

Úloha IgG4 v imunitní odpovědi

V. Král

*Centrum imunologie a mikrobiologie
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, ČR*



Ascomed, Sychrov, 26.-27.4. 2018

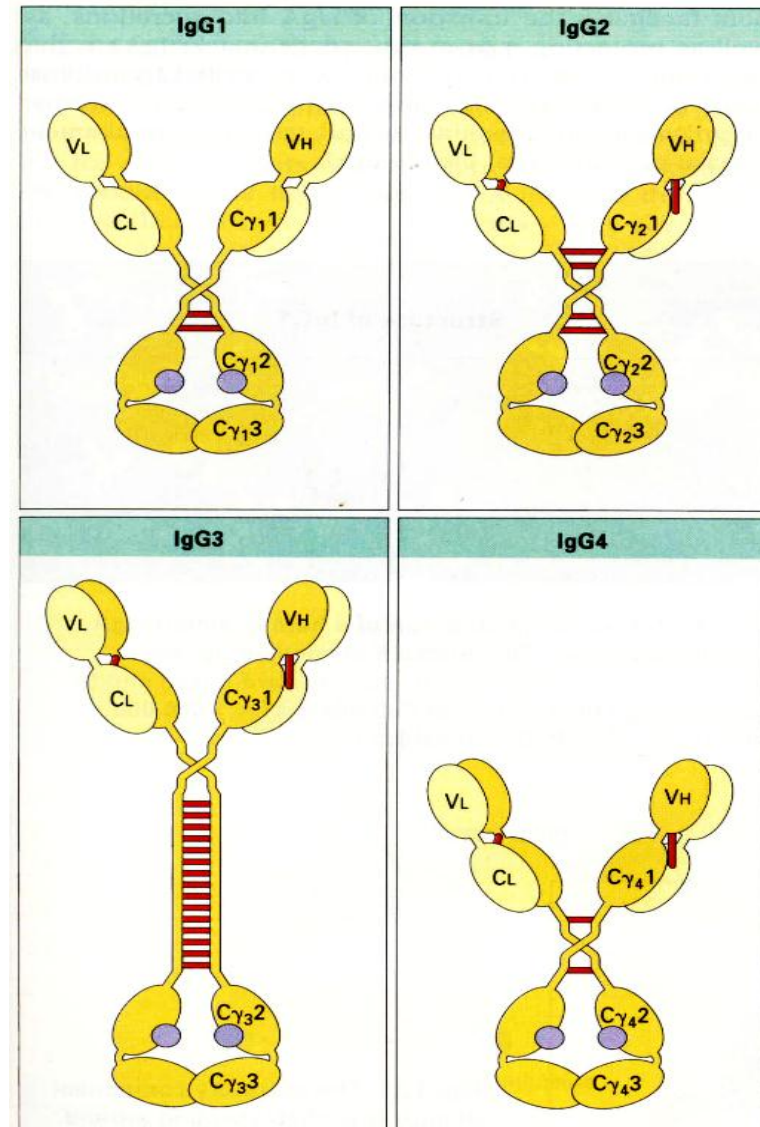
Úloha IgG4 v imunitní odpovědi

- ✓ Struktura – zvláštnosti
- ✓ Evoluce
- ✓ Funkce
- ✓ IgG4 v atopii (regulace syntézy, „blokující protilátka“)
- ✓ IgG4-RD
- ✓ IgG4 a autoimunita (blokáda interakce „protein-protein“)
- ✓ Závěr

Strukturní a funkční odlišnosti IgG4

(1)

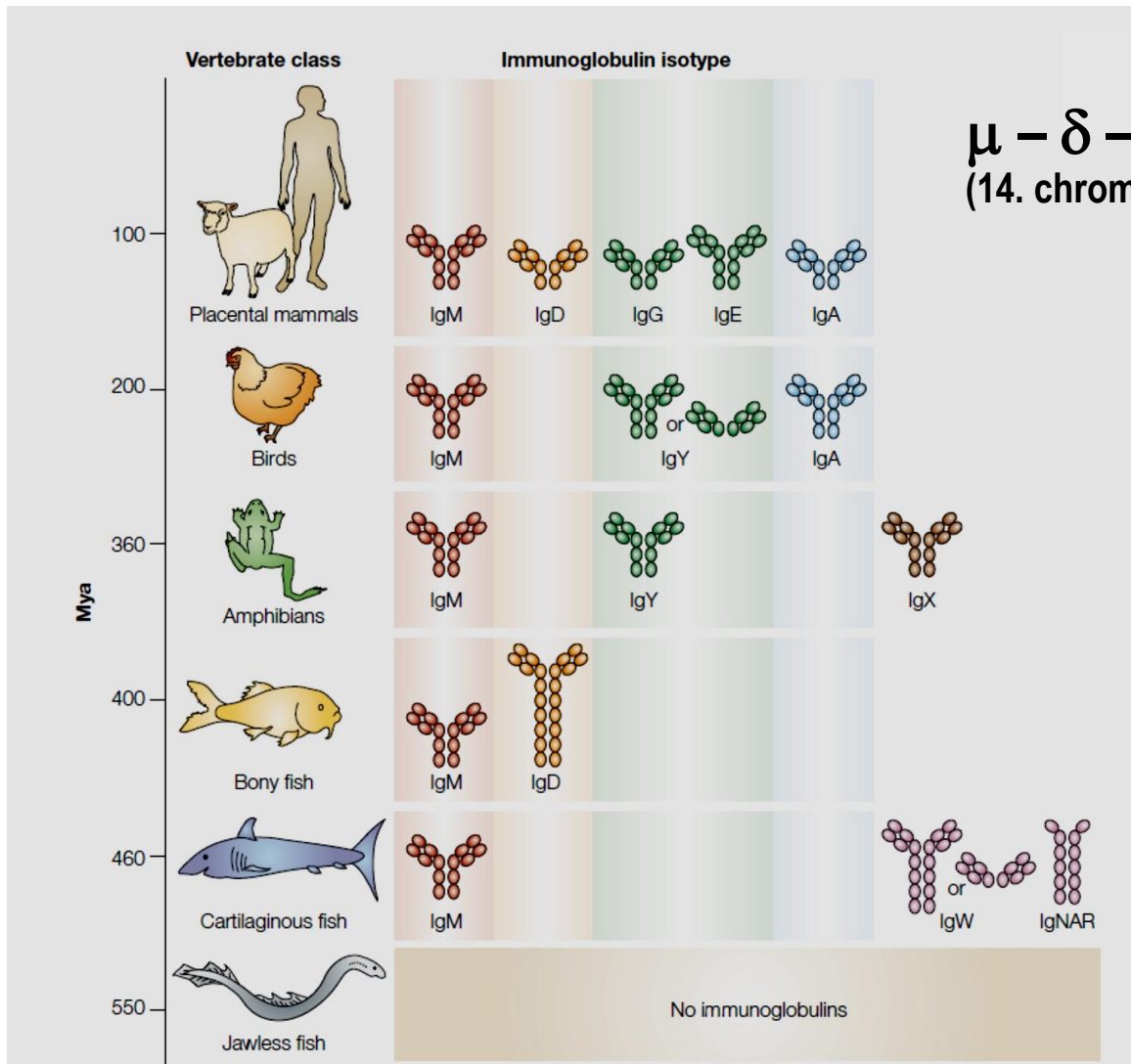
- ✓ méně než 5% celkového IgG u zdravých osob
- ✓ na rozdíl od IgG 1,2,3 kolísají koncentrace IgG 4 v rozmezí dvou řádů (normální hladiny jsou v rozsahu **0,01 – 1,4 g/l**)
- ✓ ... ale individuální nastavení hladin IgG4 je velmi stabilní (!)



