH, Fijen CA, De Wit TP, De Haas M, Weening RS, Van de Winkel JG, Out TA. Fc gamma receptor IIa (CD32) polymorphism in fulminant meningococcal septic shock in children. *J Infect Dis* 1994; 170: 848-53.
- 51 - Ohto H, Matsuo Y. Neutrophil-specific antigens and gene frequencies in Japanese. *Transfusion* 1989; 29: 654.
- 52 - Marzocchi-Machado CM, Lucisano-Valim YM. Clearance de imunocomplexos: papel do complemento e dos polimorfonucleares neutrófilos. *Medicina (Ribeirão Preto)* 1997; 30: 234-42.
- 53 - Hamburger MI, Lawley TJ, Kimberly RP, Plotz PH, Frank MM. A serial study of splenic reticuloendothelial system Fc receptor functional activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 48-54.
- 54 - Kimberly RP, Parriss TM, Inman RD, McDougal JS. Dynamics of mononuclear phagocyte system Fc receptor function in systemic lupus erythematosus. Relation to disease activity and circulating immune complexes. *Clin Exp Immunol* 1983; 51: 261-8.
- 55 - Marzocchi-Machado CM, Alves CMOS, Azzolini AECS, Polizello ACM, Carvalho IF, Lucisano-Valim YM. Fc gamma and complement receptors: expression, role and co-operation in mediating the oxidative burst and degranulation of neutrophils of Brazilian systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2002; 11: 240-8.
- 56 - Duits AJ, Bootsma H, Derksen RH, Spronk PE, Kater L, Kallenberg CG, Capel PJ, Westerdaal NA, Spierenburg GT, Gmelig-Meyling FH, Van de Winkel JG. Skewed distribution of IgG Fc receptor IIa (CD32) polymorphism is associated with renal disease in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1832-6.
- 57 - Brandt JT, Isenhardt CE, Osborne JM, Ahmed A, Anderson CL. On the role of platelet Fc gamma RIIa phenotype in heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1564-72.
- 58 - Van Den Herik-Oudijk IE, Westerdaal NA, Henriquez NV, Capel PJ, Van de Winkel JG. Functional analysis of human Fc gamma RII (CD32) isoforms expressed in B lymphocytes. *J Immunol* 1994; 152: 574-85.
- 59 - De Haas M, Koene HR, Kleijer M, De Vries E, Simsek S, Van Tol MJ, Roos D, Von Dem Borne AE. A triallelic Fc gamma receptor type IIIA polymorphism influences the binding of human IgG by NK cell Fc gamma RIIIa. *J Immunol* 1996; 156: 3948-55.
- 60 - Ravetch JV, Perussia B. Alternative membrane forms of Fc gamma RIII (CD16) on human natural killer cells and neutrophils. Cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions. *J Exp Med* 1989; 170: 481-97.
- 61 - Vance BA, Huizinga TW, Wardwell K, Guyre PM. Binding of monomeric human IgG defines an expression polymorphism of Fc γ RIII on large granular lymphocyte/natural killer cells. *J Immunol* 1993; 151: 6429-39.
- 62 - Huizinga TW, Kuijpers RW, Kleijer M, Schulpen TW, Cuypers HT, Roos D, Von Dem Borne AE. Maternal genomic neutrophil FcRIII deficiency leading to neonatal isoimmune neutropenia. *Blood* 1990; 76: 1927-32.
- 63 - Fijen CA, Bredius RG, Kuijper EJ. Polymorphism of IgG Fc receptors in meningococcal disease. *Ann Intern Med* 1993; 119: 636.
- 64 - Rouard H, Tamasdan S, Moncuit J, Moutel S, Michon J, Fridman WH, Teillaud JL. Fc receptors as targets for immunotherapy. *Int Rev Immunol* 1997; 16: 147-85.
- 65 - Fanger MW, Erbe DV. Fc γ receptors in cancer and infectious disease. *Immunol Res* 1992; 11: 203-16.
- 66 - Segal DM, Weiner GJ, Weiner LM. Bispecific antibodies in cancer therapy. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 558-62.
- 67 - Weiner LM, Clark JI, Davey M, Li WS, Garcia de Palazzo I, Ring DB, Alpaugh RK. Phase I trial of 2B1, a bispecific monoclonal antibody targeting c-erbB-2 and Fc gamma RIII. *Cancer Res* 1995; 55: 4586-93.
- 68 - Repp R, Valerius T, Wieland G, Becker W, Steininger H, Deo Y, Helm G, Gramatzki M, Van de Winkel JG, Lang N. G-CSF-stimulated PMN in immunotherapy of breast cancer with a bispecific antibody to Fc gamma RI and to HER-2/neu (MDX-210). *J Hematother* 1995; 4: 415-21.
- 69 - Connor RI, Dinces NB, Howell AL, Romet-Lemonne JL, Pasquali JL, Fanger MW. Fc receptors for IgG (Fc gamma Rs) on human monocytes and macrophages are not infectivity receptors for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): studies using bispecific antibodies to target HIV-1 to various myeloid cell surface molecules, including the Fc gamma R. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 9593-7.