

Expressie en functie van Fc-gammareceptoren: binding van immuunglobuline G en IgG-glycovarianten

Expression and function of Fc-gamma receptors: binding of immunoglobulin G and its glycoform

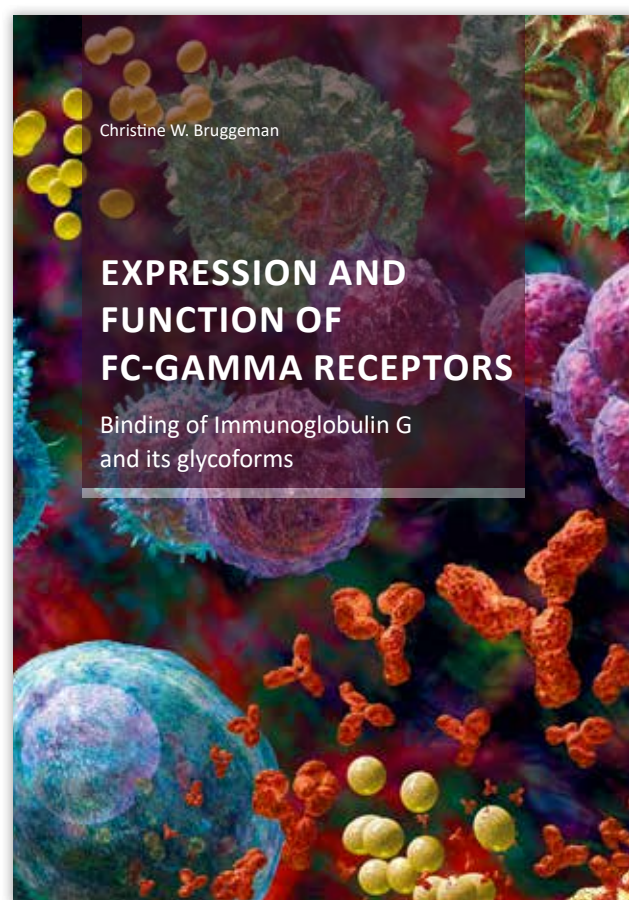
dr. ir. C.W. Bruggeman

SAMENVATTING

Op 22 maart 2019 promoveerde dr. ir. Christine W. Bruggeman aan de Universiteit van Amsterdam op haar proefschrift 'Expression and function of Fc-gamma receptors; binding of immunoglobulin G and its glycoforms', onder begeleiding van promotor prof. dr. T.W. Kuijpers en copromotor prof. dr. T.K. van den Berg. De belangrijkste bevindingen van het onderzoek worden hieronder weergegeven. (NED TIJDSCHR HEMATOL 2019;16:313-5)

SUMMARY

March 22nd, 2019, Christine W. Bruggeman, PhD, defended her thesis 'Expression and function of Fc-gamma receptors: binding of immunoglobulin G and its glycoforms', under supervision of promotor prof. T.W. Kuijpers, MD, PhD, and copromotor prof. T.K. van den Berg, PhD. The most important findings of her study are summarized in this report.



Correspondentie graag richten aan mw. dr. ir. C.W. Bruggeman, Vrije Universiteit, afdeling Physics of Living Systems, De Boelelaan 1081, 1081 HV Amsterdam, tel.: 020 598 30 46, e-mailadres: c.bruggeman@sanquin.nl. De auteur heeft haar PhD gedaan op de afdeling Blood Cell Research van Sanquin, Amsterdam.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: beurs toegekend aan promotor Taco Kuijpers: 'Sweet IIG: a blend of different tastes' (PPOP-12-001).

Trefwoorden: auto-immuun hemolytische anemie (AIHA), Fc-gammareceptoren (FcγRs), immuunglobuline G (IgG), immuutrombocytopenie (ITP), intraveneus immuunglobuline (IIG), macrofagen

Keywords: autoimmune hemolytic anemia (AIHA), Fc-gamma receptors (FcγRs), immunoglobulin G (IgG), immune thrombocytopenia (ITP), intravenous immunoglobulin (IIG), macrophages

ONTVANGEN 1 MEI 2019, GEACCEPTEERD 20 MEI 2019.