Imunoglobulin IgG – vlastnosti podtříd

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Biologický terč	Protein	Karbohydrát	Protein	Protein
Funkční forma	Monomérní, bivalentní	Dimerická, bivalentní nebo tetravalentní	Monomérní, bivalentní	Bispecifická, monovalentní pro každý antigen
Sérové hladiny [g/l]	5 – 11	1,5 – 6	0,2 – 1	0,08 – 1,4
Podíl z celkového IgG [%]	43 – 75	16 – 48	1,7 – 7	0,8 – 11,7
Fixace komplementu	+++	+	+++	-
Vazba k Fc γ receptorům				
Fc γ RI	++	+	+++	+
Fc γ RII	++	+	+++	-
Fc γ RIII	++	+	++	-

Evoluce Ig tříd u obratlovců



$\mu - \delta - \gamma_3 - \gamma_1 - \alpha_1 - \gamma_2 - \gamma_4 - \epsilon - \alpha_2$
 (14. chromozóm)

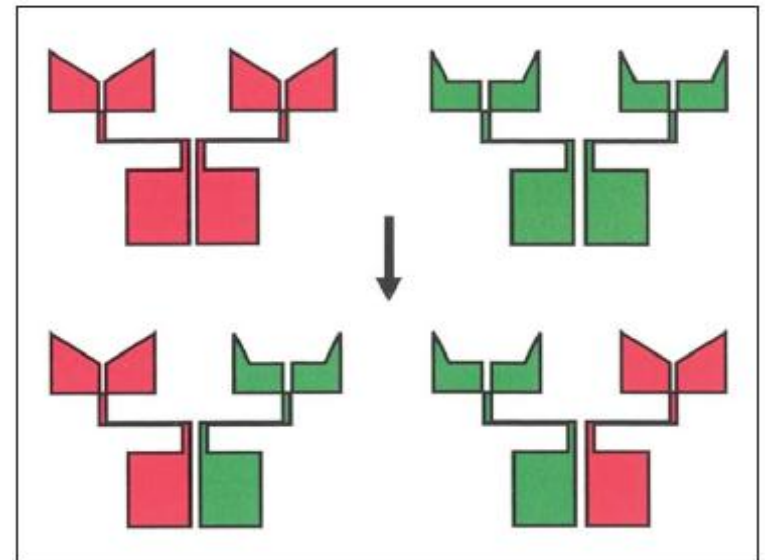
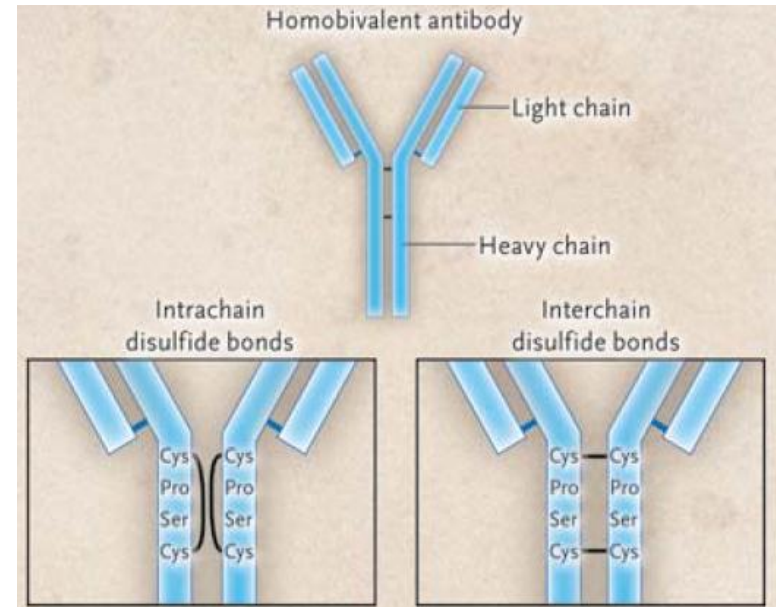
IgG₄ IgE

Strukturní a funkční odlišnosti IgG4 (2)

(2)

✓ fenomén výměny Fab vazebných ramen IgG4 molekuly („Fab Arm Exchange“) způsobený ztrátou meziřetězcových disulfidických vazeb

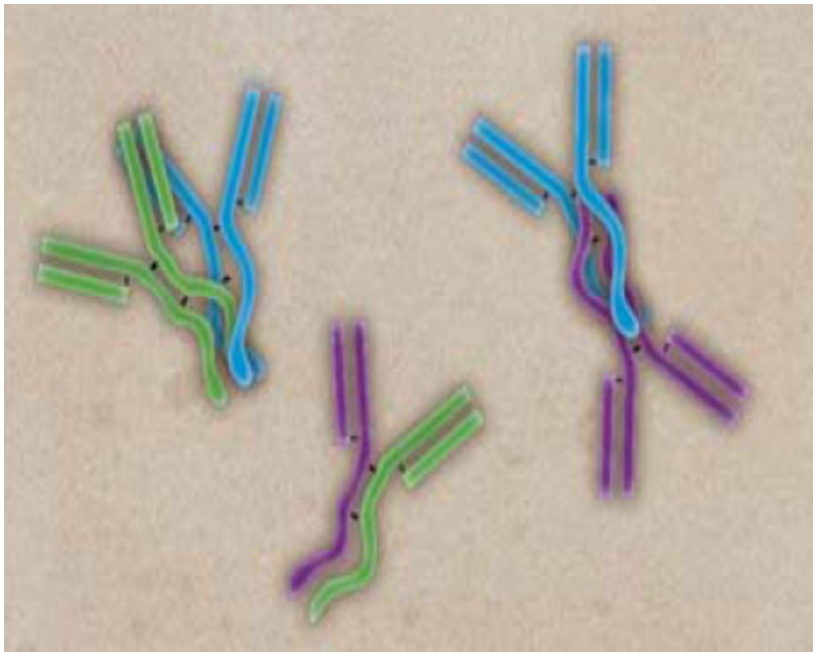
✓ z toho vyplývající „bivalentnost“ (faktická monovalentnost) IgG4 molekuly



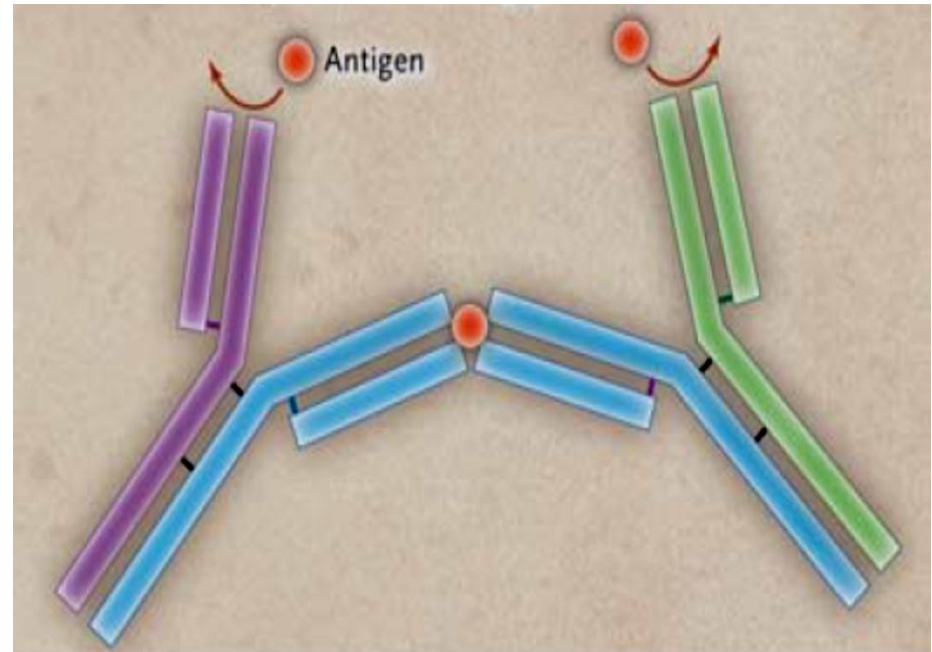
Strukturní a funkční odlišnosti IgG4

(3)

Fc – Fc interakce („RF-like“ aktivita)



