

Trabajo de revisión

El receptor para el interferón gamma

A. CELADA

Cancer Research Center, La Jolla Cancer Research Foundation, 10901 North Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037, U.S.A.

Recibido en enero de 1988

INTRODUCCION

Todas las células transportan moléculas biológicamente importantes desde el exterior hacia el interior de la superficie celular. Existen sistemas específicos para transportar a través de la membrana moléculas pequeñas como son los aniones, los aminoácidos, los azúcares simples, etcétera, sin embargo, moléculas de gran talla, como las proteínas plasmáticas, toxinas, virus, etcétera, son ingeridas o transportadas mediante otros sistemas. En muchos casos, las moléculas extracelulares ejercen un efecto sobre la molécula al unirse a sistemas específicos de reconocimiento en la membrana que se conocen con el nombre de *receptores*.

Las funciones de los receptores son: *a)* distinguir específicamente las moléculas extracelulares a las que se fijan (ligandos); *b)* enviar una señal hacia el interior de la célula, una vez que el receptor interacciona con el ligando; y *c)* el complejo ligando-receptor se internaliza mediante invaginación de la membrana celular, formando una vesícula (*coated pit*) (Stahl y Schwarz, 1986). La internalización del complejo ligando-receptor sirve para liberar el ligando, con lo cual el receptor se puede reciclar a la superficie celular, o bien para introducir el ligando dentro de la célula, donde puede interactuar con distintas estructuras, lo que dará como resultado la activación celular.

Los primeros estudios sobre los receptores del interferón (IFN) se llevaron a cabo con el IFN de tipo I (*alfa* o *beta*). La existencia de receptores en la superficie celular se sugirió mediante tres tipos de experimentos. Primero, Friedman (1967), observó que las células que habían fijado IFN a baja temperatura, si eran tratadas con tripsina, al incubarlas a 37°C, no tenían una protección antiviral, mientras que las células no tratadas con tripsina sí la poseían. Segundo, la actividad del IFN puede recuperarse de los extractos de células homólogas, pero no de los de heterólogas expuestas al IFN (Stewart *et al.*, 1972; Berman y Vilcek, 1974). Igualmente, Gresser y colaboradores (1974), lograron eluir el IFN de las células sensibles de leucemia murina L1210 que habían sido tratadas con IFN, mientras que no lo consiguieron con las células L1210 resistentes al IFN. Tercero, la alta actividad específica del IFN y la observación de que solo una pequeña fracción se consumía después del tratamiento de las células *in vitro* (Friedman, 1967; Buckler *et al.*, 1966), son argumentos que indican que el IFN se fija a receptores de alta afinidad. No obstante, la verificación de esta hipótesis tuvo que esperar hasta que el IFN puro fuera disponible.

Utilizando IFN *alfa* o *beta* purificado y radiomarcado, se demostró que la fijación era

saturable y de alta afinidad en las células L1210 sensibles a la actividad del IFN (Aguet, 1980). Sin embargo, no se pudo demostrar ninguna fijación específica en las células L1210 resistentes al IFN, lo que sugiere que la fijación del IFN a las células se correlaciona con la respuesta biológica. Utilizando IFN *alfa* o *beta*, natural o recombinante, se ha demostrado la presencia de receptores en un gran número de células (revisado en Aguet y Mogensen, 1983; Zoon y Arnehter, 1984).

Una serie de estudios indirectos sugería la existencia de un receptor para el IFN *gamma* distinto del receptor para los IFN *alfa/beta*. El IFN *gamma* de ratón tiene una afinidad por los gangliósidos y una capacidad antiviral y antiproliferativa diferente de los IFN *alfa/beta* del ratón (Ankel *et al.*, 1980; Besanson *et al.*, 1983). Además, se observó que los gangliósidos inhibían las capacidades antiviral y antiproliferativa de los IFN *alfa/beta* de ratón, pero no las mismas actividades del IFN *gamma* de ratón (Ankel *et al.*, 1980). Por último, se ha visto que las células sensibles al efecto del IFN, L1219S, responden con la misma eficacia al IFN de ratón *alfa/beta* que al IFN *gamma*, pero las células L1210R, que no responden al IFN *alfa/beta*, sí responden al IFN *gamma* (Ankel *et al.*, 1980).

Los estudios directos de fijación del ligando han confirmado la existencia de un receptor distinto para el IFN *gamma*. Utilizando IFN *alfa* radiomarcado, los interferones *alfa* o *beta* competían por la fijación a la superficie celular, pero no así el IFN *gamma*, tanto en el sistema humano (Branca y Baglioni, 1981), como en el bovino (Zoon *et al.*, 1982) o en el murino (Aguet *et al.*, 1982).

Mediante el uso de híbridos celulares se ha demostrado una localización diferente para los genes de los receptores del IFN *alfa/beta* y para el IFN *gamma*. Los híbridos que contienen el cromosoma humano 21 poseen un gen o varios genes que confieren una sensibilidad a los IFN *alfa/beta* (Chancy *et al.*, 1975; Slate *et al.*, 1978). Los IFN *alfa/beta*, pero no el IFN *gamma*, se fijan a los híbridos ratón/humano que contienen el cromosoma 21 (Raziuddin *et al.*, 1984; Shulman *et al.*, 1984). Recientemente, el gen para el receptor del IFN *gamma* humano ha sido localizado en los brazos largos del cromosoma 6 (Rashidbaigi *et al.*, 1986) y el gen para el receptor del IFN *gamma* murino en el cromosoma 10 (Mariano *et al.*, 1987). Todas estas observaciones indican que el receptor para los IFN *alfa/beta* es distinto del receptor del IFN *gamma*. Estos resultados pueden explicar el efecto sinérgico sobre las funciones celulares que se observa cuando se emplean ambos tipos (*alfa/beta* y *gamma*) de IFN (Fleischmann *et al.*, 1979; Schwarz *et al.*, 1984).

ESTUDIOS QUE SUGIEREN LA PRESENCIA DE UN RECEPTOR PARA EL IFN GAMMA EN LA SUPERFICIE CELULAR

Los primeros estudios sobre los receptores del IFN *gamma* se llevaron a cabo con sobrenadantes no purificados de linfocitos T estimulados. Estos sobrenadantes contienen un factor que induce una serie de modificaciones funcionales y bioquímicas en los macrófagos. Este proceso ha sido denominado como activación de los macrófagos, y a la linfokina que induce estos efectos se le denomina factor activador de los macrófagos o MAF. Los resultados de diversos laboratorios, incluyendo el nuestro, han demostrado que el IFN *gamma* es el factor activador de los macrófagos producido por los linfocitos T (revisado por Schreiber y Celada, 1985). Por lo tanto, los primitivos estudios sobre los receptores del factor activador de

los macrófagos eran de hecho los primeros estudios sobre el receptor del IFN *gamma*.

El tratamiento de los macrófagos con pronasa (agente proteolítico) inhibía la respuesta de estas células al factor activador de los macrófagos (Dy *et al.*, 1976; Post *et al.*, 1979).

Los macrófagos tratados con pronasa recuperaban su capacidad de respuesta al MAF tras una incubación de 12-14 horas, sugiriendo que el receptor de la superficie se había regenerado. Sin embargo, tras la incubación con MAF a 37 °C, la pronasa no afectaba la actividad citotóxica inducida por esta linfocina. Esto sugiere que la interacción entre el macrófago con el MAF/IFN *gamma* está mediada por una proteína.

Algunos experimentos han sugerido que los hidratos de carbono desempeñan un papel importante en la interacción entre el MAF y los macrófagos. El tratamiento de los macrófagos de ratón o de cobayo con L-fucosidasa o con lectinas de plantas que se unen a la fucosa, inhibe la respuesta al MAF (Poste *et al.*, 1979; Churchill y Wong, 1980). Otros azúcares como el N-acetil-D-galactosamina (Thomasson y Steward, 1980; Brunda *et al.*, 1983) o la manosa (Brunda *et al.*, 1983; Yamamoto y Tokunaga, 1981) son potentes inhibidores de la actividad citotóxica inducida por el MAF. La manosa también inhibe la formación de células gigantes inducida por el factor de fusión del macrófago (Rodríguez Acosta *et al.*, 1983), factor que se ha identificado como el IFN *gamma* (Weinberg *et al.*, 1984).

El tratamiento con neuraminidasa hace que los macrófagos no respondan al MAF (Poste *et al.*, 1979; Churchill y Wong, 1980; Yamamoto y Tokunaga, 1981) lo que sugiere que el ácido siálico es un constituyente del receptor del MAF. Nosotros hemos encontrado que la manosa y menos fuertemente, la fucosa y la N-acetil-D-galactosamina, inhiben la actividad citotóxica así como la absorción del MAF por los macrófagos (A. Celada y R. D. Schreiber, manuscrito en preparación). No obstante, los azúcares fosforilados, y en particular, la manosa-6-fosfato, son los inhibidores más potentes, no solo de la absorción sino también de la actividad citotóxica inducida por el IFN *gamma* recombinante.

Los azúcares fosforilados inhiben además, de una forma dependiente de la dosis empleada, la fijación a 4°C del IFN *gamma* radiomarcado. El hecho de que algunas líneas deficientes en el receptor de la manosa-6-fosfato eran también deficientes en receptores del IFN *gamma*, nos hizo estudiar la relación entre ambos receptores. El IFN *gamma* radiomarcado no tenía ninguna afinidad por columnas de cromatografía conteniendo manosa, manosa-6-fosfato o el receptor para la manosa-6-fosfato. El tratamiento de los macrófagos humanos o de ratón con anticuerpos contra el receptor de la manosa-6-fosfato, no alteraba la fijación del IFN *gamma* a la superficie celular.