INLEIDING

Bij patiënten met auto-immuun hemolytische anemie (AIHA) en immuuntrombocytopenie (ITP) worden autoantilichamen gevormd tegen respectievelijk de lichaamseigen erythrocyten en trombocyten. Dit leidt tot klaring van deze cellen, via IgG-gemedieerde fagocytose, door macrofagen in de milt en lever. De behandeling bestaat uit het toedienen van hoge concentraties IgG, oftewel intraveneus immuunglobuline (IVIG), meestal 2 g/kg lichaamsgewicht. Het exacte werkingsmechanisme van IVIG als immuunmodulerend middel bij AIHA en ITP is niet bekend. Voor ITP is aangetoond dat het Fc-gedeelte van IgG het werkzame bestanddeel is, aangezien ITP-patiënten die werden behandeld met Fc-fragmenten in plaats van intact IgG een even grote stijging in plaatjesaantal lieten zien.¹ De meest gangbare hypothese voor het werkingsmechanisme van IVIG bij ITP en AIHA is dat de hoge concentratie IgG leidt tot verzadiging van de IgG-receptoren (oftewel de Fc-gammareceptoren; FcγRs) op het oppervlak van de milt- en/of levermacrofagen, waardoor de autoantilichamen-geöpsoniseerde bloedcellen niet meer kunnen worden gefagocyteerd. Tijdens dit promotieonderzoek is de fagocytose van IgG-geöpsoniseerde bloedcellen en het werkingsmechanisme van IVIG onderzocht. In de eerste plaats is het FcγR-expressiepatroon van macrofagen uit verschillende weefsels, waaronder milt en lever, bestudeerd. In de tweede plaats is het onderliggende mechanisme van IVIG-gemedieerde anemie onderzocht; een ernstige bijwerking van IVIG-behandeling die in enkele specifieke gevallen voorkomt. In de laatste plaats is onderzocht of de glycosylering van IgG's de binding aan FcγR's beïnvloedt en daarmee het werkingsmechanisme van IVIG.

DE EXPRESSIE VAN Fc-GAMMARECEPTOREN DOOR WEEFSELMACROFAGEN

Tot op heden worden met name macrofagen die in vitro worden gekweekt uit bloedmonocyten gebruikt voor het bestuderen van fagocytose. Omdat de fagocytose van autoantilichamen-geöpsoniseerde bloedcellen voornamelijk plaatsvindt door macrofagen in de milt, zijn macrofagen uit humane milt geïsoleerd en is bepaald welke Fc-gammareceptoren zij tot expressie brengen. Gevonden werd dat humane miltmacrofagen een ander fenotype hebben dan gekweekte macrofagen. Miltmacrofagen brengen met name veel FcγRIIa en FcγRIIIa tot expressie, in tegenstelling tot gekweekte macrofagen die ofwel met name FcγRI en FcγRIIIa tot expressie brengen (dit zijn de 'M1' of 'GM-CSF-gekweekte' macrofagen) ofwel voornamelijk FcγRIIa (dit zijn de 'M2' of 'M-CSF-gekweekte' macrofagen). Naast het bepalen van het fenotype, zijn de miltmacrofagen ook functioneel getest.

Door IVIG toe te voegen aan de in vitro fagocytosetest werd de opname van geöpsoniseerde erythrocyten geremd. Hieruit bleek dat de fagocytose van geöpsoniseerde erythrocyten door miltmacrofagen in dezelfde mate werd geremd als die door gekweekte macrofagen. Ook al is het fenotype van de miltmacrofagen dus iets anders dan dat van gekweekte macrofagen, ze reageren hetzelfde op het toevoegen van IVIG. Gekweekte macrofagen vormen dus nog steeds een goed modelsysteem om de fagocytose van geöpsoniseerde bloedcellen en de werking van IVIG te bestuderen.

Interessant is dat macrofagen uit andere weefsels een ander FcγR-expressiepatroon lieten zien dan miltmacrofagen. Blijkbaar wordt het unieke fenotype van de macrofagen voor een deel bepaald door de weefselomgeving.