Vznik „bispecifických“ molekul IgG4



Regulace tvorby IgG4

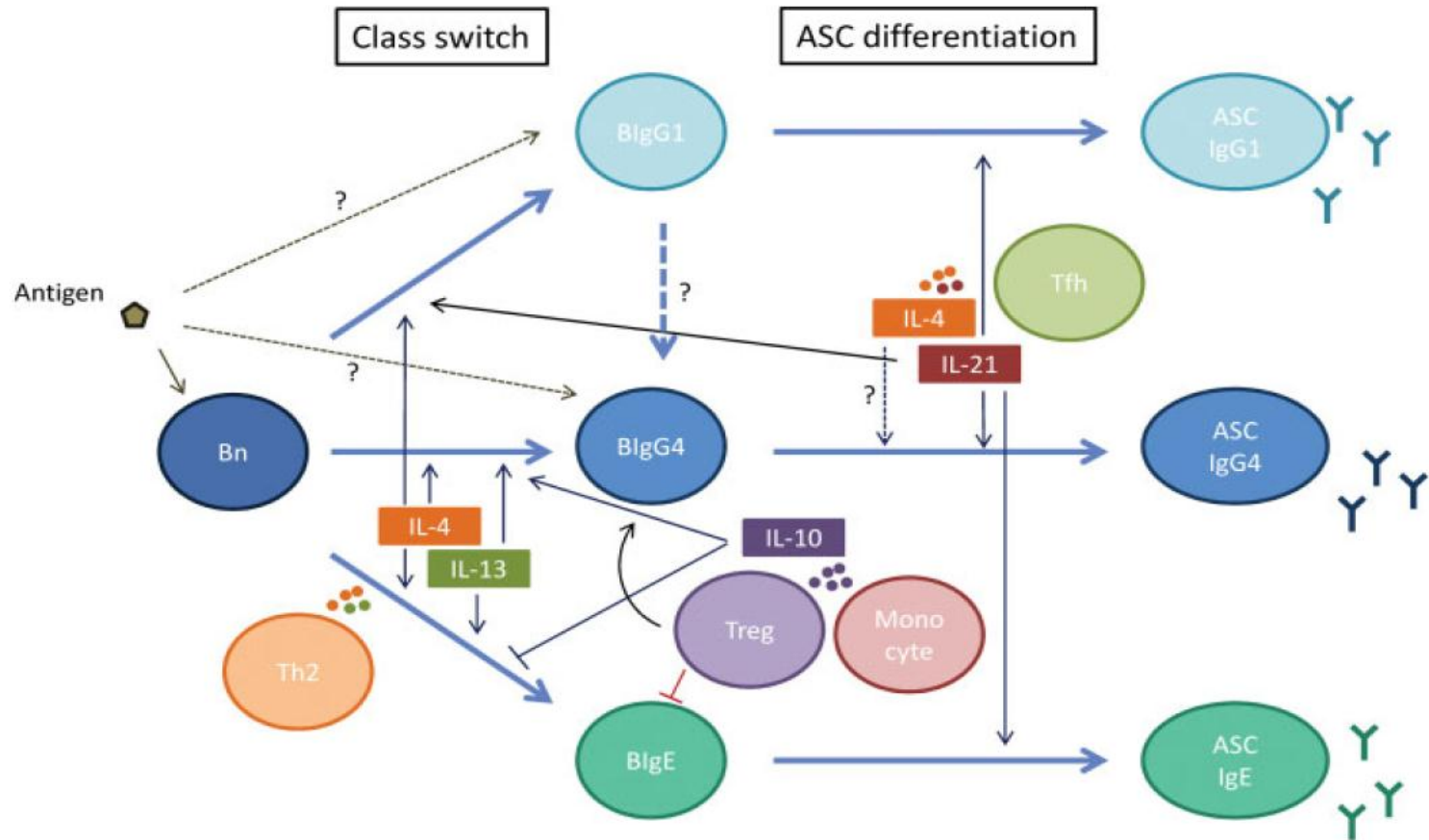


Fig. 3 Regulation of immunoglobulin G4 (IgG4) production. Naive B cells (Bn) become activated upon encounter with antigen and differentiate into antibody-secreting cells (ASC). Interleukin- (IL-) 4 and IL-13 are important switch factors for switch to IgG4, whereas IL-10 and regulatory T cells (Tregs) may promote IgG4 switch and/or proliferation of IgG4-switched B cells. Proliferation of IgG4-switched B cells and differentiation into ASCs may also be enhanced by IL-21. In vivo, induction of IgG4 is associated with repeated and/or prolonged challenge with antigen. The underlying mechanisms have not yet been elucidated.

Předpoklad: IgG4 – „protizánětlivý faktor“ imunitní reakce

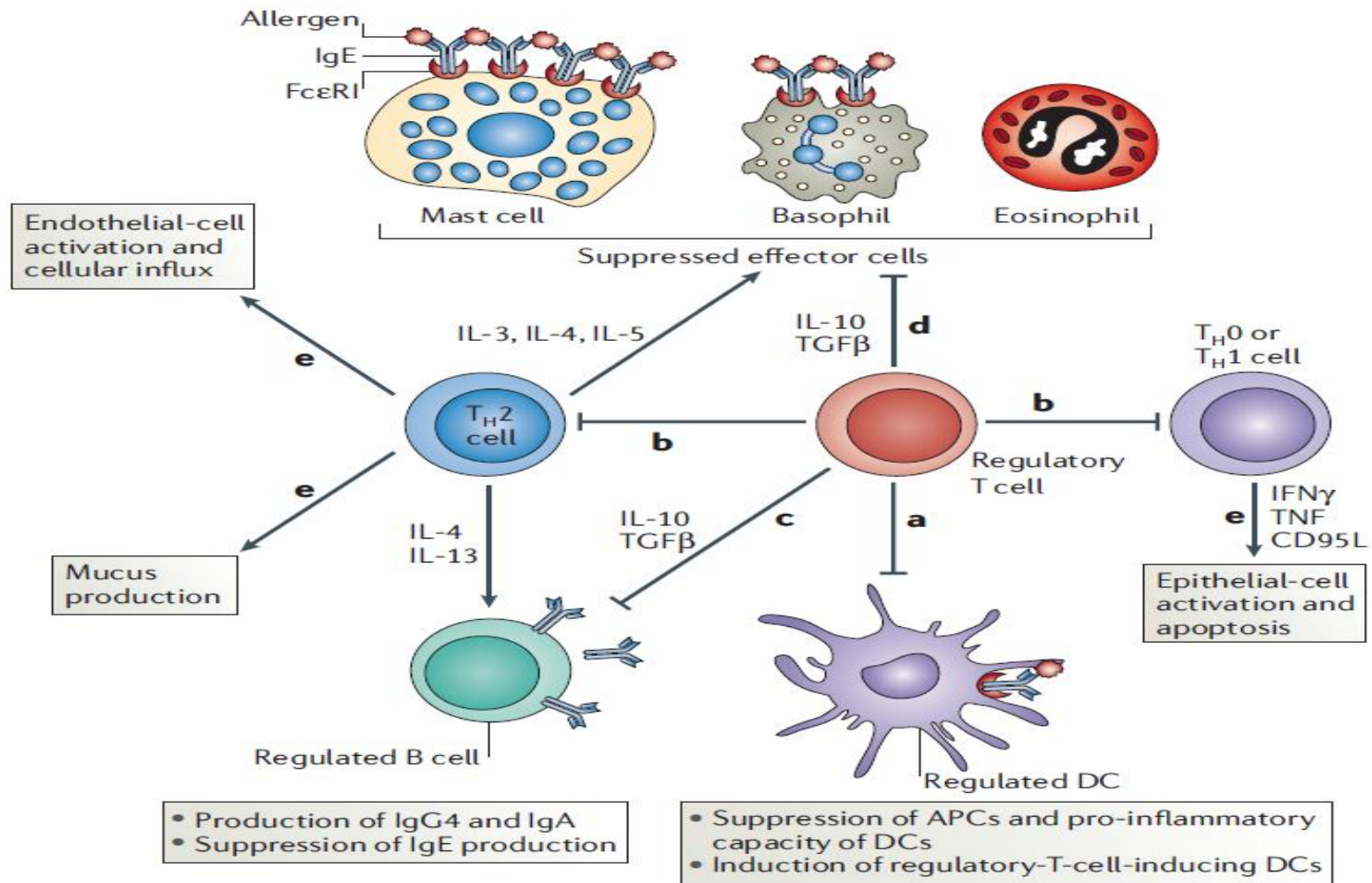
- ✓ neschopnost tvořit klasické IK s prozánětlivým potenciálem.
... lze předpokládat vyvazování antigenu z prostředí imunitní odpovědi bez následné aktivace imunitních dějů
- ✓ neschopnost vázat komplement, nízká afinita Fc
... i přes více než 95% homologii konstantních částí těžkých řetězců IgG podtříd, existují drobné odchylky primární AK struktury, které eliminují aktivaci komplementu a vazebnou schopnost Fc části molekuly IgG4
- ✓ Fc-Fc interakce molekuly IgG4 s Fc oblastmi molekul ostatních podtříd IgG *...vzdáleně připomíná „RF aktivitu“ – bývá používáno označení „inaktivující RF“*

