

GRAŻYNA MAJKOWSKA-SKROBEK¹, ADAM JANKOWSKI²

Izolowany niedobór IgA a geneza komórek plazmatycznych wytwarzających IgA

Selective IgA Deficiency but the Genesis of IgA-secreting Plasma Cells

¹ Pracownia Immunologii, Zakład Mikrobiologii Ogólnej, Instytut Genetyki i Mikrobiologii UW we Wrocławiu

² Katedra Propedeutyki Pediatrii i Kliniki Immunologii Wieku Rozwojowego AM we Wrocławiu

Streszczenie

Izolowany niedobór immunoglobulin klasy A (IgAD) jest najczęściej rozpoznawanym pierwotnym upośledzeniem odporności humoralnej człowieka. Ze względu na częstość występowania oraz brak leczenia przyczynowego tego schorzenia wciąż trwają badania nad ustaleniem jego patogenety. Wiadomo, że istota tej dysgammaglobulinemii sprowadza się z reguły do genetycznie uwarunkowanych skłonności do nieprawidłowego różnicowania się komórek B IgM⁺ do komórek syntetyzujących i wydzielających przeciwciała klasy A, ale dokładne określenie punktu, w którym dochodzi do tego zaburzenia pozostaje tematem kontrowersyjnym. Wyniki badań wykluczają jednoczesną delecję Cα1 i Cα2 jako przyczynę IgAD. Usunięcie obu genów wskazywałoby jednoznacznie na recesywny sposób dziedziczenia, wiążący się z upośledzeniem syntezy nie tylko obu podklas IgA, ale również IgG₂, IgG₄ i IgE. Wzór fenotypowy chorych (prawidłowa liczba komórek B IgM⁺IgD⁺ i w większości przypadków prawidłowe surowicze stężenie pozostałych klas immunoglobulin) wyklucza zawężanie przyczyny tego zaburzenia wyłącznie do procesów przełączania izotypów i/lub końcowego różnicowania komórek B do komórek syntetyzujących i wydzielających IgA. Skłania to do poszukiwań potencjalnych czynników patogenetycznych IgAD w obrębie cytokin, zwłaszcza szlaku Th2 oraz ich receptorów uczestniczących w immunoregulacji tych procesów. W niniejszej pracy przedstawiono aktualną wiedzę dotyczącą patogenety IgAD w kontekście prawidłowej syntezy tego izotypu (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 637–644).

Słowa kluczowe: niedobór IgA, limfocyty B, przełączanie izotypów, regulacja, różnicowanie, genetyka.

Abstract

Selective immunoglobulin A deficiency (IgAD) is the most common primary immunodeficiency in humans. The frequent occurrence and lack of the causal treatment for IgAD become the reason of the continuous widening of the research on the establishing of the pathogenesis disorder. It is known that IgAD is an arrest in normal differentiation of IgM⁺ B cells into IgA-secreting plasma cells, but the point at which the differentiation arrest occurs is a matter of controversy. The results of studies excluded the simultaneous Cα gene deletions as the cause of IgAD. A simple deletion to remove both Cα1 and Cα2 would point on an unambiguous recessive mode of inheritance, associated with deficiencies not only IgA₁ and IgA₂ but also IgG₂, IgG₄ and IgE as well. Moreover, the phenotypic pattern of IgAD individuals (normal numbers of IgM⁺IgD⁺ B cells and normal serum levels of the other immunoglobulin isotypes in the most cases) precludes generalized defect in isotype switching or in terminal plasma cells differentiation as the cause of IgAD. Deficiency of cytokines, particularly cytokines of Th2-type or their receptors that favor IgA switching and terminal differentiation would remain potential pathogenesis factors for IgAD. In this review authors report current knowledge concerning the pathogenesis of IgAD in relation to the normal production of IgA (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 637–644).

Key words: IgA deficiency, B lymphocytes, isotype switching, regulation, differentiation, genetics.

Izolowany niedobór immunoglobulin klasy A (IgAD – selective IgA deficiency) jest najczęściej rozpoznawanym pierwotnym upośledzeniem odporności humoralnej człowieka o różnej często-

ści występowania na świecie [1]. W najbardziej uprzemysłowionych krajach Europy i Ameryki defekt ten pojawia się u jednej osoby na 163–700 mieszkańców. W Chinach i Japonii stwierdza się

go odpowiednio 7 i 30 razy rzadziej, jeszcze rzadziej lub wcale nie występuje w innych grupach etnicznych [2]. Z zakrojonych na szeroką skalę badań epidemiologicznych, dotyczących częstości występowania pierwotnych niedoborów odporności w Polsce, Bernatowska et al. [3] oszacowali, że niedobór IgA, stanowiąc 12% wrodzonych niedoborów przeciwciał, klasyfikuje się na drugiej pozycji, tuż za selektywnym niedoborem podklas IgG (12,9%). Dokładna liczba przypadków tej dysgammaglobulinemii nie jest jednak znana, gdyż u ponad 50% osób z niedoborem IgA nie wykrywa się zwiększonej podatności na zakażenia. Wydaje się, iż u tych osób funkcję immunoglobulin śluzowo-surowiczych klasy A przejmują przeciwciała klasy M, choć istnieją również doniesienia o kompensacyjnej roli surowiczych IgG.

Dominującymi objawami klinicznymi wśród pacjentów z deficytem IgA są nawracające bakteryjne i wirusowe zakażenia układu oddechowego (43%) oraz alergie, zwłaszcza o charakterze nadwrażliwości na antygeny pokarmowe (20%). Częściej stwierdza się choroby autoimmunizacyjne (głównie toczeń układowy rumieniowaty i reumatoidalne zapalenie stawów), schorzenia przewodu pokarmowego (12%) oraz nowotwory (1%) [2, 4].