La interpretación de estos datos no es fácil y requiere cierta cautela. Actualmente no podemos excluir que los azúcares tengan un efecto no específico sobre la superficie celular, y no una interacción específica con el receptor del IFN. Por ejemplo, la manosa y la manosa-6-fosfato inhiben la actividad de las células naturales citotóxicas (Forbes *et al.*, 1981; Ortaldo *et al.*, 1984), así como la actividad inducida por la interleukina 2 (Ades *et al.*, 1986; Palladino *et al.*, 1983). Estos efectos, en los linfocitos T, no están relacionados con una interacción con el receptor de la manosa-6-fosfato (Werkmeister y Pross, 1985; Haubeck *et al.*, 1985). Finalmente, la manosa también inhibe la actividad supresora de los linfocitos T que se asocia con la mononucleosis infecciosa (Tosato *et al.*, 1983).

Yamamoto y Tokunaga (1981), fueron los primeros en demostrar la capacidad de los macrófagos de eliminar la actividad MAF de los sobrenadantes de los linfocitos T. Sin embargo, en estos estudios se utilizó una preparación de MAF no identificada bioquímicamente, y tampoco se estableció que el mecanismo de eliminación de la actividad del MAF se debía a la absorción por los macrófagos. Para nuestros estudios de absorción (Celada *et al.*, 1984), hemos utilizado sobrenadantes de bazo de ratón o de un hibridoma T (Schreiber *et al.*, 1982).

Los anticuerpos monoclonales contra el IFN *gamma* recombinante abolían completamente la actividad MAF de dichos sobrenadantes (Schreiber *et al.*, 1985), lo que demuestra que la molécula que activaba los macrófagos era IFN *gamma*. Los macrófagos de la cavidad peritoneal del ratón, o de los obtenidos de la médula ósea, incubados a 4 °C o a 37 °C, eliminaban la actividad MAF de los sobrenadantes. La pérdida de actividad es el resultado de la absorción y no de un consumo por los macrófagos. La absorción dependía de la cantidad de macrófagos o de MAF utilizados, así como del tiempo en que se incubaban a 37 °C, pero no a 4 °C.

Utilizando las células humanas o de cuatro especies de roedores, pudimos poner de manifiesto que la absorción era específica de cada especie. Con excepción de dos líneas celulares de macrófagos de ratón (P388D1 y J774), el resto absorbían la actividad MAF. El IFN *gamma* era absorbido por los macrófagos peritoneales de ratón, pero no así por las células P388D1.

Por último, la presencia de receptores para el IFN *gamma* se sugirió porque los macrófagos normales (pero no las células P388D1) fijaban microesferas fluorescentes recubiertas de IFN *gamma* recombinante, pero no microesferas recubiertas de albúmina u otras proteínas de control (Celada *et al.*, 1984).

DEMOSTRACION DIRECTA DEL RECEPTOR PARA EL IFN *GAMMA*

Aunque los estudios descritos en la sección precedente sugieren de forma destacada la existencia de un receptor para el IFN *gamma* en la superficie celular, estos deben ser confirmados mediante estudios cuantitativos de fijación utilizando IFN *gamma* radiomarcado. Los estudios de la fijación de un ligando a un receptor celular se basan en el concepto de especificidad, el cual implica que los receptores existan en un número suficiente, que se puedan saturar y que la unión ligando-receptor no pueda ser inhibida por sustancias no relacionadas con el ligando. Según este principio, la presencia de receptores se ha descrito en un gran número de sistemas biológicos mediante el uso de curvas de saturación y estudios de inhibición con competidores específicos. Los procedimientos experimentales y los modelos matemáticos para la interpretación de los resultados han sido extensamente revisados (Cuatrecasas y Hollenberg, 1976).

El análisis de Scatchard es el método que se usa más a menudo para representar los datos de la fijación de un ligando. Los gráficos están basados en la ley de acción de masas transformada en una función lineal. Para que los valores que se obtienen de la constante de afinidad y el número de receptores sean válidos, la interacción del ligando con el receptor debe ser reversible, bimolecular y las concentraciones respectivas deben medirse en el punto de equilibrio. Las respuestas biológicas del IFN *gamma* se miden generalmente a 37 °C, pero la fijación del receptor es mejor medirla a 4 °C, temperatura a la cual puede alcanzarse el equilibrio. Si se quiere relacionar la ocupación del receptor con la función celular, debe aceptarse la posibilidad de que ninguna de las reacciones que ocurren después de la fijación del ligando al receptor, alcance un equilibrio estable.

En los experimentos con células viables deben considerarse los procesos que se llevan a cabo a 37 °C, tales como el aclaramiento, el reciclaje y la internalización o la degradación del receptor. Estos mecanismos no solo son incompatibles con la aplicación de la ley de acción de masas, sino que a menudo están interrelacionados y son difíciles de investigar separadamente. En estos casos, la pendiente de los gráficos de Scatchard y las intercepciones no corresponden a los parámetros de una reacción simple bimolecular; la fijación a 4 °C es estática, mientras que la actividad a 37 °C es dinámica.

Los estudios directos de fijación se basan en la disponibilidad de ligandos purificados y radiomarcados sin pérdida de la actividad biológica. Los primeros estudios de fijación específica de IFN *gamma* se llevaron a cabo cuando se obtuvo una preparación de IFN *gamma*

humano purificado (Anderson *et al.*, 1982). Los estudios realizados utilizando IFN *gamma* marcado con 125 I y fibroblastos humanos (GM-258), mostraron que la fijación era saturable, específica y de moderada afinidad.

Mediante el uso de IFN *gamma* humano, bien sea natural o recombinante, se ha llevado a cabo la demostración de receptores en una serie de diferentes tipos de células, que son las siguientes: fibroblastos, monocitos, macrófagos, promielocitos, linfocitos, células epiteliales, mielocitos, keratinocitos y plaquetas (tabla 1).

Tabla 1
RECEPTORES PARA EL INTERFERON γ HUMANO

Célula	Constante de afinidad (nM)	Receptores / célula	Referencia
Fibroblastos (GM259)	0,1-0,5	2 400	Anderson et al. (1982)
Fibroblastos (GM259)	2-6	8 000-20 000	Anderson et al. (1983)
Fibroblastos (FS11) ^a	0,0001	5 500	Orchansky et al. (1984)
Fibroblastos (WISH) ^b	7,3	50 000-70 000	Sarkar y Gupta, 1984
Monocitos	2,5	6 900+1 000	Celada et al., 1985
Macrófagos (U937)	2,0	4 200+1 000	
Promielocitos (HL60)	2,4	3 200+700	
Linfoblastos (Daudi)	0,4	13 000	Littman et al., 1985b
Epiteliales (HeLa)	0,6	5 000	
Epiteliales (HEp-2)	1,0	7 500-15 000	Merlin et al., 1985
Linfoblastoides (Daudi)	0,5-1,0	3 500-7 000	
Linfocitos	0,005-0,2	200+100	
Epiteliales (Colo 205)	0,55	14 300	Ucer et al., 1985
Promielocitos (HL60)	0,09	700	
Mielocitos (K562)	0,08	400	
Linfocitos OKT4+	0,23	300	
Linfocitos OKT8+	0,22	300	
Macrófagos (U937)	0,15	1 800	Rashidbaigi et al., 1985
Monocitos	0,05-0,1	3 000-5 000	Finbloom et al., 1985
Promielocitos (HL60)	0,05-0,1	3 000-5 000	
Macrófagos (U937)	0,05-0,1	3 000-5 000	
Fibroblastos (WISH)	1,4	20 100	Orchansky et al., 1986
Monocitos	6,8	2 400	
Linfocitos T	0,04	520+150	Faltynek et al., 1986
Linfoblastoides (Daudi)	0,05	7 900	
Keratinocitos	0,1	2 200	Nickloff, 1987
Plaquetas	0,2	150-200	Molinas et al., 1987

^aIncubación a 37 °C y tratamiento con tripsina;

^bCompetidor en 40 veces exceso solamente.

Además de esta tabla, véanse los trabajos de Ucer et al., 1986 y de Nagao et al., 1986, donde se publica una lista extensa de diferentes tipos celulares.

En la mayoría de las publicaciones, el número de receptores es de 1 000 a 10 000 por célula, con una constante de disociación de 1×10^{-9} a 1×10^{-11} M. Solamente en dos casos los valores son diferentes, aunque existen razones técnicas para explicar las diferencias. En el primer caso, Orchansky y colaboradores (1984), hicieron la fijación a 37 °C tratando posteriormente las células con tripsina, midiendo así el IFN *gamma* internalizado y no el fijado a la superficie celular, lo que explica la alta constante de disociación obtenida en este estudio.

Sarkar y Gupta (1984) encontraron un número de receptores muy elevado, aunque esto se debe, probablemente, a la baja cantidad de IFN *gamma* no radiomarcado que utilizaron para

medir la fijación específica (40 veces en exceso del radiomarcado). En nuestros experimentos hemos comprobado que la adición de 1, 10, 100 o 1 000 veces exceso de IFN *gamma* no radiomarcado, origina una competencia del IFN *gamma* radiomarcado y disminuye la fijación 30, 71, 91 y 96% respectivamente (Celada *et al.*, manuscrito propuesto para su publicación). En algunos casos se ha descrito en líneas celulares o en células de pacientes con tumores la ausencia de receptores de IFN *gamma* (Ucer *et al.*, 1986; Nagao *et al.*, 1986).