IgG4 a atopie

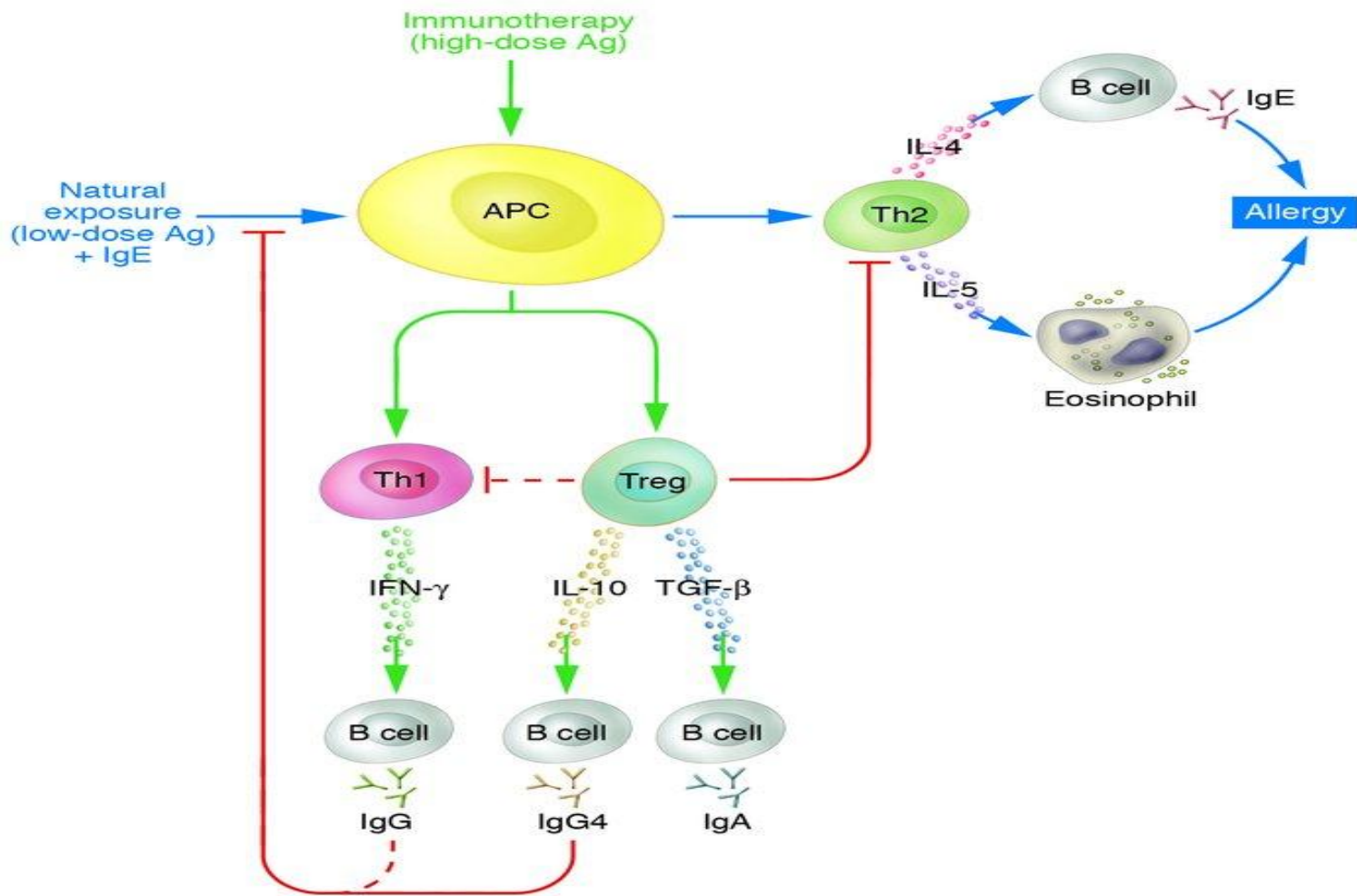
IgG4 as a blocking antibody

In 1970 Zavazal and Stajner¹ noticed that the IgG antibodies in the serum of hyposensitized patients have a relatively high electrophoretic mobility; among the human IgG subclasses, IgG₂ and IgG₄ have a relatively high electrophoretic mobility. Subsequent investigations by Devey, Wilson, and Wheeler² and Van der Giessen et al.³ showed that IgG₄ was the major antibody in these patients. This finding suggested that IgG₄ antibodies might be the main allergen-blocking antibody. This suggestion was strengthened by the finding that the IgG antibodies in asymptomatic beekeepers, who have no allergic reactions upon bee stings despite often considerable IgE antibody titers to honeybee venom, similarly are predominantly of the IgG₄ subclass.⁴

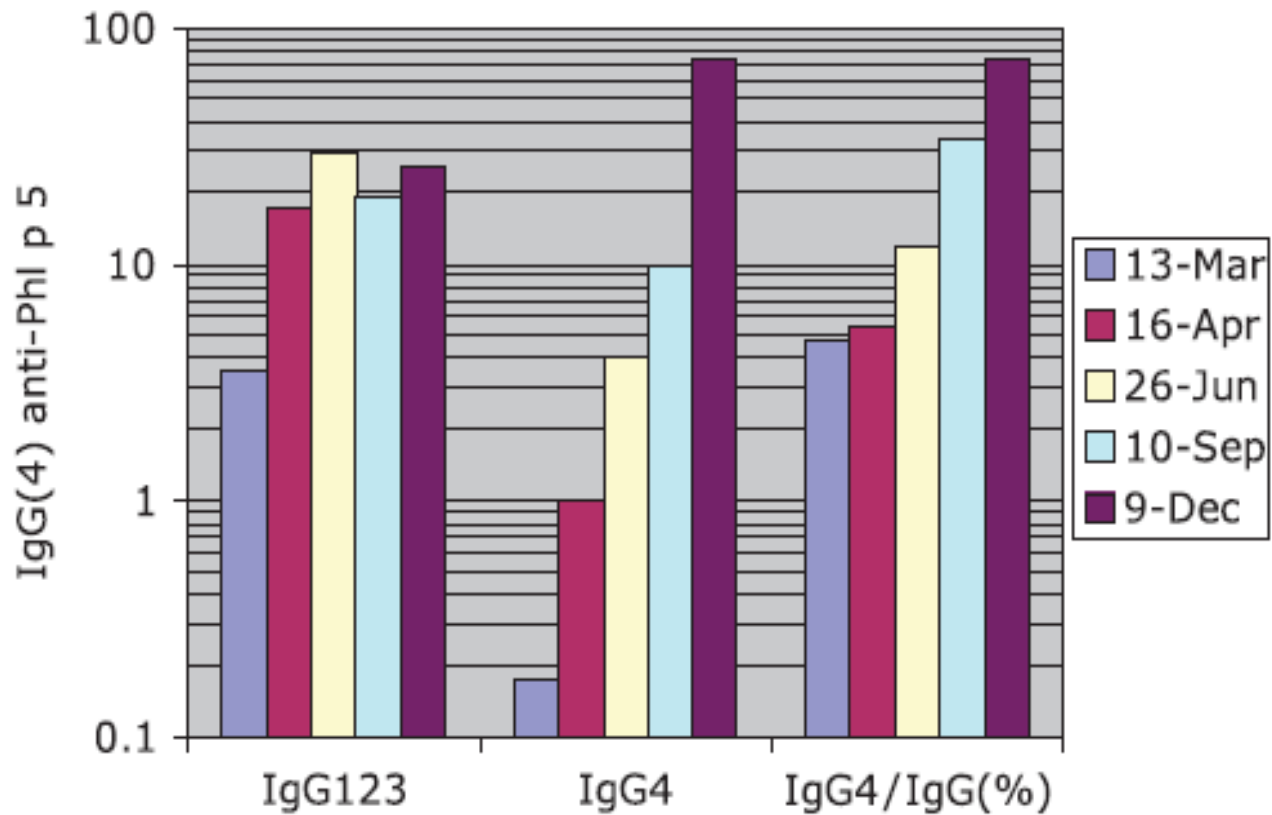
Pravděpodobná úloha regulačních T lymfocytů a cytokinů v alergen-specifické imunoterapii