Zgodnie z kryteriami zawartymi w raporcie WHO z 1997 r. [1] rozpoznanie izolowanego niedoboru IgA wymaga stwierdzenia stężenia IgA w surowicy $< 0,05$ g/l, przy prawidłowym stężeniu IgG i IgM. Niedobór może dotyczyć obu podklas IgA zarówno w surowicy, jak i w wydzielinach śluzowo-surowiczych. Rozważając definicję tej dysgammaglobulinemii Hammarström et al. [5] sugerują ponadto, aby określenie „izolowany niedobór IgA” zarezerwować wyłącznie dla tych zaburzeń odporności, w których upośledzonej syntezie przeciwciał tej klasy nie towarzyszą inne defekty immunologiczne.

Obecność przeciwciał klasy A we krwi obwodowej i w płynach śluzowo-surowiczych jest wynikiem przekształcenia pluripotencjalnej hematopoetycznej komórki pnia w syntetyzujące i wydzielające przeciwciała komórki plazmatyczne. Spośród komórek powstających *de novo*, jedynie niewielki procent różnicuje się do dojrzałych limfocytów B (IgM⁺IgD⁺). Komórki te po opuszczeniu szpiku kostnego migrują do wtórnych narządów obwodowych – śledziony, węzłów chłonnych oraz tkanki limfatycznej związanej z błonami śluzowymi (MALT – mucosa-associated lymphoid tissue), tworząc względnie stałą pulę obwodowych komórek B, z których tylko część jest obecna w krążeniu. W następstwie antygenowo-swoistej bądź poliklonalnej stymulacji w większości przypadków przy współudziale limfocytów T oraz innych komórek, limfocyty B ulegają proliferacji,

podczas której może nastąpić zmiana klas syntetyzowanych przeciwciał, a następnie różnicowaniu do komórek plazmatycznych lub krążących komórek pamięci, zdolnych do szybkiej odpowiedzi na ten sam antygen przy kolejnym kontakcie [6].

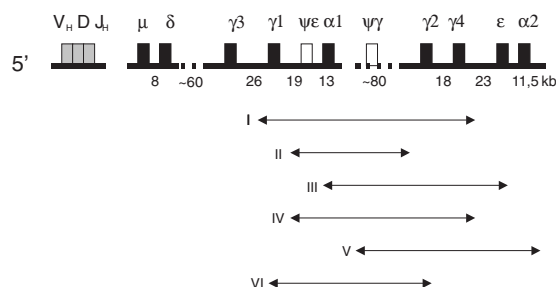
Droga wprowadzenia antygeny oraz jego właściwości determinują lokalizację syntezy przeciwciał. Obecne w krążeniu immunoglobuliny klasy A powstają w odpowiedzi na antygeny (głównie polisacharydowe), docierające z krwią do śledziony oraz układem naczyń limfatycznych do węzłów chłonnych. System limfoidalny błon śluzowych natomiast, gdzie głównym mechanizmem efektorowym są sekrecyjne IgA, chroni organizm przed antygenami wnikałymi bezpośrednio przez nabłonek pokrywający śluzówkę.

To, że izolowany niedobór IgA może wystąpić u biorcy szpiku kostnego, pochodzącego od zgodnego tkankowo dawcy z zaburzoną syntezą IgA, a wadliwe komórki szpiku można zastąpić komórkami macierzystymi osoby zdrowej, wskazuje na udział komórek pochodzenia hematopoetycznego w patogenezie tego schorzenia, choć nie definiuje ich typu [5]. Zatem defekt ten może dotyczyć: genów kodujących części stałe łańcuchów $\alpha 1$ i $\alpha 2$, procesu przełączania izotypów, końcowego różnicowania komórek B IgA₁⁺ i B IgA₂⁺.

Geny dla immunoglobulin

Locus łańcuchów ciężkich immunoglobulin o długości 1250 kpz jest zlokalizowany w chromosomie 14 (14q32.33) (ryc.1). Część zmienną tych łańcuchów kodują: segment V_H, w którym w zależności od haplotypu jest obecnych 123–127 genów, składający się z 27 genów segment D i 9 genów segmentu J_H. Spośród tych genów tylko 39–46 genów należących do segmentu V_H, 23 geny segmentu D i 6 genów segmentu J_H ma otwartą ramkę odczytu i uznawane są za funkcjonalne [7]. W kierunku 3' od skupiska genów segmentu V_H, a następnie D i J_H, na odcinku ponad 250 kpz, rozciąga się *locus* regionu stałego immunoglobulin (C_H), w którym geny są ułożone w porządku określającym kolejność ich transkrypcji i wytwarzania przeciwciał odpowiedniej klasy: μ , δ , [$\gamma 3$, $\gamma 1$, $\psi \epsilon$, $\alpha 1$], $\psi \gamma$, [$\gamma 2$, $\gamma 4$, ϵ , $\alpha 2$]. Geny $\psi \epsilon$ i $\psi \gamma$ są pseudogenami i nie ulegają ekspresji. Dwa zestawy genów w nawiasach kwadratowych wskazują na miejsce prawdopodobnej reduplikacji i zróżnicowania sekcji pierwotnej γ - γ - ϵ - α .