Experiencias llevadas a cabo en algunos laboratorios indican que la fijación del IFN *gamma* natural (glicosilado), es comparable a la que se observa con IFN *gamma* recombinante (no glicosilado). Ambos tipos de IFN *gamma* expresan igual actividad MAF cuando se comparan en relación con la actividad antiviral (Schreiber *et al.*, 1985). La desglicosilación del IFN *gamma* humano natural no altera su capacidad funcional (Kelker *et al.*, 1983). El IFN *gamma* natural puede competir cuantitativamente con el radiomarcado recombinante por la fijación del receptor (Celada *et al.*, 1984; 1985). El IFN *gamma* humano recombinante, bien sea producido en bacterias *E. coli* (no glicosilado) o en células de mamífero CHO (glicosilado), se fija con la misma afinidad a los receptores (Littman *et al.*, 1985a).

También se ha estudiado la fijación del IFN *gamma* de ratón a diferentes tipos de células murinas: macrófagos, fibroblastos, linfocitos y células ectodérmicas (tabla 2). Como ocurre con el IFN *gamma* humano, la mayoría de los estudios en el sistema murino muestran un número de receptores y una constante de disociación muy parecidas. Recientemente, Aiyer y colaboradores (1986), han descrito la presencia de dos tipos de receptores en los macrófagos de ratón: uno de alta y otro de baja afinidad, basándose en una curva bifásica de Scatchard. Sin embargo, estos estudios se llevaron a cabo a 37 °C y probablemente el receptor de alta afinidad sea solo el reflejo del IFN *gamma* internalizado.

Tabla 2
RECEPTORES PARA EL INTERFERON *gamma* DE RATÓN

Célula	Constante de afinidad (nM)	Receptores / célula	Referencia
Macrófagos	1,1	12 000	Celada <i>et al.</i> , 1984
Fibroblastos (L929)	1,0	4 200	Eppstein <i>et al.</i> , 1985
Fibroblastos (L929)	4,0	1 200	Cofano <i>et al.</i> , 1986
Linfocitos (L1210)	0,4	3 500	
Macrófagos (P388D1)	1,0	500	
Macrófagos	5,0	800	
Fibroblastos (CE-2)	2,0	1 000	
Fibroblastos (L1210)	0,5	11 000+4 000	Langer <i>et al.</i> , 1986
Timocitos (258C4.4)	0,9	9 100	
Ectodérmicas (Nulli-SCC1)	0,2	5 600+1 500	
Linfocitos (L1210)	0,5	4 000	Wietzerbin <i>et al.</i> , 1986
Macrófagos (WEHI-3)	0,09 ^a	520+210	Aiyer <i>et al.</i> , 1986
	2,7 ^b	4 390+1 600	
Linfocitos B	0,2	30 000	Landolfo <i>et al.</i> , 1986
Linfocitos T	0,2	30 000	
Macrófagos (WEHI-3)	1,4	10 500+1 400	Celada y Schreiber, 1987
Macrófagos (P388D)	1,0	800+300	

^a y ^b Receptores de alta y baja afinidad, el experimento se realizó a 37 °C.

Utilizando macrófagos humanos hemos demostrado que la fijación del IFN *gamma* al receptor a 4 °C es homogénea, mientras que a 37 °C es bimodal (Celada *et al.*, 1985). A 37 °C, la fijación de baja afinidad (Constante de disociación = $k_d = 1,7 \times 10^{-9}$ M) era similar a la obser-

vada a 4 °C ($k_d = 3,0 \times 10^{-9}$ M). Además, también se observaba un receptor de alta afinidad cuando las células habían sido incubadas a 37 °C ($k_d = 2,3 \times 10^{-10}$ M). Sin embargo, esto último parece ser el resultado de la internalización del ligando y no la expresión de distintas clases de receptores. Esta conclusión se llevó a cabo basada en los argumentos siguientes: *a*) las membranas celulares purificadas fijan el IFN *gamma* con la misma afinidad, bien sea a 4 °C ($1,2 \times 10^{-9}$ M) o a 37 °C ($1,5 \times 10^{-9}$ M); *b*) a ambas temperaturas, las células con la membrana fijada con paraformaldehído tienen una sola afinidad (a 4 °C, $0,9 \times 10^{-9}$ M y a 37 °C, $0,8 \times 10^{-9}$ M); y *c*) a 37 °C se puede demostrar que el IFN *gamma* se internaliza (Anderson *et al.*, 1983; Celada *et al.*, 1985; Celada y Schreiber, 1987; Rubinstein *et al.*, 1987).

Orchansky y colaboradores (1986), basándose en las diferencias encontradas en las gráficas de Scatchard, sugirieron que los receptores del IFN *gamma* en los monocitos y fibroblastos humanos eran diferentes, pues tenían una constante de disociación distinta. Nosotros hemos sido incapaces de reproducir estos resultados (Celada *et al.*, manuscrito propuesto para su publicación). Los macrófagos y los fibroblastos, humanos o de ratón, presentaban en las gráficas de Scatchard unas líneas paralelas, sugiriendo que tenían la misma afinidad. Estas discrepancias pueden ser explicadas por algunos problemas técnicos. En el trabajo de Orchansky y colaboradores (1986), se utilizaron distintas técnicas para los estudios de fijación del IFN *gamma* a los macrófagos y a los fibroblastos. Además, para separar los fibroblastos de las placas de cultivo, se utilizó tripsina, tratamiento que elimina los receptores del IFN *gamma* (Celada *et al.*, 1985).

En conclusión, la primera interacción del IFN *gamma* con la superficie celular, es decir, el reconocimiento del ligando por receptores específicos, ha sido ampliamente documentada.

NATURALEZA DE LOS RECEPTORES DEL IFN GAMMA

Como hemos indicado previamente, el tratamiento de los macrófagos con pronasa inhibe la respuesta al MAF/IFN *gamma* (Dy *et al.*, 1976; Poste *et al.*, 1979), lo que sugiere que la interacción está mediada por una proteína. Recientemente hemos demostrado que el receptor del IFN *gamma* en las células humanas es sensible al efecto de las proteasas (Celada *et al.*, 1985). El tratamiento con tripsina o pronasa reduce la fijación del IFN *gamma* 87 y 95% respectivamente.

La caracterización bioquímica del receptor comenzó con estudios en los que se usaron entrecruzadores (*cross-linker*) químicos, que reforzaban la unión del IFN *gamma* al receptor. Diversos grupos han encontrado un complejo IFN *gamma* radiomarcado-receptor de un peso molecular que oscila entre 105 y 130 kD, tanto en el sistema humano como en el murino (tabla 3). Sustrayendo el peso molecular del ligando, el peso estimado del receptor debe ser de 70 a 90

Tabla 3
PESO MOLECULAR DEL RECEPTOR

Célula	Peso molecular ligando+receptor (kD)	Peso molecular receptor (kD)	Referencia
Experimentos con entrecruzadores químicos			
Fibroblastos (GM258)	230+7	205	Anderson y Nagler, 1984
Fibroblastos (WISH)	105+5	88	Sarkar y Gupta, 1984
Macrófagos (U937)	104+18 ^a 107+10 ^b	87 90	Celada <i>et al.</i> , 1985

Célula	Peso molecular ligando+receptor (kD)	Peso molecular receptor (kD)	Referencia
Linfoblastoides (Daudi)	125+20	91	Littman et al., 1985
Epiteliales (A431)	117+17	85	Rashidbaigi et al., 1985
Eritroleucemia (K562)	160+10	126	Ucer et al., 1986
Plaquetas	100+5	83	Molinas et al., 1987
Linfocitos ratón (L1210)	110+5	93	Wietzerbin et al., 1986
Fibroblastos ratón (L929)	97-94	85	Langer et al., 1986
Purificación directa			
Linfocitos (RAJI)		90	Aguet y Merlin, 1987
Fibroblastos (WISH)		95	Novick et al., 1987
Placenta		90	Calderón et al., 1987
Placenta		115-70	Stefanos et al., 1987
Linfocitos ratón (EL4)		75-90	Landolfo et al., 1986

^aMembranas celulares; ^bCélulas completas.

En los experimentos con entrecruzadores químicos, el peso molecular del receptor se asume tras sustraer el peso molecular del ligando.

El cálculo definitivo del peso molecular del receptor se ha obtenido tras su aislamiento y purificación. Aguet y Merlin (1987a) han purificado el receptor a partir de linfocitos humanos mediante cromatografía de afinidad, utilizando primero una columna con anticuerpos monoclonales contra el receptor y después otra con IFN *gamma* inmovilizado. El eluido final contenía dos bandas de proteína con un peso aproximado de 90 y 50 kD. Ambas proteínas eran capaces de unirse específicamente al IFN *gamma* radiomarcado, aunque se ha visto que la banda de 50 kD es solo un producto de degradación (Mao *et al.*, 1987). Con estas proteínas se ha producido un anticuerpo policlonal que se ha usado en el clonaje del receptor (Aguet y Merlin, 1987b).

Utilizando IFN *gamma* inmovilizado, Novik y colaboradores (1987) han logrado purificar el receptor de los fibroblastos. El eluido final contenía una banda mayor de 95 kD y otras dos menores de 80 y 60 kD. En comunicaciones preliminares, se ha descrito que el peso molecular del receptor en los ratones oscila entre 75 y 90 kD, en dependencia de la línea celular usada (Landolfo *et al.*, 1986) y en la placenta humana de 90 kD (Calderon *et al.*, 1987), o entre 115 y 70 kD (Stefanos *et al.*, 1987).