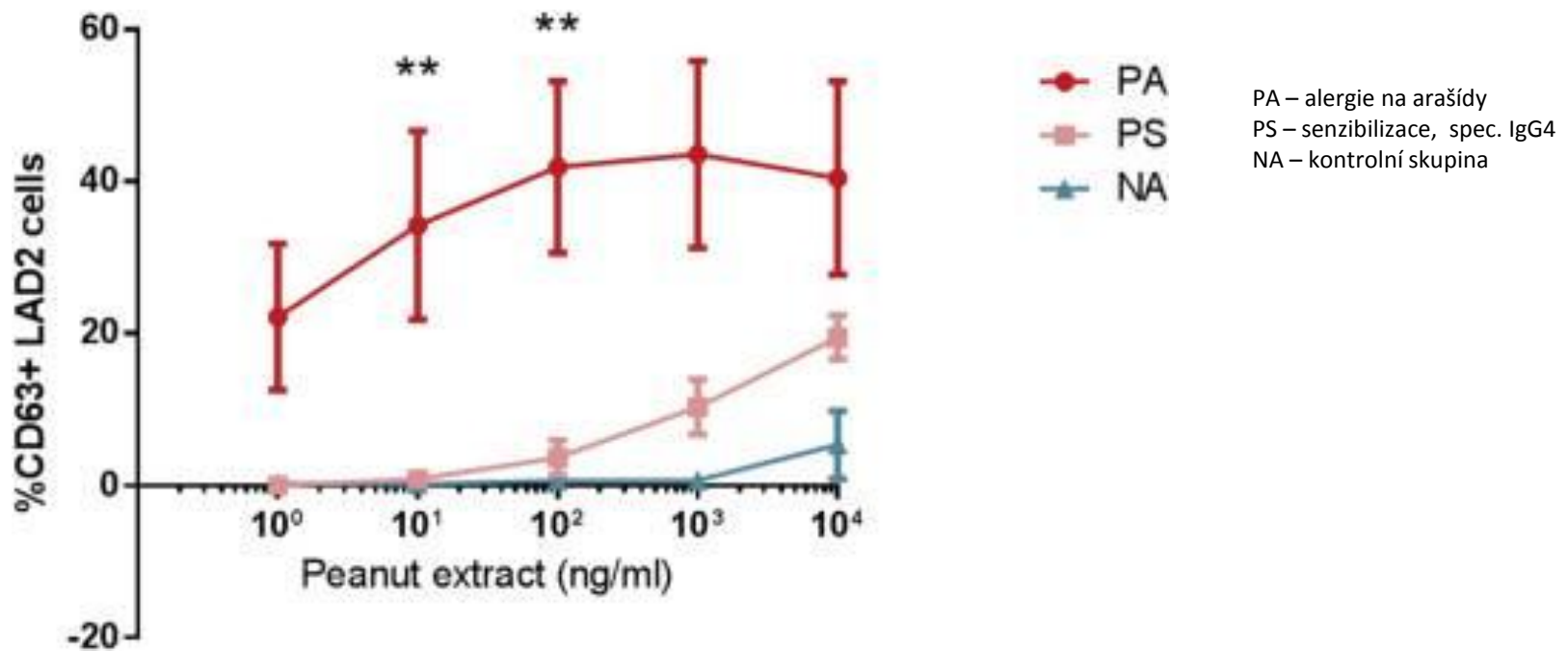
Jeden z modelů indukce tvorby IgG1, IgG4 a IgA



Analýza IgG protilátek proti Phl p5 v průběhu AIT



Inhibiční působení IgG4 na aktivaci bazofilů/mastocytů u dětí senzibilizovaných arašídý



IgG4-RD

(Hyper IgG4 syndrom)

IgG4 – RD (IgG4 related disease)

Onemocnění související se zvýšením IgG4 je novou klinickou jednotkou charakterizovanou multiorgánovým postižením neznámého původu spojeným s masivní infiltrací IgG4 pozitivních buněk a fibrotickými změnami postižených orgánů.

Okazaki, K., Uchida, K., et al.: Current concept and diagnosis of IgG4-related disease in the hepato-bilio-pancreatic system. [Journal of Gastroenterology](#) March 2013, Volume 48, [Issue 3](#), pp 303–314

Onemocnění asociované s IgG4 (IgG4-RD)

- ✓ systémové fibroinflatorní onemocnění s dosud nerozpoznanou příčinou
- ✓ první popisy chorob s postižením konkrétního orgánu (slinné žlázy, štítná žláza, atd.) **více než 100 let staré**
- ✓ přesný popis choroby a její nomenklatura záležitostí posledních dvou desetiletí
- ✓ může pravděpodobně postihnout kterýkoliv orgán
- ✓ onemocnění je tedy kromě **vnitřního lékařství** předmětem zájmu řady dalších oborů, např. **ORL, dermatologie, neurologie, urologie či oční lékařství**;

Historie IgG4-RD

1892	Mikulicz, J., et al	Mikuliczova choroba
2001	Hamano, H., et al	IgG4+ u sklerotizující pankreatitidy
2006	Kamisawa, T., et al	IgG4 – sklerotizující choroba
2006	Yamamoto, M., et al	IgG4 – plazmacytární choroba
2008	Masaki, Y., et al	IgG4 MOLPS
2011	Smimosegawa, T., et al	Mezinárodní dg kritéria pro AIP
2012	Umemara, H., et al	Koncept – komplexní kritéria pro IgG4 - RD
2012	Desmpande, V., et al	Patologická kritéria pro IgG4 – RD
2012	Stone, J. H., et al	Nomenklatura orgánových manifestací IgG4 - RD



J. Mikulicz



H. Hamano

Orgánové postižení u IgG4 RD

(upraveno dle Della-Torkee et al, 2015. doi: 10.1111/cei.12641)