Wydaje się nieprawdopodobne, aby niedobór IgA₁ i IgA₂ był spowodowany delecją genów dla łańcuchów ciężkich tych immunoglobulin. Usunięcie obu genów wskazywałoby jednoznacznie na recesywny sposób dziedziczenia, wiążący się z upo-



Ryc. 1. Geny dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin. Cyframi I–VI oznaczono miejsca delekcji genów C_H

Fig 1. Organization of the human immunoglobulin heavy chain constant region locus. Types of Ig C_H multigene deletions are designated I to VI

śledzeniem syntezy nie tylko obu podklas IgA, ale również IgG₂, IgG₄ i IgE. Brak homozygotycznej delekcji genów C_H potwierdzają wyniki badań przeprowadzonych w populacji szwedzkiej, w liczącej ponad 100 osób grupie z pierwotnie zaburzoną syntezą różnych klas i podklas immunoglobulin, w tym przeciwciał klasy A [4]. Odosobnione przypadki niedoboru IgA₁ lub IgA₂ spowodowanego delekcją jednego z genów $C\alpha$, opisywano jedynie w blisko spokrewnionych populacjach [8–10]. Także w tych przypadkach deficyt jednej z podklas IgA był z reguły związany z nieobecnością innego izotypu lub izotypów, co było następstwem delekcji większego odcinka genów C_H , np. $C\gamma1$ - $C\gamma4$, $C\alpha1$ - $C\epsilon$ lub $C\psi\epsilon$ - $C\gamma4$ (ryc.1). Warto dodać, iż u tych osób znaczne obniżenie stężenia tych klas immunoglobulin rzadko było przyczyną zwiększonej podatności na zakażenia. Badania obejmujące pacjentów z upośledzoną syntezą IgA, u których wystąpiła delekcja tylko jednego z genów C_H wykazały ponadto, iż brak IgA₁ może być częściowo kompensowany przez IgA₂, podczas gdy funkcje nieobecnej IgA₂ może całkowicie przejąć prawidłowo syntetyzowana IgA₁ [8].

Innym argumentem przemawiającym przeciwko zarówno strukturalnej delekcji $C\alpha1$ i $C\alpha2$, jak i obecności w nich zmutowanych alleli jest wykazana przez Hammarström et al. [11] możliwość ponownej ekspresji owych „cichych” genów u osób wykazujących pokrewieństwo pierwszego stopnia z chorymi na IgAD. Wyklucza to tym samym drobne defekty w sekwencjach regulatorowych działających cis (cis-acting), które mogłyby być odpowiedzialne za upośledzoną syntezę IgA. Kolejną sugerowaną przyczyną omawianego defektu mogą być zaburzenia w obrębie sekwencji wzmacniających, regulujących ekspresję genów $C\alpha1$ i $C\alpha2$. Wykazano bowiem, iż podstawienie wzmacniacza, który znajduje się w kierunku 3' od genu $C\alpha$, genem dla neomycyny w mysim modelu badań prowadzi do niedoboru IgA, a także IgG_{2A} i IgG₃ w surowicy [12].

Regulacja procesu przełączania izotypu

Zmiana klas syntetyzowanych przeciwciał pojawia się podczas odpowiedzi immunologicznej, umożliwiając dojrzalej komórce B wytwarzanie różnych klas i podklas immunoglobulin z zachowaniem tej samej swoistości. Do przełączania syntezy łańcuchów ciężkich dochodzi w wyniku rekombinacji między sekwencjami przełączeniowymi S (switch regions), które znajdują się w intronie powyżej eksonów dla domen stałych [13]. Podczas bezpośredniego przełączania syntezy z IgM na IgA₁ rekombinacja zachodząca między $S\mu$ i $S\alpha1$ jest połączona z wytworzeniem pętli i delekcją leżącego między nimi odcinka DNA: $C\mu$ - $C\delta$ - $C\gamma3$ - $C\gamma1$ - $\psi\epsilon$. Przełączanie syntezy na IgA₂, dla której gen C_H jest położony na końcu 3', jest najczęściej procesem jednoetapowym i wiąże się z delekcją dużego, obejmującego około 250 kbp fragmentu DNA. Rzadziej proces przełączania izotypu w kierunku podklas IgA zachodzi stopniowo: z IgM na IgG, a następnie z IgG na IgA [14]. Sugeruje się również, że oprócz mechanizmu polegającego na rekombinacji DNA, limfocyty B do ekspresji IgA₁ lub IgA₂ razem z IgM, mogą wykorzystywać ten sam mechanizm cięcia i składania pierwotnego mRNA, który pozwala na jednoczesne wytwarzanie IgM i IgD, a także form sekrecyjnych i związanych z błoną komórkową leukocytów – immunoglobulin [15].

Indukowana *de novo* zmiana syntetyzowanego izotypu jest poprzedzona transkrypcją genu dla stałej części łańcucha ciężkiego, który ma ulec ekspresji. Miejsce inicjacji transkrypcji jest zlokalizowane powyżej każdego regionu S, w „eksonie I”. Kluczowym mediatorem tego procesu w odniesieniu do podklas IgA jest TGF- $\beta1$, który preferencyjnie indukuje „sterylną transkrypcję” genów $C\alpha1$ i $C\alpha2$ w limfocytach B człowieka [16]. TGF- $\beta1$ wykazuje podobne działanie również na geny $C\alpha$ i $C\gamma2b$ w poliklonalnie zaktywowanych mysich limfocytach B [17, 18]. Zjawisku indukcji transkrypcji tych genów towarzyszy jednoczesne zahamowanie ekspresji pozostałych izotypów oraz wytwarzania przeciwciał klasy A przez limfocyty B już „ukierunkowane” (committed) na syntezę tych immunoglobulin. Przypuszczalnie aktywna forma tej cytokiny jest uwalniana przez limfocyty B w odpowiedzi na sygnały przesyłane przez obecne na ich powierzchni cząsteczki CD40 [19]. Jako czynnik autokryny TGF- $\beta1$ jest wydzielany w stężeniu pozbawionym działania antyproliferacyjnego, mogącego hamować proces zmiany syntetyzowanych przeciwciał przez zatrzymanie komórek w późnej fazie G₁ cyklu komórkowego [20].