ESPECIFICIDAD DE ESPECIE DEL COMPLEJO LIGANDO-RECEPTOR

Existen descripciones conflictivas sobre la interacción de los interferones con las células efectoras de diversas especies. En algunos sistemas experimentales, los interferones son capaces de inducir actividad en especies diferentes, mientras que en otros existe una exquisita especificidad de especie (Steward, 1979; Gillespie y Carter, 1981-1982). El IFN *gamma* humano y de ratón en los estudios funcionales tienen una alta especificidad de especie (De Ley *et al.*, 1980; Devos *et al.*, 1982; Fidler *et al.*, 1985).

Nuestros datos personales indican que el mecanismo de cruzamiento de especie se debe a una falta de reconocimiento del ligando heterólogo por parte del receptor (Celada *et al.*, manuscrito propuesto para su publicación). Esta conclusión se apoya en las observaciones siguientes: a) el ligando heterólogo radiomarcado es incapaz de fijarse a la superficie celular;

b) el ligando heterólogo no radiomarcado, incluso en gran exceso (6 000 veces) es incapaz de competir con el IFN *gamma* homólogo radiomarcado; y c) los híbridos somáticos humano/ratón que tiene el receptor humano fijan IFN *gamma* de ambas especies y les induce una actividad antiviral.

Por lo tanto, estos experimentos demuestran una correlación entre la fijación del IFN *gamma* a la superficie celular y la falta de reactividad cruzada en las células heterólogas. Estos datos confirman el trabajo reciente de Fidler y colaboradores (1985), que logran eliminar la especificidad de especie del IFN *gamma* humano y de ratón mediante la encapsulación en liposomas.

ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES QUE INHIBEN LA FIJACION DEL IFN GAMMA

Se han descrito un gran número de anticuerpos monoclonales contra el IFN *gamma* humano o de ratón, natural o recombinado, que inhiben *in vitro* las actividades funcionales. Sin embargo, solamente en contados casos se ha examinado el efecto de los anticuerpos sobre la fijación del IFN *gamma* a la superficie celular. En nuestro laboratorio hemos producido anticuerpos contra el IFN *gamma* de ratón recombinante, mediante inmunización de Hamster y fusión con células parenterales murinas (Schreiber *et al.*, 1985). Utilizando moléculas híbridas de IFN *gamma* de ratón y humano, controlamos que los anticuerpos estuvieran dirigidos contra la parte carboxilo o la parte amino terminal. Estos anticuerpos fijados a la proteína A eliminaban la actividad antiviral en fibroblastos y la actividad antitumoral en macrófagos. Además, ambos tipos de anticuerpos bloqueaban la fijación del IFN *gamma* radiomarcado a la superficie de los fibroblastos.

Utilizando un procedimiento similar, Russel y colaboradores (1986) produjeron anticuerpos monoclonales contra la parte amino terminal del IFN *gamma*. Estos anticuerpos, así como los anticuerpos policlonales contra péptidos dirigidos contra la parte amino o carboxilo terminal, inhibían las actividades antivirales y la inducción de citotoxicidad en el macrófago. Además, en todos los casos se bloqueaba la fijación del IFN *gamma* a la superficie celular.

Los anticuerpos producidos contra péptidos que mimetizan la parte amino-terminal (Langford *et al.*, 1983; Leist *et al.*, 1985) o la carboxilo-terminal (Langford *et al.*, 1987), inhiben la actividad funcional del IFN *gamma*. Estos resultados sugieren que ambas partes de la molécula del IFN *gamma*, la carboxilo y la amino-terminal, son necesarias para el reconocimiento por el receptor. Esta teoría se confirma, en parte, por los estudios llevados a cabo, en los que se ha modificado mediante ingeniería genética o digestión con enzimas la parte carboxilo-terminal de la molécula del IFN *gamma* (Rinderknecht y Burton, 1985; Arakawa *et al.*, 1986; De la Maza *et al.*, 1987) con lo cual pierde su actividad funcional y la capacidad de fijación a la superficie celular (Leinikki *et al.*, 1987).

Ultimamente se han descrito anticuerpos monoclonales contra el receptor (Aguet y Merlin, 1987a; Sheehan *et al.*, 1987). Estos anticuerpos son capaces de inhibir la fijación del IFN *gamma* radiomarcado y la inducción de actividad funcional, reconociendo diferentes tipos de células (fibroblastos, macrófagos, placenta). Esto sugiere que el receptor del IFN *gamma* expresado en distintas células contiene el mismo lugar para la fijación del ligando (Sheehan *et al.*, 1987).

OCUPACION DEL RECEPTOR POR EL LIGANDO Y RESPUESTA BIOLÓGICA

En nuestros estudios, la importancia biológica del receptor se ha puesto de manifiesto al estudiar la relación entre la ocupación del receptor y la producción de una respuesta funcional en los macrófagos. Con este propósito hemos medido la inducción de receptores Fc dependiente del IFN *gamma* en la línea celular de macrófagos humanos U937 (Celada *et al.*, 1985). La concentración necesaria de IFN *gamma* para ocupar los receptores (5 nM) es muy similar de la necesaria para inducir los receptores Fc (6 nM). Ucer y colaboradores (1985; 1986) han encontrado que la capacidad de las células de expresar antígenos HLA-DR se correlaciona con el número de receptores, es decir, cuantos más receptores presentan las células, menos IFN *gamma* es necesario.

Aiyer y colaboradores (1986), describieron que la inducción de Ia en la línea de macrófagos de ratón WEHI-3 requería solamente el 5% de ocupación de los receptores. Sin embargo, el experimento se llevó a cabo incubando los macrófagos a 37 °C en presencia de IFN *gamma* durante 48 horas. A causa de que los receptores son re-expresados continuamente, cantidades no saturantes pueden inducir actividad, por lo tanto, utilizando este tipo de experiencia es imposible conocer si una sola ocupación del receptor es suficiente para inducir función.

Recientemente hemos demostrado que una interacción de 30 minutos con dosis saturantes de IFN *gamma* es suficiente para la inducción de actividad total de Ia en los macrófagos de ratón (Celada y Maki; manuscrito propuesto para su publicación). Los macrófagos incubados con dosis bajas de IFN *gamma* (3 IRU/ml) durante 3 días, o con 300 IRU/ml durante 30 minutos, expresan niveles comparables de Ia en la superficie celular o de ARNm para I-A_b, por consiguiente, concluimos que una interrelación entre la concentración de IFN *gamma* y la duración de la interacción es crítica para la inducción de Ia en los macrófagos.

DESTINO DEL IFN GAMMA FIJADO AL RECEPTOR. RECICLAJE DEL RECEPTOR

La fijación del IFN *gamma* a los receptores en la superficie plasmática es el primer paso para la inducción de actividad. La internalización del IFN *gamma* radiomarcado ha sido demostrada en fibroblastos, linfocitos y macrófagos mediante el uso de la técnica de elución con ácido (Anderson *et al.*, 1983; Wietzerbin *et al.*, 1986; Celada y Schreiber, 1987; Rubinstein *et al.*, 1987) o la elución con proteasas (Celada *et al.*, 1985; Celada y Schreiber, 1987). A 37°C, el complejo receptor IFN y se internaliza en unos 30 minutos y se mantiene estable, por lo menos, aproximadamente 12 horas (Anderson *et al.*, 1983; Celada *et al.*, 1985; Celada y Schreiber, 1987). Las células incubadas a 4 °C no liberan IFN y no precipitable mediante el ácido tricloroacético (degradado). Sin embargo, a 37 °C, el material degradado se detecta en los sobrenadantes de los cultivos de monocitos humanos (Celada *et al.*, 1985; Rubinstein *et al.*, 1987), de los fibroblastos humanos (Anderson *et al.*, 1983; Rubinstein *et al.*, 1987) o en macrófagos de ratón (Celada y Schreiber, 1987) y aumenta linealmente en las siguientes 8-12 horas. Basándose en la actividad específica del IFN *gamma* radiomarcado, puede calcularse que la degradación se lleva a cabo a un ritmo constante de 5 000 a 7 000 moléculas/célula/hora. La degradación se lleva a cabo tras la fijación, como lo sugiere el hecho de que en presencia de anticuerpos monoclonales que inhiben la fijación a la superficie celular no hay degradación, y que la cantidad de IFN *gamma* degradado se correlaciona con la cantidad unida a la superficie celular.

La degradación lineal del IFN *gamma* en relación con el tiempo, sugiere que los receptores de los macrófagos y fibroblastos necesitan ser remplazados durante el transcurso de la incubación. Esto puede deberse a dos mecanismos: el primero es la existencia de un grupo de

receptores intracelulares, que hemos estimado, tras permeabilizar la superficie celular con saponina o digitonina, como del 54 al 62% de los receptores totales (Celada *et al.*, 1985; Celada y Schreiber, 1987). El otro mecanismo consiste en el reciclaje de los receptores, tras liberar el ligando. Esto se demostró mediante el uso de aminos lisosomotrópicos que aumentan el pH intralisosomal y, por lo tanto, el receptor no se libera del ligando inhibiendo el reciclaje a la superficie celular.

En presencia de tales drogas, la degradación del IFN *gamma* se inhibe (Anderson *et al.*, 1983; Celada y Schreiber, 1987; Rubinstein *et al.*, 1987) y los receptores quedan localizados en el interior de la célula (Celada y Schreiber, 1987). En breves períodos de incubación (8 horas) no se requiere síntesis del receptor, puesto que en presencia de cicloheximida (inhibidor de la síntesis proteica), los macrófagos fijan y degradan IFN *gamma* de forma muy similar a la de los controles (Celada y Schreiber, 1987). Esto confirma algunas observaciones previas que muestran que la interacción del IFN *gamma* con los macrófagos no requiere síntesis proteica y se induce una eficaz actividad tumoricida (Blasi y Varesio, 1984; Hamilton *et al.*, 1986).