IVIG-GEMEDIEERDE ANEMIE

IVIG-gemedieerde anemie is een zeldzame, maar ernstige bijwerking van IVIG-behandeling, die alleen voorkomt bij patiënten met bloedgroep A, B of AB, niet O. Bovendien zien we deze bijwerking alleen bij patiënten met een onderliggende inflammatoire status, dus wel bij patiënten met de ziekte van Kawasaki, maar niet bij ITP-patiënten die geen tekenen van acute inflammatie hebben ten tijde van de trombopenie. Onderzocht is wat het onderliggende mechanisme van deze bijwerking is en waarom deze bij sommige IVIG-preparaten meer optreedt dan bij andere. Hieruit bleek dat anti-bloedgroep-specifieke antilichamen, aanwezig in IVIG-preparaten, leiden tot de opsonisatie van erythrocyten van bloedgroep A, B of AB. De mate van opsonisatie hangt af van de bloedgroep van de patiënt en de anti-A- en anti-B-titer in het IVIG-preparaat. Deze anti-A- en anti-B-antilichamen zijn van de IgG₂-subklasse. Normaal gesproken worden IgG₂-geöpsoniseerde deeltjes niet gefagocyteerd door macrofagen, aangezien IgG₂ niet wordt herkend door FcγRI en met zeer lage affiniteit door de andere FcγRs. Als de macrofagen echter worden gestimuleerd met LPS of TNFα, is er een toename in fagocytose, via FcγRIIa. Dit verklaart waarom IVIG-gemedieerde anemie voorkomt bij patiënten met een onderliggende inflammatoire status, dus wel bij patiënten met de acute ziekte van Kawasaki, maar niet bij ITP-patiënten.

IgG-GLYCOSYLERING

IgG bevat een zogeheten glycaan op aminozuurpositie 297 in de Fc-staart van het eiwit. Deze glycaan bestaat uit een structuur van mannose en N-acetyl-glucosamine (GlcNAc)-residuen en kan worden uitgebreid met een extra fucose, GlcNAc, galactose en sialzuurresiduen. De samenstelling van de glycaan beïnvloedt de quaternaire structuur van IgG en daarmee de binding aan FcγRs. Er zijn 20 verschillende

IgG-glycovarianten geproduceerd en getest met de in vitro fagocytosetest van geöpsoniseerde rode bloedcellen.² Het toevoegen van IgG aan de macrofagen, voor het toevoegen van de geöpsoniseerde rode cellen, leidt tot verminderde fagocytose. Bij het testen van de 20 verschillende glycovarianten zijn twee glycovarianten gevonden die de fagocytose significant beter remmen dan ongemodificeerd IgG: IgG zonder fucose en galactose (-F-G) en IgG zonder fucose en met een extra bisecting GlcNAc (-F+B). Nieuwe experimenten moeten aantonen of deze glycovarianten ook in vivo leiden tot een betere remming van fagocytose van IgG-geöpsoniseerde bloedcellen dan ongemodificeerd IgG. Bovendien moet worden onderzocht of deze glycovarianten op grote schaal kunnen worden geproduceerd en gezuiverd.

CONCLUSIE

Al decennia lang wordt IVIG gebruikt voor de behandeling

van verschillende auto-immuunziekten en inflammatoire ziekten, maar het werkingsmechanisme is nog steeds niet geheel duidelijk. Als we het werkingsmechanisme beter zouden begrijpen, zouden de therapieën mogelijk efficiënter en effectiever kunnen worden gemaakt. De onderzoeken die tijdens dit promotieonderzoek zijn gedaan, brengen ons een stapje verder in de kennis van de FcγR-expressie door weefselmacrofagen, de interactie tussen FcγR's en IgG's en hoe de glycosylering van IgG's het werkingsmechanisme van IVIG zou kunnen verbeteren.

REFERENTIES

1. Debré M, et al. Infusion of Fc gamma fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1993;342:945-9.
2. Dekkers G, et al. Decoding the human immunoglobulin G-glycan repertoire reveals a spectrum of Fc-receptor- and complement-mediated-effector activities. *Front Immunol* 2017;8:877.