O ile rola TGF- β 1 w indukowaniu transkrypcji C α 1 i C α 2 jest niekwestionowana, o tyle zarówno jego udział w stymulacji rekombinacji *per se*, jak również odmienna regulacja procesu zmiany klas syntetyzowanych przeciwciał w kierunku IgA₁ bądź IgA₂, są dyskusyjne. Z badań Kitaniego i Strobera [21] wynika, iż indukowaną przez TGF- β 1 ekspresję transkryptu I α 1-C α 1 potęguje stymulacja niezależnym grasiczo mitogenem (SAC – *Staphylococcus aureus* Covan I), podczas gdy odcinek I α 2-C α 2 jest optymalnie transkrybowany w obecności samej tylko cytokiny, bez udziału stymulatorów komórek B. Ci sami autorzy wykazali również, że generowanie dojrzałych transkryptów obu genów (V_HDJ_H – C α 1 lub V_HDJ_H – C α 2) determinuje IL-10, choć w przypadku C α 2 proces ten jest dodatkowo uwarunkowany obecnością T-zależnych stymulatorów komórek B (anty-CD40 lub PWM, w obecności IL-10). Okazało się bowiem, iż przy braku tych czynników ani SAC, ani SAC i TGF- β 1, nawet w obecności egzogennej IL-10, nie są zdolne indukować tego procesu. Powyższe obserwacje sugerują zatem, że TGF- β 1 nie może stymulować rekombinacji *per se*.

Do odmiennych wniosków doszli Zan et al. [19], wskazując na TGF- β 1 jako na wystarczający czynnik indukujący nie tylko jednoetapową, ale i stopniową zmianę klas syntetyzowanych przeciwciał w kierunku podklas IgA. Przyczyną przedstawionych w literaturze rozbieżności są prawdopodobnie odmienne populacje badanych komórek B. W odróżnieniu od testowanych przez Kitaniego i Strobera [21] limfocytów B krwi obwodowej, fenotyp komórek linii CL-01, badanych przez Zana et al. [19], odzwierciedla limfocyty tworzące centra rozrodcze grudek limfatycznych oraz limfocyty wywodzące się z migdałków.

Na podstawie obniżonej liczby limfocytów B IgA⁺ we krwi obwodowej pacjentów z izolowanym niedoborem IgA, można sugerować istnienie defektu na poziomie przełączania izotypów [22]. Powyższe założenie potwierdzają wyniki badań Islama et al. [23], którzy wykazali zarówno obniżoną liczbę fragmentów S μ /S α , powstających w procesie rekombinacji warunkującej zmianę klas syntetyzowanych przeciwciał w kierunku IgA, jak i obniżoną ekspresję mRNA dla I α -C α w PBMC pochodzących od osób z izolowanym niedoborem IgA. Z badań cytowanych autorów [23] wynika również, że w następstwie stymulacji tych samych komórek octanem mirystynianu forbolu (PMA – aktywator kinazy białkowej C) w obecności TGF- β 1, gen C α jest transkrybowany prawidłowo. Również immobilizowany na linii komórkowej fibroblastów ligand cząsteczki CD40 wraz z IL-10, indukują w limfocytach B tych chorych syntezę i wydzielanie IgA *in vitro* [24].

W świetle powyższych obserwacji można spekulować, że jednym z czynników determinujących zaburzoną syntezę podklas IgA u osób z IgAD może być zmniejszona ekspresja mRNA dla regionów I α 1-C α 1 i/lub I α 2-C α 2, które po ekspozycji na odpowiednie sygnały przekazywane przez stymulatory i cytokiny w badaniach *in vitro* mogą być transkrybowane prawidłowo. Dla porównania, pacjentów z zaburzoną syntezą IgG cechuje słaba indukcja I γ , nawet po stymulacji *in vitro* [23]. O tym, jak ważną rolę odgrywają „eksony I” w procesie zmiany izotypu syntetyzowanych przeciwciał, może świadczyć również fakt, iż następstwem usunięcia I γ 1b, I γ 2b i I ϵ w mysim modelu badań jest zaburzenie syntezy odpowiednio IgG₁, IgG₂ i IgE [25]. Interesujące jest, że ekspresja minigeny ludzkiej fosforybozylotransferazy hipoksantyny (HPRT – hypoxanthine phosphoribosyl transferase) w *locus* I α mysich komórek B okazała się wystarczającym sygnałem indukującym transkrypcję genu C α . Mogłoby się zatem wydawać, że „ekson I α ” lub jego transkrypt nie determinuje przełączania syntezy w kierunku IgA, wpływ TGF- β 1 może być zastąpiony heterologicznym minigenem, a syntezę IgA warunkuje obecność dodatkowych stymulatorów [26]. Qiu et al. [25] wykazali jednakże, iż dzięki temu, że minigen HPRT podlega regulacji ze strony silnego promotora kinazy fosfoglicerynowej (PGK – phosphoglycerate kinase promoter), jego insercja w *locus* I α mysich komórek B nie zaburza ekspresji mRNA dla I α -C α , umożliwiając tym samym prawidłowy przebieg procesu zmiany klas syntetyzowanych przeciwciał w kierunku tej klasy przeciwciał. Jednocześnie u tych myszy zaobserwowano, iż następstwem interakcji tego promotora z sekwencją wzmacniającą, zlokalizowaną „powyżej” genów C_H, jest zaburzony proces przełączania izotypów w kierunku podklas IgG.