✓ Hlava-krk

- očníce, slinné a slzné žlázy, štítná žláza, krk, nos, hrdlo

✓ Hrudník

- plíce, pleura, mediastinum, prsa

✓ Břicho a pánev

- retroperitoneum, pankreas, žlučové cesty, játra, ledviny, GIT, prostata, varle

✓ Nervový systém

- CNS, hypofýza, periferní nervy, meningy

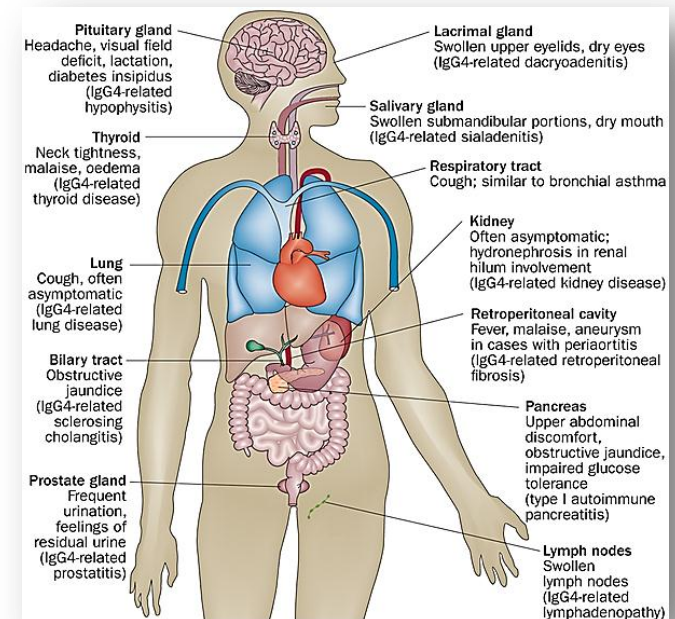
✓ Kardiovaskulární systém

- srdce a perikard, aorta

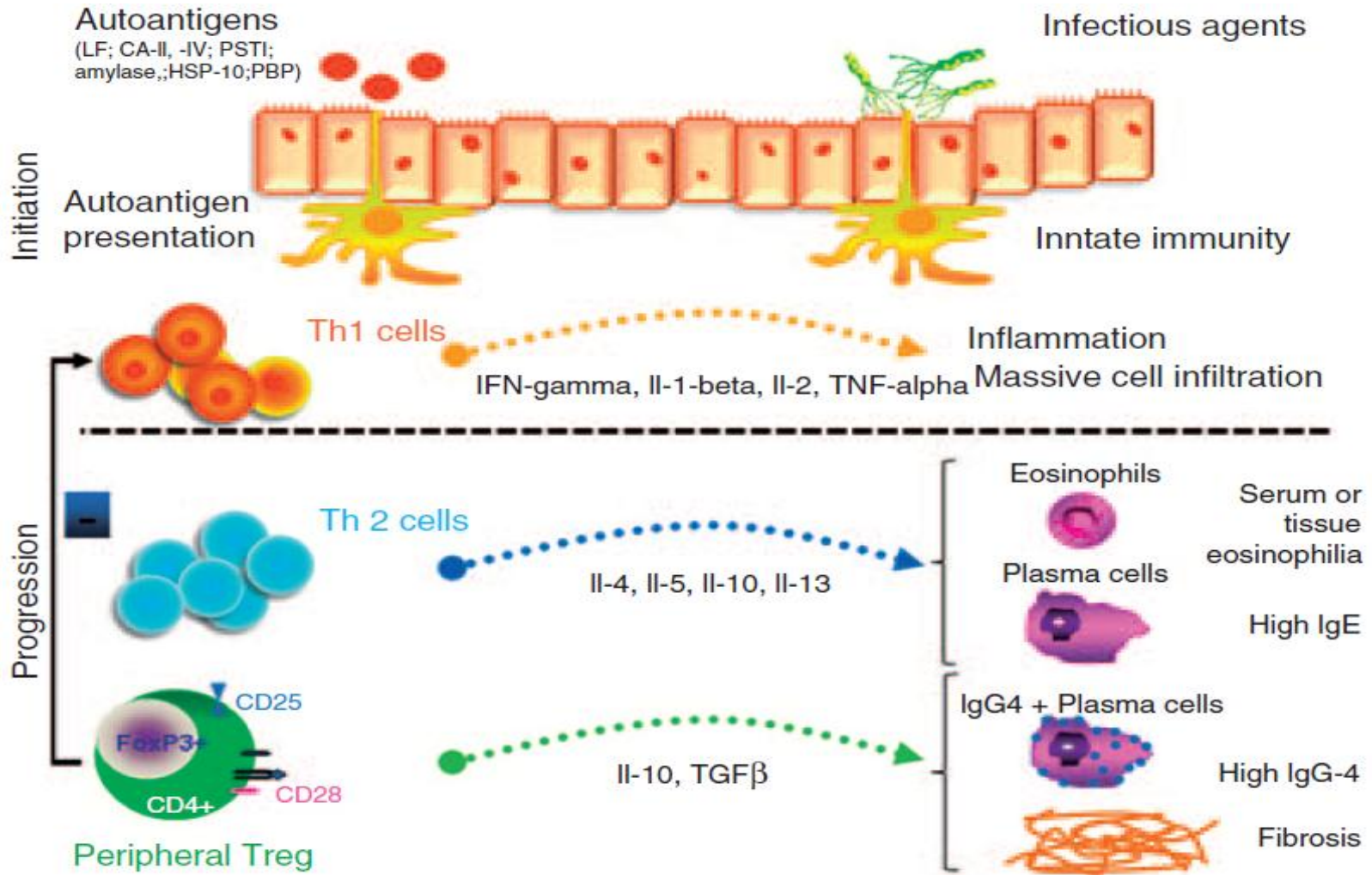
✓ Lymfatické cesty

✓ Kůže

✓ Kosterní systém



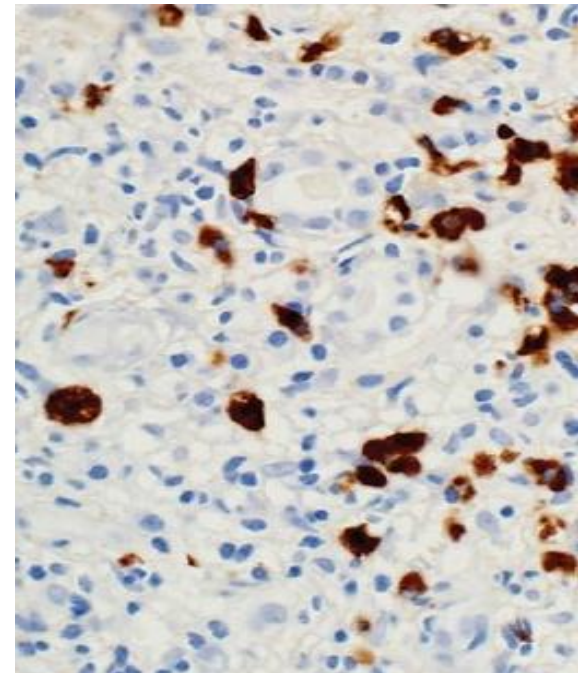
Patogeneze IgG4-RD



6 základních charakteristik IgG4-RD

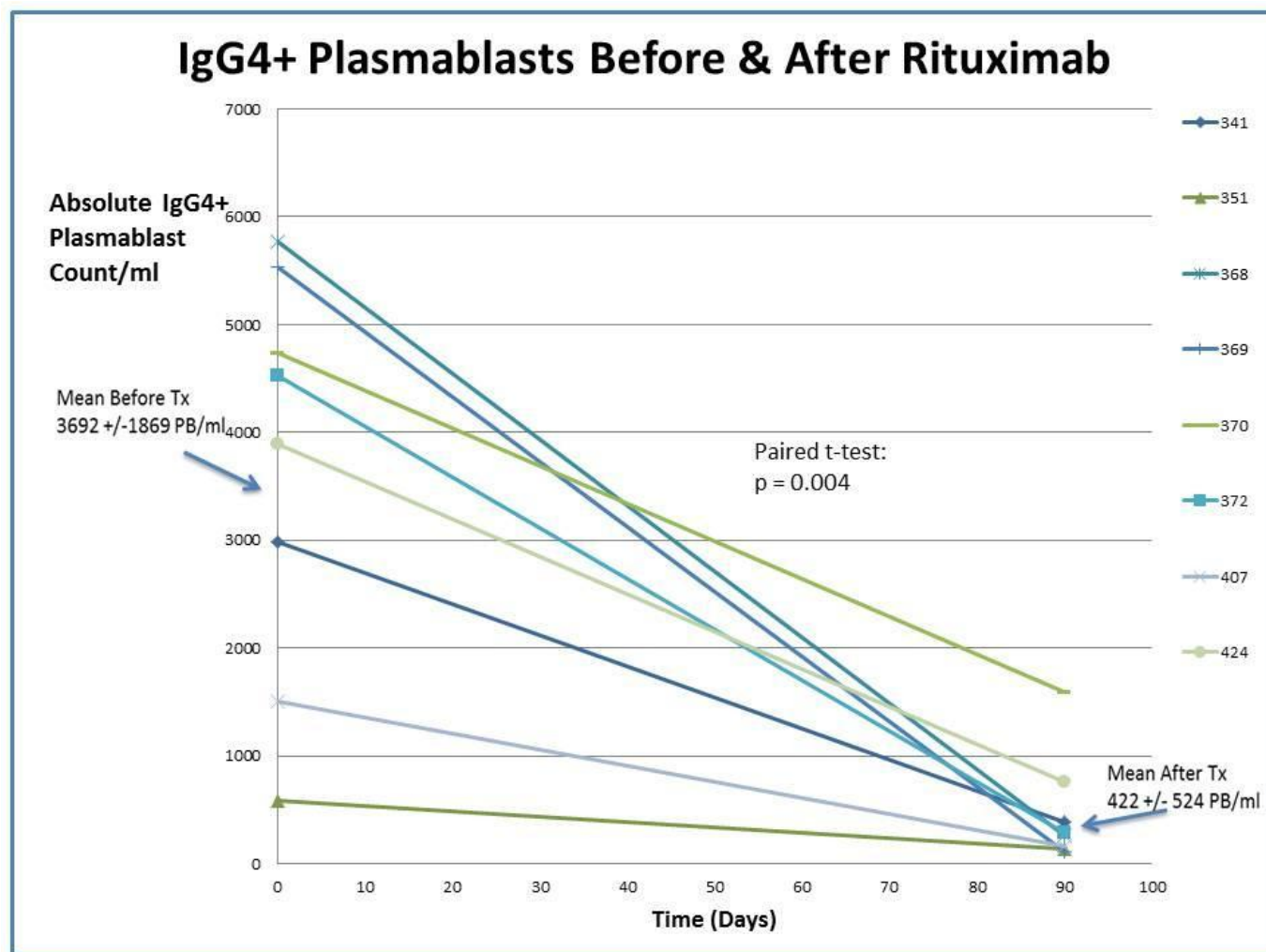
(Kawa, et al.2012)

1. Systémové postižení
2. Solitární i mnohočetné léze s difúzními klinickými projevy
3. Hodnoty IgG4 > 1,35mg/ml
4. Rozsáhlé infiltráty s lymfoplazmocyty a IgG4+ plazmatickými buňkami
5. Odpovídavost na léčbu kortikosteroidy (a *Rituximabem*)
6. Nástavba dalších klinických projevů



Cirkulující plasmablasty jsou zvýšeny u IgG4 RD a to i u jedinců s normální koncentrací IgG4.

(..jsou významným biomarkerem pro diagnostiku onemocnění a jeho léčbu ??)



Wallace Z. S. et al, 2014

Fyziologie a patofyziologie syntézy IgG4...