El hecho de que la degradación del IFN *gamma* sea lineal sugiere, además que el ligando no produce una regulación negativa (desaparición de los receptores tras interactuar con el ligando). Resulta curioso que el IFN *gamma* regula la expresión de un gran número de receptores celulares: Fc (Guyre *et al.*, 1983; Perussia *et al.*, 1983); C3b (Guyre *et al.*, 1983; Esparza *et al.*, 1986); manosa-fucosa (Ezekowitz y Gordon, 1982); factor de necrosis tumoral (*tumor necrosis factor*) (Aggarwal *et al.*, 1985; Tsujimoto y Vilcek, 1985); interleukina 2 (Herrman *et al.*, 1985; Holter *et al.*, 1986) y el interferón *alfa* (Hannigan *et al.*, 1984). Sin embargo, la incubación de los macrófagos con IFN *alfa* o *beta*, endotoxina, inmunocomplejos, agregados de IgG o activadores de los proteína kinasa C (ésteres del forbol), no produce ninguna modificación de la capacidad de fijar IFN *gamma* a la superficie celular (Celada y Schreiber, 1987; Celada, 1988).

Estos datos, junto con la observación de que la expresión del receptor no se modifica por la diferenciación o activación celular (Celada *et al.*, 1985), apoya el concepto de que el receptor del IFN *gamma* es un componente ubicuo de la membrana de los macrófagos. Mediante manipulaciones farmacológicas utilizando corticoides, se ha observado que aumenta la fijación de IFN *gamma* a las células (Strickland *et al.*, 1986; Diez *et al.*, 1987). Esto explica el efecto potencializador de los corticoides sobre el IFN *gamma* en la expresión de los receptores Fc (Warren y Vogel, 1985).

En contraste con los datos presentados, Littman y colaboradores (1985), y Wietzerbin y colaboradores (1986), utilizando líneas celulares de linfocitos humanos y de ratón, han descrito que el IFN *gamma* produce una regulación negativa del receptor. Para el último grupo, el IFN *gamma* se internaliza en las células L1210, pero no se degrada. También se ha visto que la activación de los linfocitos T con fitohemaglutinina, concanavalina A o ésteres del forbol, inhiben la fijación de IFN *gamma* al receptor, debido probablemente a la producción endógena de IFN *gamma* (Faltynek y Princler, 1986).

Por su parte, Fassio y colaboradores (1987), sugieren que los ésteres del forbol producen una regulación negativa del receptor del IFN *gamma* en los linfocitos T, pero no en macrófagos, fibroblastos o mastocitos. Todos estos datos indican que los receptores del IFN *gamma* en los linfocitos, a pesar de tener un número, una constante de afinidad y un peso molecular comparable al de otras células, su metabolismo puede ser totalmente distinto del que ocurre en fibroblastos y macrófagos. Esto puede tener importantes implicaciones biológicas: a) mediante una regulación negativa del receptor, los linfocitos T pueden liberar al medio el IFN *gamma* que ellos mismos producen, y b) a causa del efecto antiproliferativo del IFN *gamma*, después de su estimulación, la regulación negativa del receptor permite proliferar a los linfocitos T.

Es interesante resaltar que los macrófagos de ratón requieren un corto período de incubación con IFN *gamma* para inducir al máximo la producción de peróxido de hidrógeno (Nathan *et al.*, 1983; Celada y Schreiber, 1987), la expresión de receptores Fc (Celada *et al.*, 1985), o la expresión de Ia (Celada y Maki, manuscrito propuesto para su publicación). No obstante, los macrófagos de ratón necesitan estar en contacto con IFN *gamma*, por lo menos durante cuatro horas, para que se pueda inducir la actividad citotóxica (Marino y Adams, 1982; Meltzer *et al.*, 1982; Occhionero *et al.*, 1984; Celada *et al.*, 1984).

Una observación semejante se ha llevado a cabo con los fibroblastos y la actividad antiviral inducida por el IFN *gamma* (Dianzani *et al.*, 1978). Esto sugiere que, para algunas funciones, la saturación de los receptores es suficiente para inducir la actividad, mientras que para otras funciones más complejas los receptores en la superficie celular tienen que ser ocupados unas cuantas veces para inducir la actividad funcional. En los macrófagos de ratón, el 100% de los receptores tiene que ser ocupado tres veces para que se desarrolle una actividad tumoricida completa (Celada y Schreiber, 1987). Finblom (1987), ha llegado a conclusiones semejantes tras comparar la expresión de receptores Fc con la actividad antiproliferativa.

La captación lineal del IFN *gamma* por los macrófagos puede contribuir a la inducción de citotoxicidad. La ocupación del receptor puede originar la iniciación de una señal en la superficie celular, como es el caso de la proteína C quinasa, que puede ser continua en virtud de la internalización y reciclamiento de los receptores. Además, la internalización continua del receptor puede originar la liberación de IFN *gamma* hacia algún lugar dentro de la célula, que puede ser necesario para la expresión de actividad biológica. Estos mecanismos pueden explicar porqué el IFN *gamma* puede ser mimetizado mediante activadores de la proteína quinasa C para algunas funciones que requieren una simple ocupación del receptor (Straussmann *et al.*, 1986; Johnson *et al.*, 1978). Sin embargo, el desarrollo de actividad citotóxica requiere no solamente la activación de la proteína quinasa C, sino además la movilización intracelular de calcio (Celada y Schreiber, 1986; Somers *et al.*, 1986).

Debemos mencionar que 30 minutos de interacción entre el IFN *gamma* y el receptor son suficientes para inducir ARNm e Ia en la superficie celular (Celada y Maki, manuscrito propuesto para su publicación). Estos datos apoyan nuestra sugerencia en el sentido de que se requiere síntesis proteica durante los 30 primeros minutos de interacción macrófago-IFN *gamma* para la inducción de ARNm I-A_b (Celada *et al.*, manuscrito propuesto para su publicación), tiempo requerido para que el complejo IFN *gamma*-receptor se internalice (Celada y Schreiber, 1987), por lo tanto, parece ser que durante los 30 primeros minutos se induce una proteína necesaria para el control de la transcripción del gen de I-A_b. El mecanismo de inducción mediante esta proteína es desconocido, pero parece ser que el IFN *gamma* actúa a nivel intracelular y no a nivel de la membrana. La primera hipótesis ha sido sugerida también por Sanceau y colaboradores (1987) para la actividad antiviral y la inducción de Ia, y por Fidler y colaboradores (1985) para la actividad tumoricida en macrófagos. Mediante microscopía electrónica, McDonald y colaboradores (1986) han observado que el IFN *gamma* de ratón se internaliza rápidamente y se traslada al núcleo, donde existen receptores en la membrana nuclear. Este resultado, que requiere verificación, induce una serie de hipótesis sobre el metabolismo y el mecanismo de activación celular. Para estos autores, el rápido transporte del IFN *gamma* a las áreas de cromatina densa del núcleo sugiere que la molécula de IFN *gamma* puede actuar directamente controlando la regulación del genoma.

Recientemente se han descrito dos secuencias conservadas en los genes Ia del ratón y humano, que se han identificado como elementos *cis-acting* de regulación transcripcional. Además, se han identificado dos proteínas que se fijan a estas secuencias conservadas (Miwa *et al.*, 1987; Dorn *et al.*, 1987; Celada *et al.*, 1988). No hemos sido capaces de demostrar una fijación directa del IFN *gamma* a las secuencias conservadas o interacción con las proteínas que se

fijan en dichas secuencias (Celada y Maki, resultados sin publicar). Esto sugiere que el contacto directo del IFN *gamma* con el ADN no es suficiente para iniciar la transcripción y requiere probablemente alguna proteína intermediaria cuya síntesis se lleva a cabo en los 30 primeros minutos, según hemos mencionado anteriormente.

Las investigaciones descritas en esta revisión aportan nuevos enfoques en las bases bioquímicas de interacción de la célula con el IFN *gamma*. El receptor desde el punto de vista bioquímico y funcional ha sido bien caracterizado, así como su metabolismo intracelular. Sin embargo, queda un largo camino por recorrer antes de comprender completamente los mecanismos que inician la activación celular y la transcripción de señales hacia el núcleo celular.