Odkrycie kluczowej roli TGF- β 1 w procesie syntezy obu podklas IgA nasunęło przypuszczenie, iż patogeniza omawianego schorzenia również dobrze może być związana z zaburzeniem syntezy tej cytokiny, jej defektywną, wymagającą proteolitycznego rozszczepienia aktywacją i wadliwą ekspresją swoistego dla niej receptora na komórkach docelowych. Powyższe spostrzeżenie wydaje się potwierdzać obniżone stężenie TGF- β 1 w surowicach niektórych chorych [27]. Wiadomo również, że w PBMC pochodzących od osób z izolowanym niedoborem IgA dochodzi do prawidłowej ekspresji mRNA dla tej cytokiny [23]. Co ciekawe, w innym schorzeniu związanym z nieprawidłową syntezą IgA, a mianowicie nefropatii IgA, podwyższonemu surowiczemu stężeniu tego izotypu nie towarzyszy wzrost stężenia TGF- β 1, chociaż w zaktywowanych limfocytach T CD4⁺ chorych

wykazano zwiększoną ekspresję mRNA dla tej cytokiny [28]. Jednoznaczną ocenę funkcji TGF- β 1 utrudnia ponadto fakt, iż jest on syntetyzowany przez liczne komórki, wiele komórek ma też dla niego receptor, a jego oddziaływanie jest wysoce uzależnione od stężenia [20]. Z badań nad rolą TGF- β 1 u myszy pozbawionych kodującego go genu wynika, iż jego brak charakteryzuje się znacznie głębszym zaburzeniem odporności niż niedobór IgA. 60% tych myszy ginie *in utero*, pozostałe umierają w ciągu kilku tygodni na skutek wieloogniskowych zmian zapalnych o nieznanej etiologii [29].

Regulacja proliferacji i różnicowania limfocytów B

Proliferacja i przekształcenie powstałych w wyżej przedstawionym procesie „ukierunkowanych” limfocytów B IgA $_1$ ⁺ i B IgA $_2$ ⁺ w efektorowe komórki odpowiedzi humoralnej – plazmocyty, wytwarzające przeciwciała oraz komórki pamięci, wymagają sygnałów dostarczanych przez zaktywowane klony komórek T CD4⁺. Kluczową rolę w tych procesach spełniają cytokiny uwalniane przez komórki Th2: IL-4 oraz IL-10. Według jednych autorów [21] synergicznie z TGF- β 1 bierze udział w zmianie klas syntetyzowanych przeciwciał z IgM na IgA $_1$ lub IgA $_2$, zaś według innych [19] – pobudza wzrost i różnicowanie komórek już „ukierunkowanych” na wytwarzanie tych izotypów. Warto dodać, iż synergiczny wpływ TGF- β 1 i IL-10 na ekspresję i sekrecję IgA wzmagają komórki dendrytyczne, i co ciekawe – przez nieznanne sygnały indukują syntezę wyłącznie IgA $_2$ w badaniach *in vitro* [30].

Nieprawidłowa regulacja obu limfokin bądź obecność czynników działających antagonistycznie może stanowić jedną z cech determinujących upośledzoną syntezę IgA. Powyższe spostrzeżenie wydaje się potwierdzać częściowe „odblokowanie” wytwarzania tej klasy przeciwciał u osób zarówno z IgAD, jak i CVID (pospolity zmienny niedobór odporności) przez pobudzenie ich limfocytów w hodowlach prowadzonych w obecności IL-4 i/lub IL-10 [24, 31, 32]. Wyniki badań Kowalczyk et al. [33] wskazują jednak, że pacjentów z zaburzoną syntezą IgA, z wyjątkiem podwyższonej syntezy TNF- α , cechuje prawidłowe stężenie zarówno IL-4, jak i IL-10.

Pozytywny wpływ na regulację syntezy immunoglobulin klasy A spełniają również IL-5 oraz IL-6, działająca szczególnie na limfocyty B, które znalazły się już pod wpływem pierwszej z przed-

stawionych cytokin [14]. IL-6 preferencyjnie wzmacnia wytwarzanie IgA $_2$ w stosunku do IgA $_1$ w wywodzących się z GALT (tkanka limfatyczna związana z przewodem pokarmowym), ludzkich komórkach B, a jej aktywność *in vivo* jest pozytywnie uzależniona od ekspresji błonowego receptora (mIL-6R) na komórkach docelowych [34]. O ile udział IL-5 w pobudzaniu wzrostu i różnicowania komórek B IgA⁺ w kierunku komórek plazmatycznych uwalniających immunoglobuliny tej klasy w mysim układzie odpornościowym jest niekwestionowany, o tyle jej rola w ludzkich limfocytach B pozostaje dyskusyjna. Dotychczasowe dane dotyczące udziału tej limfokiny nie tylko w regulacji syntezy IgA, lecz również w zaburzeniach biosyntezy tego izotypu poszerzyły wyniki badań ostatnich lat, prowadzone przez Lio et al. [35, 36]. Cytowani autorzy wykazali znamiennej zależności między zmniejszonym stężeniem surowiczej IgA a obniżonym stężeniem IL-5 u osób mających cząsteczki HLA-B8 i -DR3. Warto również dodać, iż w hodowlach komórkowych PBMC izolowanych od takich pacjentów i prowadzonych w obecności egzogennej IL-5 stężenie oznaczonych w supernatantach przeciwciał tej klasy kształtowało się na poziomie wartości uzyskanych w grupie zdrowych dawców [35]. Powyższych obserwacji nie potwierdziły jednak, przeprowadzone metodą hybrydyzacji *in situ* badania prawidłowej ekspresji mRNA dla tej cytokiny w komórkach PBMC, pochodzących od osób chorych na CVID.