- ✓ Při dlouhodobé Ag prezentaci převažuje Th2 protilátková odpověď (IL-4, IL-10, IL-13) a dochází k syntéze IgE a IgG4.
- ✓ Důležitým aspektem **zvýšené syntézy IgG4** je **diferenciace Treg a produkce IL-10** (útlum imunitní reakce, produkce pro indukci Treg důležitého cytokinu TGF β).
- ✓ **TGF β** indukuje aktivaci a **diferenciaci fibrocytů**, produkci kolagenu a jeho ukládání ve tkáních (**fibrotizace**).
- ✓ ...ačkoliv se předpokládá, že pro rozvoj **IgG4-RD** je důležitá reaktivita proti dosud ne zcela charakterizovaným autoantigenům, jsou k dispozici data, která na úrovni **cytokinové exprese zřetelně odlišují klasické autoimunitní choroby** (např. pSjS) a IgG4-RD.

IgG4-RD x AID

Mikuliczova choroba (MD) x primární Sjögrenův sy (pSjS)

- ✓ Byly porovnávány **hladiny** cytokinů **IL-4, 10, 13** a **TGFβ** a **exprese** příslušných genů na úrovni **mRNA** ve vzorcích ze slinných žláz pacientů s **MD** a **pSjS**.
- ✓ Zvýšené hladiny **Th2** cytokinů jsou charakteristické pro obě onemocnění (tj. doklad o aktivaci kompartmentu B buněk), zatímco **IL-10** a **TGFβ** byly významně exprimovány pouze u **MD**.
- ✓ Předpokládá se, že **synergický efekt Th2 polarizace a indukce Treg** jsou příčinou indukce zvýšené syntézy IgG4.
- ✓ Nicméně, **příčinu IgG4-RD** toto zjištění **neřeší**, neboť ani samotná **hladina IgG4** ani zvýšené **zastoupení IgG4 plasmablastů** v postižené tkáni **není diagnostický argument „sám o sobě“**.

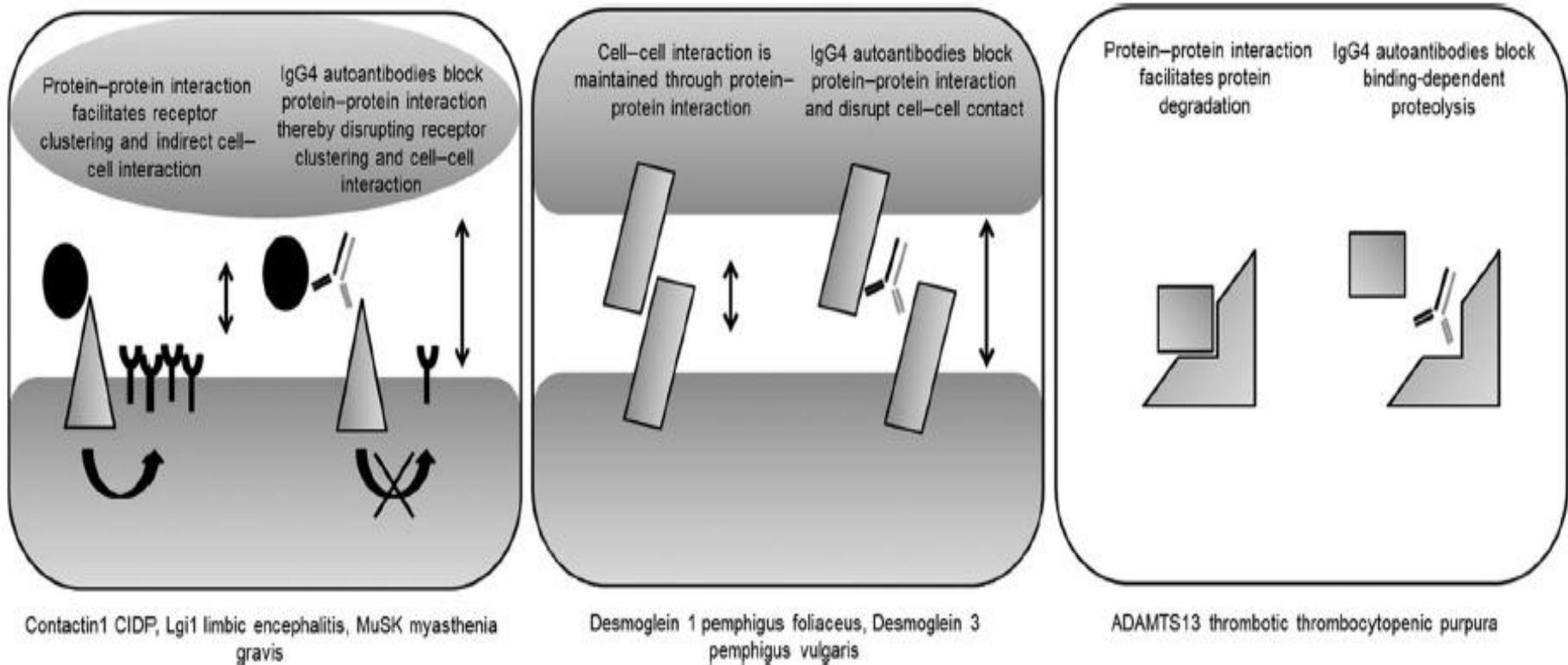
...a další otazníky (?)

- „modifikovaná Th2 odpověď“ - produkce pouze IgG4 bez IgE po aktivaci antigeny proteinové povahy (některé alergeny, zvířecí proteiny)
- Více než 40% pacientů s IgG4-RD má atopické projevy a eozinofilii
- údaje o IL-21 (pleiotropní cytokin produkovaný aktivovanými T lymfocyty) s přímým vlivem na proliferaci IgG4 specifických B lymfocytů.

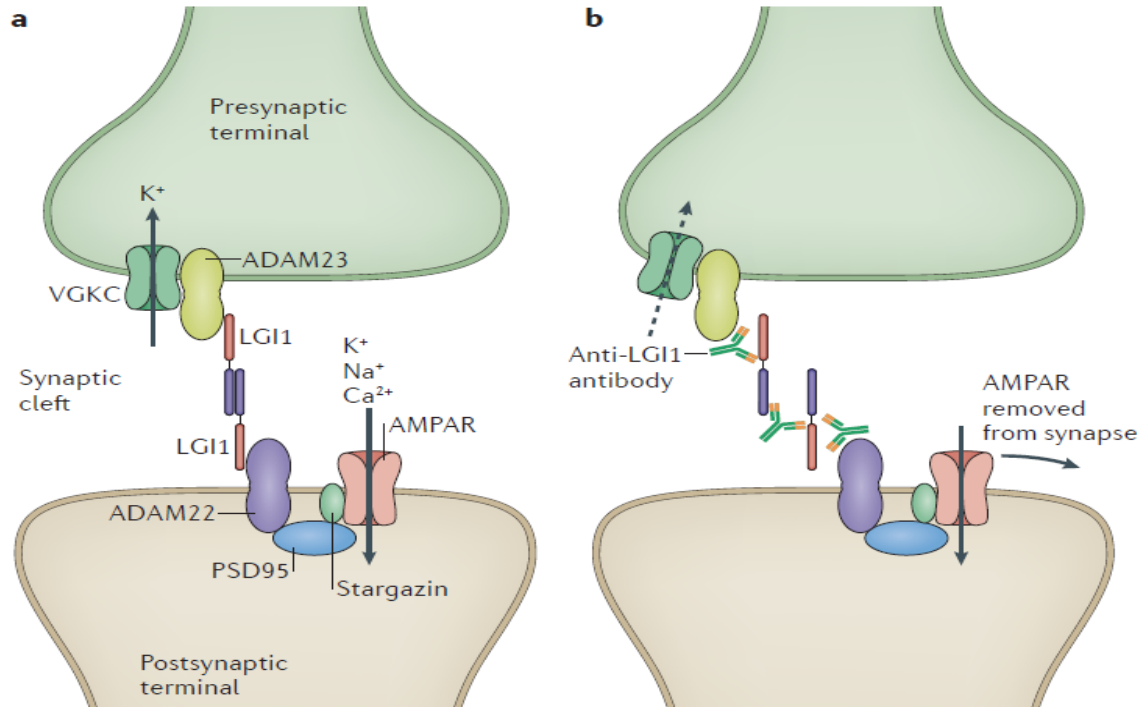
Nová skupina autoimunitních
onemocnění, kde IgG4 má úlohu v
patogenezi

Model patologického působení IgG4 (blokáda interakce „protein – protein“)

*Autoimunitní onemocnění (limbické encefalitidy, puchýřnatá onemocnění kůže, TTP)
s úlohou IgG4 v patogenezi*



Úloha IgG4 v patogeneze autoimunitní encefalitidy



Autoimunitní encefalitidy způsobené protilátkami proti LGI1 a AMPAR jsou odlišné klinické jednotky. Dále nepoužívat termín „protilátky proti VGKC“.