REFERENCIAS

- ADES, E. W.; A. HINSON y M. CULWELL (1986). *Effector cell sensitivity to sugar moieties. III. Inhibition by monosaccharides of interleukin-2 enhanced natural killing against viral and non-viral tumor target cells.* J. Clin. Lab. Immunol. **19**: 65-69.
- AGGARWAL, B. B.; T. EESSALU y P. E. HASS (1985). *Characterization of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by: gamma interferon.* Nature **318**: 665-667.
- AGUET, M. (1980). *High affinity binding of [¹²⁵I] labeled mouse interferon to a specific cell surface receptor.* Nature **284**: 459-461.
- AGUET, M.; F. BELARDELLI; B. BLANCHARD; F. MARCUCCI e I. GRESSER (1982). *High affinity binding of [¹²⁵I] labeled mouse interferon to a specific cell surface receptor. IV. Mouse gamma interferon and cholera toxin do not compete for the common receptor of alpha/beta interferon.* Virology **117**: 541-544.
- AGUET, M. y K. E. MOGENSEN (1983). *Interferon receptors.* Interferon **5**: 1-22.
- AGUET, M. y G. MERLIN (1987a). *Purification of human gamma interferon receptors by sequential affinity chromatography on immobilized monoclonal antireceptor antibodies and human gamma interferon.* J. Exp. Med. **165**: 988-999.
- AGUET, M. Y G. MERLIN (1987b). *Production of a polyclonal antiserum against affinity purified human interferon gamma receptors.* J. Interf. Res. **7**: 683.
- AIYER, R. A.; L. E. SERRANO y P. O. JONES (1986). *Interferon gamma binding to high and low affinity receptor components on murine macrophages.* J. Immunol. **136**: 3329-3334.
- ANDERSON, P.; Y. K. YIP y J. VILCEK (1982). *Specific binding of [¹²⁵I]-human interferon gamma to high affinity receptors on human fibroblasts.* J. Biol. Chem. **257**: 11301-11304.
- ANDERSON, P.; Y. K. YIP y J. VILCEK (1983). *Human interferon gamma is internalized and degraded by cultured fibroblasts.* J. Biol. Chem. **258**: 6497-6502.
- ANDERSON, P. y C. NAGLER (1984). *Photoaffinity labeling of an interferon gamma receptor on the surface of cultured fibroblasts.* Biochem. Biophys. Res. Commun. **120**: 828-833.
- ANKEL, H.; C. KRISHNAMURTI; F. BESANSON; S. STEFANOS y E. FALCOFF (1980). *Mouse fibroblasts (type I) and immune (type II) interferons pronounced differences in the affinity for gangliosides and antiviral and antigrowth effects on mouse leukemia L1210 cells.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **77**: 2528-2532.
- ARAKAWA, T.; Y. R. HSU; C. G. PARKER y P. H. LAI (1986). *Role of polycationic C-terminal portion in the structure and activity of recombinant human interferon gamma.* J. Biol. Chem. **261**: 8534-8539.
- BERMAN, B. y J. VILCEK (1974). *Cellular binding characteristics of human interferon.* Virology **57**: 378-386.
- BESANSON, F.; J. WIETZERBIN; S. STEFANOS; J. WIETZERBIN y E. FALCOFF (1983). *Action of different gamma interferons on mouse leukemic cells resistant to alpha and beta interferons.* Infect. Immun. **41**: 822-825.
- BLASI, E. y L. VAREGIO (1984). *Role of protein synthesis in the activation of cytotoxic mouse macrophages by lymphokines.* Cell. Immunol. **85**: 15-24.
- BRANCA, A. y C. BAGLIONI (1981). *Binding to human cells of [¹²⁵I] labeled alpha interferon produced in E. coli evidence for different receptors for type I and II interferons.* Nature **294**: 768-770.
- BRUNDA, M. J.; R. H. WILTROUT; H. T. HOLDEN y L. VAREGIO (1983). *Selective inhibition by monosaccharides of tumor cell cytotoxicity mediated by mouse macrophages, macrophage-like cell lines, and natural killer cells.* Int. J. Cancer **31**: 373-379.
- BUCKLER, C. E.; S. BARON y H. B. LEVY (1966). *Interferon lack of detectable uptake by cells.* Science **152**: 80-82.
- CALDERON, J.; K. C. F. SHEEHAN; C. CHANCE y R. D. SCHREIBER (1987). *Immunochemical and biochemical analysis of an IFN gamma receptor purified from human placenta.* J. Cell. Biol. **105**: 237a.
- CELADA, A.; P. W. GRAY; E. RINDERKNECHT y R. D. SCHREIBER (1984). *Evidence for a gamma interferon*

- receptor that regulates macrophage tumoricidal activity. *J. Exp. Med.* **160**: 55-74.
- CELADA, A.; R. ALLEN; I. ESPARZA; P. W. GRAY y R. D. SCHREIBER (1985). *Demonstration and partial characterization of the interferon-gamma receptor on human mononuclear phagocytes.* *J. Clin. Invest.* **76**: 2196-2205.
- CELADA, A. y R. D. SCHREIBER (1986). *Role of protein kinase C and intracellular calcium mobilization in the induction of macrophage tumoricidal activity by interferon gamma.* *J. Immunol.* **137**: 2373-2379.
- CELADA, A. y R. D. SCHREIBER (1987). *Internalization and degradation of receptor-bound interferon gamma by murine macrophages. Demonstration of receptor recycling.* *J. Immunol.* **139**: 147-153.
- CELADA, A.; M. SHIGA; M. IMAGAWA; J. KOP y R. A. MAKI (1988). *Identification of a nuclear factor that binds to a conserved sequence of the I-A_b gene.* *J. Immunol.* (En prensa.)
- CELADA, A. (1988). *Immune complex inhibition of macrophage activation is not due to an interaction with the binding or processing of interferon gamma.* *Immunology.* (En prensa.)
- CELADA, A. y R. A. MAKI. *Correlation between interferon gamma uptake by macrophages and surface and gene I-A_b expression.* (Manuscrito propuesto para su publicación.)
- CELADA, A.; M. J. KLEMSZ y R. A. MAKI. *Differential induction of I-A_b tumor necrosis factor, and complement component C3 by interferon gamma.* (Manuscrito propuesto para su publicación.)
- CHANCY, C.; M. VIGNAL; P. COUILLIN; N. CONG; J. BOUE y A. BOUE (1975). *Chromosomal localization of human genes governing the interferon-induced antiviral state.* *Proc. Natl. Acad. Scien. USA* **72**: 3129-3133.
- CHURCHILL, W. A. y C. WONG (1980). *Mediator-induced macrophage activation, as shown by enhanced cytotoxicity for tumor, requires macrophage surface fucose and sialic acid.* *Cell. Immunol.* **55**: 490-498.
- COFANO, F.; A. FASSIO; G. CAVALLO y S. LANDOLFO (1986). *Binding of murine ¹²⁵I-labeled natural interferon gamma to murine cell receptors.* *J. Gen. Virol.* **67**: 1205-1209.
- CUATRECASAS, P. y M. D. HOLLENBERG (1976). *Membrane receptors and hormone action.* *Adv. Protein Chem.* **30**: 251-451.
- DE LA MAZA, L. M.; E. M. PETERSON; L. E. BURTON; P. W. GRAY; E. RINDERKNECHT y C. W. CZARNIECKI (1987). *The antichlamydial, antiviral and antiproliferative activities of human gamma interferon are dependent on the integrity of the C terminus of the interferon molecule.* *Infect. Immun.* **55**: 2727-2733.
- DE LEY, M.; J. VAN DAMME; H. CLOEYS; H. WEENING; J. W. HEINI; A. BILLIAU; C. VERMYLEN y P. DE SOMER (1980). *Interferon induced in human leukocytes by mitogens production, partial purification and characterization.* *Eur. J. Immunol.* **10**: 877-883.
- DEVOS, R.; H. CHEROUTE; Y. TADA; W. DEGRAVE; H. HEUVERS WYN y W. FIERS (1982). *Molecular cloning of human immune interferon cDNA and its expression in eukaryotic cells.* *Nucl. Acids Res.* **10**: 2487-2501.
- DIANZANI, F.; L. SALTER; W. R. FLEISHMANN y M. ZUCCA (1978). *Immune interferon activates cells more slowly than does virus-induced interferon.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **159**: 94-97.
- DIEZ, R. A.; A. S. MISTCHENKO y E. T. FALCOFF (1987). *Corticosteroids modulate the binding of recombinant interferons alpha and gamma in NAMALVA cells.* *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **9**: 115-128.
- DORN, A.; J. BOLLEKENS; A. STAUB; C. BENOIST y D. MATHIS (1987). *A multiplicity of CCAAT box-binding proteins.* *Cell* **50**: 863-872.
- DY, M.; A. DIMITRIU; M. A. GOURGEROT y J. HAMBURGER (1976). *Nature of macrophage modifications induced by the macrophage activating factor(s) (MAF) effect of enzymes and temperature.* *J. Reticuloend. Soc.* **20**: 93-102.
- EPPSTEIN, D. A.; Y. V. MASH; M. VAN DER PAS; P. L. FELGNER y A. B. SCHREIBER (1985). *Biological activity of liposome-encapsulated murine interferon gamma is mediated by a cell membrane receptor.* *Proc. Natl. Acad. Scien. USA* **82**: 3688-3692.
- ESPARZA, I; R. I. FOX y R. D. SCHREIBER (1986). *Interferon gamma dependent modulation of C3b receptors (CRI) on human peripheral blood monocytes.* *J. Immunol.* **136**: 1360-1365.
- EZEKOWITZ, R. A. B. y S. GORDON (1982). *Down-regulation of mannosyl receptor-mediated endocytosis and antigen F4/80 in Bacillus Calmette-Guerin-activated mouse macrophages. Role of T lymphocytes and lymphokines.* *J. Exp. Med.* **155**: 1623-1637.
- FALTYNEK, C. R. y G. L. PRINCLER (1986). *Modulation of interferon alpha and interferon gamma receptor expression during T lymphocyte activation and proliferation.* *J. Interf. Res.* **6**: 639-653.
- FALTYNEK, C. R.; G. L. PRINCLER y J. R. ORTALDO (1986). *Expression of IFN alpha and IFN gamma receptors on normal human small resting Tlymphocytes and large granular lymphocytes.* *J. Immunol.* **136**: 4134-4139.
- FASSIO, A.; F. COFANO; G. CAVALLO y S. LANDOLFO (1987). *Activation of protein kinase C down-regulates IFN gamma receptors.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **144**: 337-344.
- FIDLER, I. J.; W. E. FOGLER; E. S. KLINERMANN e I. SAIKI (1985). *Abrogation of species specificity for activation of tumoricidal properties in macrophages by recombinant mouse or human interferon gamma encapsulated in liposomes.* *J. Immunol.* **135**: 4289-4296.
- FINDBLOOM, D. S. (1987). *Signal transduction and ligand-receptor dynamics of human interferon gamma in U937 cells.* *J. Interf. Res.* **7**: 766.
- FINDBLOOM, D. S.; D. L. HOOVER y L. M. WAHL (1985). *The characteristics of binding of human recombinant interferon gamma to its receptor on human monocytes and human monocyte-like cell lines.* *J. Immunol.* **135**: 300-305.
- FLEISCHMANN, W. R.; J. A. GEORGIADIS; L. C. OSBORNE y H. M. JOHNSON (1979). *Potentiation of interferon*