Oprócz cytokin w regulacji różnicowania limfocytów B IgA⁺ udział biorą również komórki mające receptory dla fragmentu Fc przeciwciał klasy A (Fc α R). Sugeruje się, iż obecne wśród tych komórek limfocyty T o fenotypie CD8⁺ są odpowiedzialne za supresję wytwarzania IgA na obwodzie, podczas gdy komórki o fenotypie CD4⁺ wspomagają wytwarzanie tej klasy immunoglobulin [14].

Genetyczne uwarunkowania izolowanego niedoboru IgA

To, że izolowany niedobór IgA dotyczy określonych grup etnicznych, a ryzyko jego wystąpienia jest relatywnie zwiększone w populacjach osób spokrewnionych z pacjentem w porównaniu z ryzykiem w populacji ogólnej, wskazuje na istnienie uwarunkowań genetycznych tego schorzenia [2, 4]. W rodzinach dotkniętych chorobą IgAD zazwyczaj występuje u osób wykazujących pokrewieństwo pierwszego stopnia z chorymi na CVID, dziedzicząc się w sposób autosomalny dominujący bądź rzadziej recesywny. Kolejną przesłanką przemawia-

jącą za hipotezę o zbliżonej patogenecie obu niedoborów, poza ich występowaniem wśród członków tych samych rodzin, jest obserwowana możliwość progresji izolowanego niedoboru IgA do pełnoobjawowego CVID w późniejszym okresie życia lub rzadziej odwrotnie [37]. Dowiedziano ponadto, iż dzieci wykazujące zaburzoną syntezę IgA znacznie częściej pochodzą z rodzin, w których matka wykazywała tę cechę aniżeli z rodzin, w których posiadał ją ojciec [38]. Transmisja zmutowanych alleli, odbywająca się najprawdopodobniej w linii matczynej, sugeruje ich związek z usytuowanym na krótkim ramieniu chromosomu 6, *locus* głównego kompleksu zgodności tkankowej człowieka (HLA – human leukocyte antigens). Rola MHC w predyspozycji zarówno do IgAD, jak i CVID jest złożona i wciąż nie w pełni zrozumiana.

Wadliwy gen, który miałby być odpowiedzialny za oba schorzenia, usytuowano w pobliżu genów dla TNF oraz limfotoksyn (LT- α i LT- β) w obrębie *loci* kodujących cząsteczki MHC klasy III [4]. Hipoteza ta powstała po dość zaskakującym odkryciu znaczącej roli obu limfotoksyn w powstawaniu obwodowych narządów limfatycznych, takich jak: węzły chłonne, kępki Peyera i śledziona. Inną przesłanką przemawiającą za słusznością tej hipotezy jest całkowity deficyt IgA charakteryzujący myszy z celowo zniszczonym genem dla LT- α .

Inny genetyczny marker obecności genów warunkujących skłonność do zaburzonej syntezy IgA zlokalizowano w sąsiedztwie genów kodujących cząsteczki układu dopełniacza C4A i C4B oraz C2 [2, 39, 40].

Z uwagi na rolę cząsteczek MHC klasy I i II w inicjacji odpowiedzi immunologicznej wydaje się uzasadnione kojarzenie tych cząsteczek ze zwiększoną podatnością na chorobę. To, że allele HLA-DQ kodujące obojętny aminokwas obecny w pozycji 57 łańcucha β cząsteczki –DQ wykazują dodatnią korelację z występowaniem IgAD, wydaje się potwierdzać powyższe założenie [41]. Na podstawie przeprowadzonych w populacji północnoeuropejskiej rozległych analiz rodzin obarczonych zwiększonym ryzykiem rozwoju IgAD/CVID, a także często towarzyszących tym niedoborom, cukrzycy insulinozależnej (IDDM – insulin-dependent diabetes mellitus) oraz choroby trzewnej – celiakii, określono asocjacje tych schorzeń z allelami

HLA-DR3- β 3 [39]. Analiza tego *locus* w stosunkowo homogennej populacji mieszkańców Sardynii wykazała jednakże, iż w odróżnieniu od porównywalnej w obu badanych populacjach częstości występowania IDDM oraz celiakii częstość występowania IgAD jest tam wielokrotnie niższa [42]. Można zatem wnioskować, iż typowanie HLA nie może być podstawą rozpoznania ani czynnikiem prognostycznym izolowanego niedoboru IgA.

Czynniki środowiskowe predysponujące do izolowanego niedoboru IgA

IgAD może ujawnić się również jako wtórny efekt działania niektórych leków (przeciwpadaczkowych, niesteroidowych leków przeciwzapalnych, inhibitorów ACE (angiotensin-converting enzyme) [5, 40] oraz zakażeń płodowych, np. wirusem cytomegalii, różyczki lub pierwotniakiem *Toxoplasma gondii* [2]. Z reguły zaburzenie syntezy IgA ustępuje po zakończonej kuracji lub po wyeliminowaniu drobnoustroju.

Przypuszczalnie większość tych farmaceutyków działa na poziomie lizosomów lub ma właściwości lizosomotropowe. Można zatem spekulować, że te organella komórkowe, jak również komórki prezentujące antygen mają swój udział w szlaku prowadzącym do defektywnej produkcji IgA. Część z leków zawierających wysoce reaktywne grupy sulfhydrylowe, wywołując powstawanie kompleksów immunologicznych, indukuje zjawisko autoimmunizacji, a więc pośrednio może odgrywać rolę w rozwoju niedoborów immunologicznych, u osób z predyspozycjami genetycznymi do ich wystąpienia. Z kolei sulfasalazyna – jeden z leków przeciwzapalnych, aktywując gen dla I κ B α , którego produkt jest inhibitorem czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, może zaburzać transkrypcję genów regionu stałego immunoglobulin [5].

Należy jednak podkreślić, że zarówno czynnik środowiskowy, jak i genetyczny warunkujący zaburzoną syntezę IgA, a także mechanizm, przez który wymienione czynniki wpływają na powstawanie tego niedoboru, nie są do końca wyjaśnione.