Rozdíly v uplatnění IgG1-3 a IgG4 v patogeneze autoimunitních chorob

IgG1 and IgG3	IgG4
Antigens are receptors, ion channels, or multisubunit proteins	Antigens are typically not receptors, ion channels, or multisubunit proteins
Pathomechanism requires complement and immune cell-mediated cytotoxicity and inflammation	Pathomechanism is blocking of essential protein-protein interactions
Structural damage to target tissue	No structural damage to target tissue
Crosslinking and internalization of the antigen	Monovalent antigen binding; no crosslinking
Sometimes associated with paraneoplastic events	No clear tumor association
Result from T _H 1-related cytokine expression	Result from T _H 2-related cytokine expression

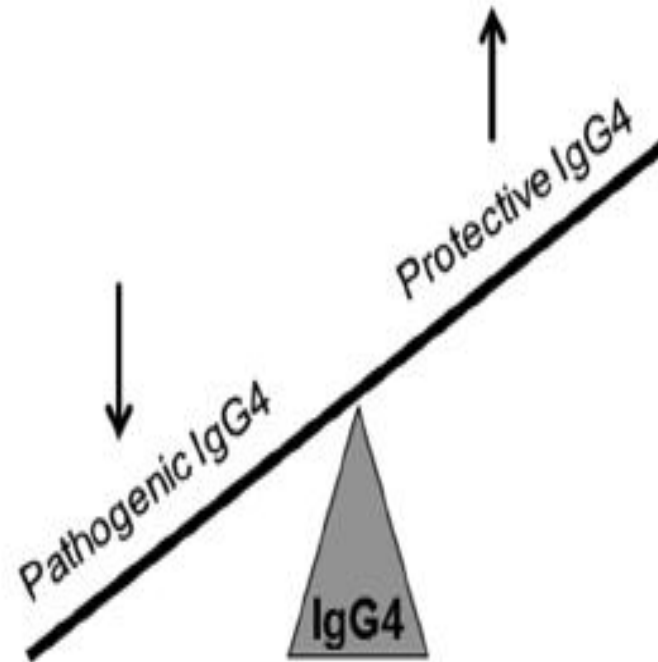
Poškozující a ochranné působení IgG4

IgG4-associated diseases with a pathogenic role for IgG4

IgG4-mediated autoimmunity
Melanoma
Antibiologics
IgG4-related diseases

IgG4-associated diseases with a protective role for IgG4

Allergy
Parasite infections



Vybrané terapeutické IgG4 protilátky v klinické praxi nebo ve vývoji

Table 2 Selected IgG4 therapeutic antibodies in clinical use and/or development

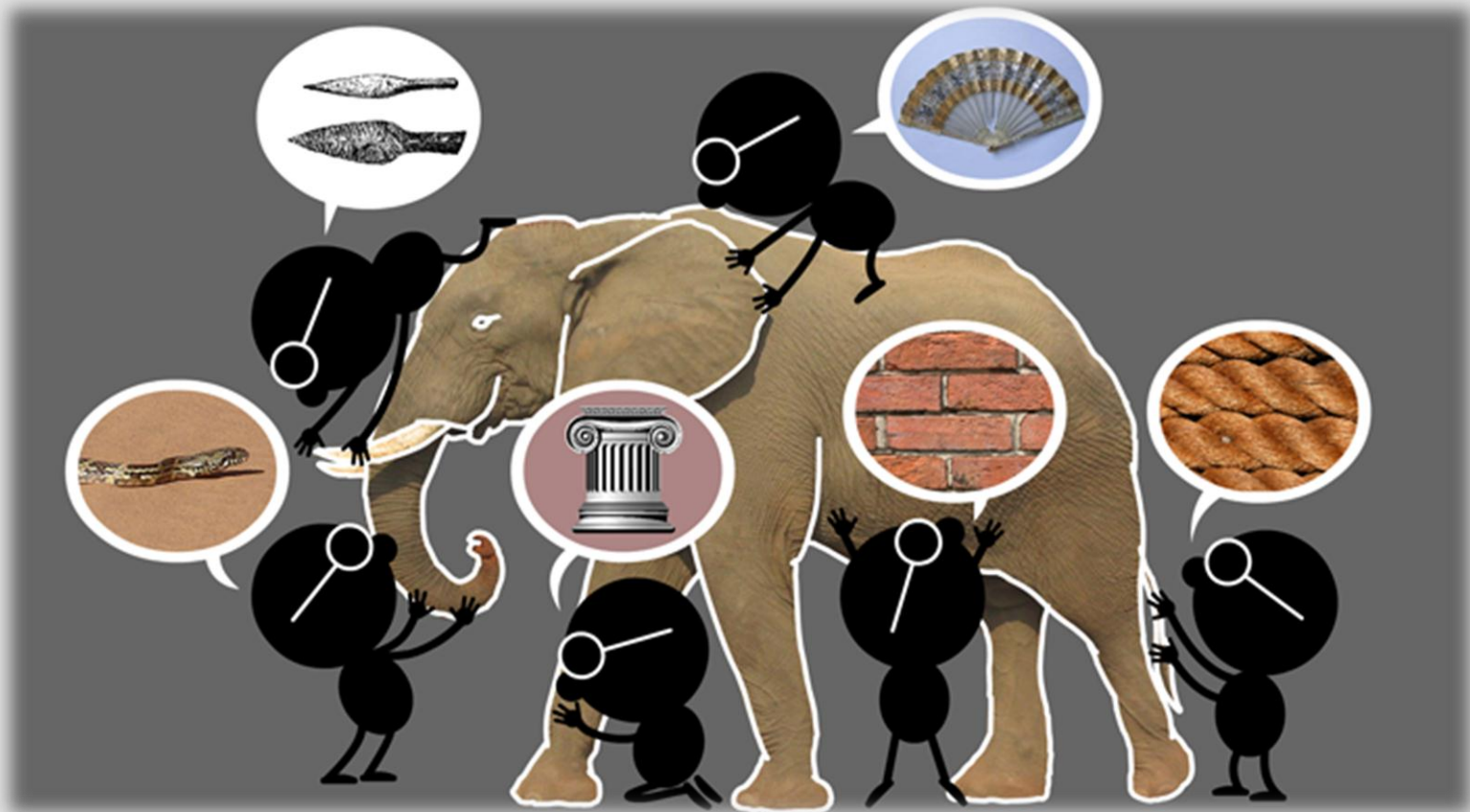
Therapeutic molecule	Subtype	Target	Clinical indication(s) and stage
Natalizumab (Biogen Idec, Weston, Massachusetts, USA)	IgG4 (humanized)	Anti- α 4 integrin	Approved for multiple sclerosis and Crohn's disease
CDP-571 (Celltech/UCB, Brussels, Belgium)	IgG4 (humanized)	TNF- α	Phase 2 for rheumatoid arthritis, Crohn's disease
Eculizumab (Alexion, Cheshire, Connecticut, USA)	IgG2/IgG4 (humanized)	C5 complement	Approved for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria
BIB022 (Biogen Idec, Weston, Massachusetts, USA)	IgG4 (aglycosylated human hinge-engineered)	IGF-1R	Phase 1, nonsmall cell lung cancer
Clenoliximab (Glaxo Smith Kline, King of Prussia, Pennsylvania, USA)	IgG4 (Primatized hinge-engineered)	CD4	Phase 2, rheumatoid arthritis
Lebrikizumab (Genentech, South San Francisco, California, USA)	IgG4 (humanized hinge-engineered)	IL-13	Phase 2, asthma
Ibalizumab (Taimed Biologics, Irvine, California, USA)	IgG4 (humanized)	CD4	Phase 2, HIV-1 infection
Gemtuzumab ozogamicin (Pfizer, New York, New York, USA)	IgG4 (humanized hinge-engineered conjugated with calicheamicin)	CD33	Previously marketed for AML (withdrawn)

AML, acute myeloid leukemia; Ig, immunoglobulin; IGF1-R, Insulin-like growth factor-1 receptor; IL, interleukin; TNF- α , tumor necrosis factor-alpha; UCB, union chimique belge.

Závěrem...



Poděkování vám i spoluautorům...



Ascomed, Sychrov, 26.-27.4. 2018