- activity by mixed preparations of fibroblasts and immune interferon. *Infect. Immun.* **26**: 248-253.
- FORBES, J. T.; R. K. BRETTHAVER y T. N. OELTMANN (1981). *Mannose 6-, fructose 1-, and fructose 6-phosphates inhibit human natural cell-mediated cytotoxicity.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**: 5797-5801.
- FRIEDMAN, R. M. (1967). *Interferon binding the first step in the establishment of antiviral activity.* *Science* **156**: 1760-1761.
- GILLESPIE, D. y W. A. CARTER (1981-1982). *Species specificity of interferon.* *Texas Rep. Biol. Med.* **41**: 37-42.
- GRESSER, I.; M. T. BANDU y R. BROUTY-BOYE (1974). *Interferon and cell division IX. Interferon-resistant L1210 cells characteristics and origin.* *J. Natl. Cancer Inst.* **52**: 553-559.
- GUYRE, P. M.; P. M. MORGANELLI y R. MILLER (1983). *Recombinant immune interferon increased immunoglobulin G Fc receptors on cultured human mononuclear phagocytes.* *J. Clin. Invest.* **72**: 393-397.
- HAMILTON, T. A.; M. M. JANSEN; S. D. SOMERS y D. O. ADAMS (1986). *Effects of bacterial lipopolysaccharides on protein synthesis in murine peritoneal macrophages: relationship to activation for macrophage tumoricidal function.* *J. Cell. Physiol.* **128**: 9-17.
- HANNIGAN, G. E.; E. N. FISH y B. R. G. WILLIAMS (1984). *Modulation of human interferon alpha receptor expression by human interferon gamma.* *J. Biol. Chem.* **259**: 8084-8086.
- HAUBECK, H. D.; E. KOLSCH; M. IMORT; A. HASILIK y K. VON FIGURA (1985). *Natural killer cell-mediated cytotoxicity does not depend on recognition of mannose 6-phosphate residues.* *J. Immunol.* **134**: 65-69.
- HERRMAN, F.; S. A. CANNISTRA; H. LEVINE y J. D. GRIFFIN (1985). *Expression of interleukin 2 receptors and binding of interleukin 2 by gamma interferon-induced human leukemic and normal monocytic cells.* *J. Exp. Med.* **162**: 1111-1116.
- HOLTER, W.; R. GURNOW; H. STOCKINGER y W. KNAPP (1986). *Recombinant interferon gamma induces interleukin 2 receptors on human peripheral blood monocytes.* *J. Immunol.* **136**: 2171-2175.
- JOHNSON, R. B.; C. A. GODZIK y Z. A. COHN (1978). *Increased superoxide anion production by immunologically activated and chemically elicited macrophages.* *J. Exp. Med.* **148**: 115-127.
- KELPER, H. C.; Y. K. YIP; P. ANDERSON y J. VILCEK (1983). *Effect of glycosidase treatment on the physicochemical properties and biological activity of human interferon gamma.* *J. Biol. Chem.* **258**: 8010-8013.
- LANDOLFO, S.; F. COFANO; A. FASSIO y G. CAVALLO (1986). *Production of polyclonal antibodies against mouse IFN gamma receptor.* *J. Interf. Res.* **6** (Suppl. 1): 107.
- LANGER, J. A.; A. RASHIDBAIGI y S. PESTKA (1986). *Preparation of ³²P-labeled murine immune interferon and its binding to the mouse immune interferon receptor.* *J. Biol. Chem.* **261**: 9801-9804.
- LANGFORD, M. P.; P. W. GRAY; G. J. STANTON; B. LAKHCHAURA; T. CHAN y H. M. JOHNSON (1983). *Antibodies to a synthetic peptide corresponding to the N-terminal end of mouse gamma interferon (IFN gamma).* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**: 866-871.
- LANGFORD, M. P.; D. A. WEIGENT; T. S. CHAN; H. M. JOHNSON y G. J. STANTON (1987). *Antibodies to the carboxyl terminus of mouse interferon gamma neutralize its immunoregulatory and antiviral activities.* *J. Interf. Res.* **7**: 95-101.
- LEINIKKI, P. O.; J. CALDERON; M. H. LUQUETTE y R. D. SCHREIBER (1987). *Reduced receptor binding by a human interferon gamma fragment lacking 11 carboxyl-terminal aminoacids.* *J. Immunol.* **139**: 3360-3366.
- LEIST, T.; R. TITMAS; S. PARTI y A. MEAGER (1985). *Antibodies to synthetic polypeptides corresponding to hydrophilic regions of human interferon gamma.* *Mol. Immunol.* **22**: 929-936.
- LITTMAN, S. J.; R. DEVOS y C. BAGLIONI (1985a). *Binding of unglycosylated and glycosylated human recombinant interferon gamma to cellular receptors.* *J. Interf. Res.* **5**: 471-476.
- LITTMAN, S. J.; C. R. FALTYNEK y C. BAGLIONI (1985b). *Binding of human recombinant ¹²⁵I-interferon gamma to receptors on human cells.* *J. Biol. Chem.* **260**: 1191-1195.
- MAC DONALD, H. S.; V. M. KUSHNARYOV; J. J. SEDMAK y S. E. GROSSBERG (1986). *Transport of gamma interferon into the cell nucleus may be mediated by nuclear membrane receptors.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **138**: 254-260.
- MAO, C.; A. BALLOTTI; M. AGUET; E. FALCOFF y G. MERLIN (1987). *Studies on the phosphorylation of the human interferon gamma receptor.* *J. Interf. Res.* **7**: 765.
- MARIANO, T. M.; C. A. KOZAK; J. A. LANGER y S. PESTKA (1987). *The mouse immune interferon receptor gene is located on chromosome 10.* *J. Biol. Chem.* **262**: 5812-5814.
- MARINO, P. A. y D. O. ADAMS (1982). *The capacity of activated murine macrophages for augmented binding of neoplastic cells: analysis of induction by lymphokine containing MAF and kinetics of the reaction.* *J. Immunol.* **128**: 2816-2823.
- MELTZER, M. S.; M. OCCHIONERO y L. P. RUCO (1982). *Macrophage activation for tumor cytotoxicity: regulatory mechanisms for induction and control cytotoxic activity.* *Fed. Proc.* **41**: 2198-2205.
- MERLIN, G.; E. FALCOFF y M. AGUET (1985). *¹²⁵I-labeled human interferons: alpha, beta and gamma comparative receptor-binding data.* *J. Gen. Virol.* **66**: 1149-1152.
- MIWA, K.; C. DOYLE y J. L. STROMINGER (1987). *Sequence specific interactions of nuclear factors with conserved sequences of human class II major histocompatibility complex genes.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 4939-4943.
- MOLINAS, F. C.; J. WIETZERBIN y E. FALCOFF (1987). *Human platelets possess receptors for a lymphokine.*