Piśmiennictwo

- [1] **Report of a WHO Scientific Group:** Primary immunodeficiency diseases. Clin Exp Immunol 1997, 109, Suppl. 1, 1–28.
- [2] **Schaffer FM, Monteiro RC, Volanakis JC, Cooper MD:** IgA deficiency. In: Immunodeficiencies. Eds. Rosen FS, Seligmann M, Harwood Academic Publishers 1993, 61–76.
- [3] **Bernatowska E, Michalkiewicz J, Gregorek H, Madaliński K, Skopczyńska H, Pietrucha B, Pac M, Wolska-Kuśnierz B, Kurenko-Deptuch M, Lange A, Zeman K, Czeszko J:** Twenty years of investigations into prima-

- ry immunodeficiency diseases in the Department of Immunology of the Children's Memorial Health Institute, Warsaw. *Centr Eur J Immunol* 2000, 25, 119–126.
- [4] **Burrows PD, Cooper MD:** IgA deficiency. *Adv Immunol* 1997, 65, 245–276.
- [5] **Hammarström L, Vořechovský I, Webster D:** Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* 2000, 120, 225–231.
- [6] **Burrows PD, Cooper MD:** B cell development and differentiation. *Curr Opin Immunol* 1997, 9, 239–244.
- [7] **Lefranc M-P:** Locus maps and genomic repertoire of the human Ig genes. *Immunologist* 2000, 8, 80–87.
- [8] **Engström P-E, Norhagen-Engström G, Bottaro A, Carbonara AO, Lefranc G, Steinitz M, Söder P-Ö, Smith CIE, Hammarström L:** Distribution and restriction of antigen-specific antibodies of IgA subclasses in donors with homozygous IgH C α 1 or C α 2 gene deletion. *J Immunol* 1990, 145, 109–116.
- [9] **Plebani A, Carbonara AO, Bottaro A, Gallina R, Boccazzi C, Crispino P, Ruggeri L, Soresina A, Meini A, Duina M, Leibovitz M, Negrini A, Ugazio AG, Albertini A:** Two siblings with deficiency of IgA1, IgA2, IgG4 and IgE due to deletion of immunoglobulin heavy chain constant region genes. *Year Immunol Karger, Basel* 1993, 7, 231–235.
- [10] **Wiebe V, Helal A, Lefranc M-P, Lefranc G:** Molecular analysis of the T17 immunoglobulin CH multigene deletion (del A1-GP-G2-G4-E). *Hum Genet* 1994, 93, 520–528.
- [11] **Hammarström L, de Lange G, Smith CIE:** IgA2 allotypes in IgA deficiency. Re-expression of the silent IgA2m(2) allotype in the children of IgA-deficient patients. *J Immunogenet* 1987, 14, 197–201.
- [12] **Cogné M, Lansford R, Bottaro A, Zhang J, Groman J, Young F, Chen HL, Alt FW:** A class switch control region at the 3' end of the immunoglobulin heavy chain locus. *Cell* 1994, 77, 737–747.
- [13] **Maizels N:** DNA REPAIR '99. Immunoglobulin class switch recombination: will genetics provide new clues to mechanism? *Am J Hum Genet* 1999, 64, 1270–1275.
- [14] **McGhee JR, Mestecky J, Elson CO, Kiyono H:** Regulation of IgA synthesis and immune response by T cells and interleukins. *J Clin Immunol* 1989, 9, 175–199.
- [15] **Kunimoto DY, Sneller MC, Clafin L, Mushinski JE, Strober W:** Molecular analysis of double isotype expression in IgA switching. *J Immunol* 1993, 150, 1338–1347.
- [16] **van Vlasselaer P, Punnonen J, de Vries JE:** Transforming growth factor- β directs IgA switching in human B cells. *J Immunol* 1992, 148, 2062–2067.
- [17] **Coffman RL, Lebman DA, Shrader B:** Transforming growth factor β specifically enhances IgA production by lipopolysaccharide-stimulated murine B lymphocytes. *J Exp Med* 1989, 170, 1039–1044.
- [18] **McIntyre TM, Klinman DR, Rothman P, Lugo M, Dasch JR, Mond JJ, Snapper CM:** Transforming growth factor beta 1 selectivity stimulates immunoglobulin G2b secretion by lipopolysaccharide-activated murine B cells. *J Exp Med* 1993, 177, 1031–1037.
- [19] **Zan H, Cerutti A, Dramitinos P, Schaffer A, Casali P:** CD40 engagement triggers switching to IgA1 and IgA2 in human B cells through induction of endogenous TGF- β : evidence for TGF- β but not IL-10-dependent direct S μ →S α and sequential S μ →S γ , S γ →S α DNA recombination. *J Immunol* 1998, 161, 5217–5225.
- [20] **Stavnezer J:** Regulation of antibody production and class switching by TGF- β . *J Immunol Commentary* 1995, 1647–1651.
- [21] **Kitani A, Strober W:** Differential regulation of C α 1 and C α 2 germ-line and mature mRNA transcripts in human peripheral blood B cells. *J Immunol* 1994, 153, 1466–1477.
- [22] **Conley ME, Cooper MD:** Immature IgA B cells in IgA-deficient patients. *N Engl J Med* 1981, 305, 495–497.
- [23] **Islam KB, Baskin B, Nilsson L, Hammarström L, Sideras P, Smith CIE:** Molecular analysis of IgA deficiency. Evidence for impaired switching to IgA. *J Immunol* 1994, 152, 1442–1452.
- [24] **Brière F, Bridon J-M, Chevet D, Souillet G, Bienvenu F, Guret C, Martinez-Valdez H, Banchereau J:** Interleukin 10 induces B lymphocytes from IgA-deficient patients to secrete IgA. *J Clin Invest* 1994, 94, 97–104.
- [25] **Qiu G, Harriman GR, Stawnezer J:** I α exon-replacement mice synthesize a spliced HPRT-C α transcript which may explain their ability to switch to IgA. Inhibition of switching to IgG in these mice. *Int Immunol* 1999, 11, 37–46.
- [26] **Harriman GR, Bradley A, Das S, Rogers-Fani P, Davis AC:** IgA class switch in I α exon-deficient mice. Role of germline transcription in class switch recombination. *J Clin Invest* 1996, 97, 477–485.
- [27] **Müller F, Aukrust P, Nilssen DE, Frøland SS:** Reduced serum level of transforming growth factor- β in patients with IgA deficiency. *Clin Immunol Immunopathol* 1995, 76, 203–208.
- [28] **Lebman DA, Edmiston JS:** The role of TGF- β in growth, differentiation and maturation of B lymphocytes. *Microbes Infections* 1999, 1, 1297–1304.
- [29] **Christ M, McCartney-Francis NL, Kulkarni AB, Ward JM, Mizel DE, Mackall CL, Gress RE, Hines KL, Tian H, Karlsson S, Wahl SM:** Immune dysregulation in TGF- β 1-deficient mice. *J Immunol* 1994, 153, 1936–1946.
- [30] **Fayette J, Dubois B, Vandenabeele S, Bridon J-M, Vanbervliet B, Durand I, Banchereau J, Caux C, Brière F:** Human dendritic cells skew isotype switching of CD40-activated naive B cells towards IgA1 and IgA2. *J Exp Med* 1997, 185, 1909–1918.
- [31] **Punnonen J, Kainulainen L, Ruuskanen O, Nikoskelainen J, Arvilommi H:** IL-4 synergizes with IL-10 and anti-CD40 MoAbs to induce B-cell differentiation in patients with common variable immunodeficiency. *Scand J Immunol* 1997, 45, 203–212.
- [32] **Marconi M, Plebani A, Avanzini MA, Maccario R, Pistorio A, Duse M, Stringa M, Monafa V:** IL-10 and IL-4 co-operate to normalize in vitro IgA production in IgA-deficient (IgAD) patients. *Clin Exp Immunol* 1998, 112, 528–532.

- [33] **Kowalczyk D, Mytar B, Zembala M:** Cytokine production in transient hypogammaglobulinemia and isolated IgA deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 1997, 100, 556–562.
- [34] **Fujihashi K, McGhee JR, Lue C, Beagley KW, Taga T, Hirano T, Kishimoto T, Mestecky J, Kiyono H:** Human appendix B cells naturally express receptors for and respond to interleukin 6 with selective IgA1 and IgA2 synthesis. *J Clin Invest* 1991, 88, 248–252.
- [35] **Lio D, D'Anna C, Gervasi F, Cigna D, Modica MA, Candore G, Caruso C:** *In vitro* impairment of interleukin-5 production in HLA-B8, DR3 – positive individuals. Implications for immunoglobulin A synthesis dysfunction. *Hum Immunol* 1995, 44, 170–174.
- [36] **Lio D, D'Anna C, Leone F, Curro MF, Candore G, Caruso C:** Hypothesis: IL-5 production impairment can be a key point in the pathogenesis of MHC linked selective IgA deficiency. *Autoimmunity* 1998, 27, 185–188.
- [37] **Johnson ML, Keeton LG, Zhu Z-B, Volanakis JE, Cooper MD, Schroeder HW Jr:** Age-related changes in serum immunoglobulins in patients with familial IgA deficiency and common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* 1997, 108, 477–483.
- [38] **Vořechovský I, Webster ADB, Plebani A, Hammarström L:** Genetic linkage of IgA deficiency to the major histocompatibility complex: evidence for allele segregation distortion, parent-of-origin penetrance differences, and the role of anti-IgA antibodies in disease predisposition. *Am J Hum Genet* 1999, 64, 1096–1109.
- [39] **Volanakis JE, Zhu Z-B, Schaffer FM, Macon KJ, Palermos J, Barger BO, Go R, Campbell RD, Schroeder HW Jr, Cooper MD:** Major histocompatibility complex class III genes and susceptibility to immunoglobulin A deficiency and common variable immunodeficiency. *J Clin Invest* 1992, 89, 1914–1922.
- [40] **Truedsson L, Baskin B, Pan Q, Rabbani H, Vořechovský I, Smith CIE, Hammarström L:** Genetics of IgA deficiency. *APMIS* 1995, 103, 833–842.
- [41] **Olerup O, Smith CIE, Hammarström L:** Different amino acids at position 57 of the HLA-DQ β chain associated with susceptibility and resistance to IgA deficiency. *Nature (London)* 1990, 329, 289–290.
- [42] **Cucca F, Zhu Z-B, Khanna A, Cossu F, Congia M, Badiali M, Lampis R, Frau F, de Virgiliis S, Cao A, Arnone M, Piras P, Campbell RD, Cooper MD, Volanakis J, Powis ST:** Evaluation of IgA deficiency in Sardinians indicates a susceptibility gene is encoded within the HLA class III region. *Clin Exp Immunol* 1998, 111, 76–80.

Adres do korespondencji:

Grażyna Majkowska-Skrobek
Instytut Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. Przybyszewskiego 63/77
51-148 Wrocław
e-mail: majkowska@microb.uni.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 27.06.2003 r.
Po recenzji: 13.01.2004 r.
Zaakceptowano do druku: 6.02.2004 r.

Received: 27.06.2003
Revised: 13.01.2004
Accepted: 6.02.2004