- Demonstration of high specific receptors for *HuIFN* gamma. *J. Immunol.* **138**: 802-806.
- NAGAO, S.; K. SATO e Y. OSADA (1986). Binding of human: gamma interferon to human epidermal tumor cells with different susceptibilities.: *Cancer Res.* **46**: 3279-3282.
- NATHAN, C. F.; H. W. MURRAY; M. E. WIEBE y B. Y. RUBIN (1983). Identification of interferon gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J. Exp. Med.* **158**: 670-689.
- NICKOLOFF, B. J. (1987). Binding of ¹²⁵I- gamma interferon to cultured human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **89**: 132-135.
- NOVICK, D.; P. ORCHANSKY; M. REVEL y M. RUBINSTEIN (1987). The human interferon: gamma receptor. Purification, characterization and preparation of antibodies.: *J. Biol. Chem.* **262**: 8483-8487.
- OCCHIONERO, M.; E. J. LEONARD y M. S. MELTZER (1984). Functional characterization of lymphokines from the EL-4T cell line that activate macrophages for nonspecific tumor cytotoxicity. *J. Leuk. Biol.* **35**: 405-414.
- ORCHANSKY, P.; D. NOVICK; D. G. FISCHER y M. RUBINSTEIN (1984). Type I and type II interferon receptors. *J. Interf. Res.* **4**: 275-282.
- ORCHANSKY, P.; M. RUBINSTEIN y D. G. FISCHER (1986). The interferon gamma receptor in human monocytes is different from the one in nonhematopoietic cells. *J. Immunol.* **136**: 169-173.
- ORTALDO, J. R.; T. T. TIMONEN y R. B. HEBERMAN (1984). Inhibition of activity of human NK and K cells by simple sugars discrimination between binding and post binding events. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **31**: 439-443.
- PALLADINO, M. A.; E. C. LATTIME; G. A. PECORARO; O. STUTMAN y H. F. OETTGEN (1983). Characterization of IL-2 dependent cytotoxic T-cell clones. *Cell. Immunol.* **76**: 286-294.
- PERUSSIA, B.; E. T. DAYTON; R. LAZARUS; V. FANNING y G. TRINCHIERI (1983). Immune interferon induces the receptor for monomeric IgG1 on human monocytic and myeloid cells. *J. Exp. Med.* **158**: 1092-1113.
- POSTE, G.; R. KIRSH; W. E. FOGLER e I. J. FIDLER (1979). Activation of tumoricidal properties in mouse macrophages by lymphokines encapsulated in liposomes. *Cancer Res.* **39**: 881-892.
- RASHIDBAIGI, A.; H. KUNG y S. PESTKA (1985). Characterization of receptors for immune interferon in U937 cells with ³²P-labeled human recombinant immune interferon. *J. Biol. Chem.* **260**: 8514-8519.
- RASHIDBAIGI, A.; J. A. LANGER; V. JUNG; C. JONES; H. G. MORSE; J. A. TISCHFIELD; J. J. TRILL; H. KUNG y S. PESTKA (1986). The gene for the human immune interferon receptor is located on chromosome 6. *Proc. Natl. Acad. Scien. USA* **83**: 384-388.
- RAZIUDDIN, A.; F. H. SARKAR; R. DUTKOWSKI; L. SHULMAN; F. H. RUDDLE y S. L. GUPTA (1984). Receptors for human alpha and beta interferon but not for gamma interferon are specified by human chromosome 21. *Proc. Natl. Acad. Scien. USA* **81**: 5504-5508.
- RINDERKNECHT, E. y L. E. BURTON (1985). "Biochemical characterization of natural and recombinant IFN gamma", en: *The biology of the IFN system*. Eds. H. Kirchner y H. Schellekens, Elsevier Biochemical Press, Amsterdam, pp. 415-423.
- RODRIGUEZ-ACOSTA, F. A.; B. GALINDO e I. M. CESARI (1983). Chemical nature of the interaction between macrophage fusion factor and macrophage membranes. *Scand. J. Immunol.* **18**: 407-410.
- RUBINSTEIN, M.; D. NOVICK y D. G. FISCHER (1987). The human interferon gamma receptor system. *Immunol. Rev.* **97**: 29-50.
- RUSSELL, J. K.; M. P. HAYES; J. M. CARTER; B. A. TORRES; B. M. DUNN; S. W. RUSSELL y H. M. JOHNSON (1986). Epitope and functional specificity of monoclonal antibodies to mouse interferon gamma: the synthetic peptide approach. *J. Immunol.* **136**: 3324-3328.
- SANCEAU, J.; P. SONDERMEYER; F. BERANGER; R. FALCOFF y C. VAQUERO (1987). Intracellular human gamma interferon triggers and anti-viral state in transformed murine L cells. *Proc. Natl. Acad. Scien. USA* **84**: 2906-2910.
- SARKAR, F. H. y S. L. GUPTA (1984). Receptors for human gamma interferon binding and crosslinking of ¹²⁵I-labeled recombinant human gamma interferon to receptors on WISH cells. *Proc. Natl. Acad. Scien. USA* **81**: 5160-5164.
- SCHREIBER, R. D.; A. ALTMAN y D. H. KATZ (1982). Identification of a T cell hybridoma which produces large quantities of macrophage-activating factor. *J. Exp. Med.* **156**: 677-689.
- SCHREIBER, R. D. y A. CELADA (1985). Molecular characterization of gamma interferon as a macrophage activating factor. *Lymphokines* **11**: 87-118.
- SCHREIBER, R. D.; L. J. HICKS; A. CELADA; N. A. BUCHMEIER y P. W. GRAY (1985). Monoclonal antibodies to murine gamma interferon which differentially modulate macrophage activation and antiviral activity. *J. Immunol.* **134**: 1609-1618.
- SCHWARZ, L. A.; C. M. FLEISCHMANN y W. R. FLEISCHMANN (1984). Potentiation of interferons antiviral activity by the mutually synergistic interaction of *MuIFN*- alpha/beta and *MuIFN* gamma. *J. Biol. Resp. Mod.* **3**: 608-612.
- SHEEHAN, K. C. F.; J. CALDERON; J. PINGEL y R. D. SCHREIBER (1987). Generation of monoclonal antibodies specific for the human interferon: gamma receptor. *J. Leuk. Biol.* **42**: 403.
- SHULMAN, L. M.; M. E. KAMARCK; D. L. SLATE; F. H. RUDDLE; A. E. BRANCA; C. BAGLIONI; B. L. MAXWELL; J. GUTTERMAN; P. ANDERSON; C. NAGLER y J. VILCEK (1984). Antibodies to chromosome 21 coded cell surface components block binding of human alpha interferon but not: gamma interferon to human cells.

- Virology 137: 422-427.
- SLATE, D. L.; L. SHULMAN; J. B. LAWRENCE; M. REVEL y F. H. RUDDLE (1978). *Presence of human chromosome 21 clone is sufficient for hybrid cell sensitivity to human interferon*. J. Virol. 25: 319-325.
- SOMERS, S. D.; J. E. WEIEL; T. A. HAMILTON y D. O. ADAMS (1986). *Phorbol esters and calcium ionophore can prime murine peritoneal macrophages for tumor cell destruction*. J. Immunol. 136: 4199-4205.
- STAHL, P. y A. L. SCHWARTZ (1986). *Receptor-mediated endocytosis*. J. Clin. Invest. 77: 657-662.
- STEFANOS, S.; A. RASHIDBAIGI; J. LANGER y S. PESTKA (1987). *Characterization and partial purification of the Hu-IFN gamma-receptor from placenta membranes*. J. Interf. Res. 7: 768.
- STEWART, W. E. II; E. DE CLERQ y P. DE SOMER (1972). *Recovery of cell-bound interferon*. J. Virol. 10: 707-712.
- STEWART, W. E. II (1979). *The interferon system*. Springer Verlag, New York.
- STRAUSSMANN, G.; S. D. SOMERS; T. A. SPRINGER; D. O. ADAMS y T. A. HAMILTON (1986). *Biochemical models of interferon-gamma-mediated macrophage activation. Independent regulation of lymphocyte function associated antigen (LFA-1) and I-A antigen on murine peritoneal macrophages*. Cell. Immunol. 97: 110-120.
- STRICKLAND, R. W.; L. M. WAHL y D. S. FINDBLOOM (1986). *Corticosteroids enhance the binding of recombinant interferon gamma to cultured human monocytes*. J. Immunol. 137: 1577-1580.
- THOMASSON, D. L. y C. C. STEWARD (1980). *N-acetyl-D-galactosamine blocks activation of murine macrophages to inhibit tumor cell growth*. J. Reticuloend. Soc. 28: 449-456.
- TOSATO, G.; S. E. PIKE y R. M. BLAESE (1983). *Reversal of infectious mononucleosis-associated suppressor T cell activity by D-mannose*. J. Exp. Med. 158: 1048-1060.
- TSUJIMOTO, M. y J. VILCEK (1986). *Tumor necrosis factor receptors in HeLa cells and their regulation by interferon gamma*. J. Biol. Chem. 261: 5384-5388.
- UCER, U.; H. BARTSCH; P. SCHEURICH y K. PFIZENMAIER (1985). *Biological effects of gamma interferon on human tumor cells quantity and affinity of cell membrane receptors for gamma IFN in relation to growth inhibition and induction of HLA-DR expression*. Int. J. Cancer 36: 103-108.
- UCER, U.; H. BARTSCH; P. SCHEURICH; D. BERKOVIC; C. ERTEL y K. PFIZENMAIER (1986). *Quantitation and characterization of gamma interferon receptors on human tumor cells*. Cancer Res. 46: 5339-5343.
- WARREN, M. K. y S. N. VOGEL (1985). *Opposing effects of glucocorticoids on interferon-gamma-induced murine macrophage Fc receptor and Ia antigen expression*. J. Immunol. 134: 2462-2469.
- WEINBERG, J. B.; M. M. HOBBS y M. A. MISUKONIS (1984). *Recombinant human gamma interferon induces human monocyte polykaryon formation*. Proc. Natl. Acad. Scien. USA 81: 4554-4557.
- WERKMEISTER, J. A. y H. F. PROSS (1985). *Studies on natural, antibody-dependent and interleukine-2-activated killer-cell activity of a patient with mucopolidosis III as a test of the mannose-6-phosphate lytic acceptor hypothesis*. J. Clin. Immunol. 5: 228-238.
- WIETZERBIN, J.; C. GAUDELET; M. AGUET y E. FALCOFF (1986). *Binding and cross-linking of recombinant mouse interferon gamma to receptors in mouse leukemic L1210 cells interferon gamma internalization and receptors down-regulation*. J. Immunol. 136: 2451-2455.
- YAMAMOTO, S. y T. TOKUNAGA (1981). *D-Mannose as a component of the macrophage surface receptor for macrophage-activating factor (MAF) in mice*. Cell. Immunol. 61: 319-331.
- ZOON, K. C.; D. ZUR NEDDEN y H. ARNHEITER (1982). *Specific binding of human alpha interferon to a high affinity cell surface binding site on bovine kidney cells*. J. Biol. Chem. 257: 4695-4697.
- ZOON, K. C. y H. ARNHEITER (1984). *Studies on the interferon receptors*. Pharmac. Ther. 24: 259-278.