



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Immune regulation in IgA nephropathy

Eijgenraam, J.W.

Citation

Eijgenraam, J. W. (2008, June 10). *Immune regulation in IgA nephropathy*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/12937>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/12937>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Het afweersysteem is er op gericht om bescherming te bieden tegen virussen en bacteriën, waaraan ieder mens dagelijks wordt bloot gesteld. Wanneer het lichaam hierdoor bedreigd wordt dan treedt een afweerreactie op, met als doel deze virussen en bacteriën onschadelijk te maken en te verwijderen. Tijdens deze afweerreactie worden cellen geactiveerd en worden uiteindelijk afweerstoffen (immuunglobulinen) geproduceerd, specifiek gericht tegen eiwitten op het oppervlakte van deze bacteriën of virussen. Er zijn 5 typen immuunglobulinen (Ig) namelijk, IgG, IgA, IgM, IgE en IgD. Deze afweerstoffen worden voornamelijk gemaakt door cellen in het bloed en in het beenmerg. IgA wordt echter ook in belangrijke mate gemaakt in de verschillende slijmvliezen (mucosa) van het lichaam, zoals in het slijmvlies van de luchtwegen en in het maag-darmstelsel. Soms is het immuunsysteem betrokken bij het ontstaan van een ziekte, zoals bij de ziekte IgA Nefropathie (IgAN).

IgAN is de meest voorkomende primaire glomerulonefritis in de wereld. Een glomerulonefritis is een ontsteking van glomeruli, de filterlichaampjes van de nieren. Per nier zijn er ongeveer 1 miljoen glomeruli aanwezig. De ziekte IgAN kenmerkt zich door de aanwezigheid van IgA in het steunweefsel (mesangium) van de glomeruli. Het ontstaansmechanisme (pathogenese) van IgAN is onduidelijk. De reden waarom IgA neerslaat en de factoren die dit beïnvloeden zijn slechts ten dele bekend. Genetische factoren lijken een rol te spelen bij het ontstaan van IgAN. In bepaalde families, waar IgAN vaak voor komt, blijkt een gen mutatie aanwezig. Echter in het grootste aantal gevallen zijn tot op heden geen genetische factoren gevonden die het optreden van IgAN verklaren. Naast genetische factoren zijn waarschijnlijk ook omgevingsfactoren betrokken bij de pathogenese van IgAN. Dit kan deels verklaren waarom de incidentie van IgAN geografisch sterke verschillen laat zien.

De ziekte openbaart zich vaak tussen het 20^e en 30^e levensjaar en komt vaker voor bij mannen dan bij vrouwen in een verhouding 2:1. Kenmerken van IgAN zijn bloed in de urine (hematurie), vaak gepaard met eiwitverlies

via de urine (proteinurie) en tevens is er vaak sprake van hoge bloeddruk. Een opmerkelijk verschijnsel dat bij een aantal IgAN patiënten optreedt, is dat er zichtbaar bloed in de urine verschijnt, in aansluiting op een infectie, vaak van de bovenste luchtwegen. Het beloop van IgAN kan sterk variëren. Ongeveer 30% van de patiënten zal uiteindelijk een totale nierinsufficiëntie ontwikkelen. Dit gebeurt meestal in de loop van vele jaren, maar kan ook in zeer korte tijd gebeuren. Om met zekerheid de diagnose IgAN te stellen is het noodzakelijk om een stukje nierweefsel onder de microscoop te beoordelen. Dit weefsel kan worden verkregen door middel van een prik in de nieren, een nierbiopsie, waarna met behulp van een specifieke kleuringmethode het IgA kan worden gevisualiseerd. Vaak zijn er naast IgA ook nog andere eiwitten in de nier aanwezig, zoals IgG en C3, een ander eiwit betrokken bij de activatie van een deel van het immuunsysteem. De aanwezigheid van deze eiwitten leidt tot een ontstekingsreactie in de nier, waardoor er beschadiging optreedt en uiteindelijk verlies van nierfunctie. In Nederland en andere westerse landen is IgAN de oorzaak van nierfalen bij ongeveer 10% van de patiënten die nierfunctie vervangende therapie ondergaan. In het bloed van IgAN patiënten is IgA vaak in verhoogde concentratie aanwezig. Dit is echter nog geen verklaring voor het feit dat IgA in de glomeruli neerslaat. Bij andere aandoeningen, waarbij IgA soms ook in sterk verhoogde concentratie in het bloed aanwezig is, zoals bij HIV of bij de ziekte van Kahler, slaat IgA niet neer in de nieren. Opmerkelijk is dat na een niertransplantatie in de getransplanteerde nier vaak opnieuw neerslagen van IgA worden aangetroffen. Een enkele maal is het ook gebeurd dat een nier, die van een IgAN patiënt afkomstig bleek te zijn, werd getransplanteerd naar een niet IgAN patiënt. In een dergelijke situatie blijkt het IgA uit de nier te verdwijnen. Dit is een argument voor het feit dat IgAN wordt veroorzaakt door karakteristieken van het IgA en niet door een intrinsieke afwijking in de nieren.

IgA komt in het lichaam in verschillende vormen voor. Er bestaan twee subklassen, namelijk IgA1 en IgA2, die zich van elkaar onderscheiden door verschillen in het verbindingsstukje (hinge) tussen het constante en variable gedeelte, waardoor ook bepaalde suikergroepen op het molecuul verschillend aanwezig zijn. Alleen de subklasse IgA1 wordt in de nieren aangetroffen.

Verder wordt er een indeling van IgA gemaakt, gebaseerd op verschillen in grootte. Zo bestaat er monomeer IgA (mIgA), dat uit 1 IgA molecuul bestaat, dimeer IgA (dIgA) dat uit 2 IgA moleculen bestaat, verbonden door een eiwit genaamd J-chain, en polymeer IgA (pIgA), dat een variabele afmeting heeft en bestaat uit meerdere IgA moleculen. Met name pIgA wordt in de nieren van IgAN patiënten aangetroffen. Zoals eerder genoemd wordt IgA voornamelijk geproduceerd door cellen die aanwezig zijn in de slijmvliezen en wordt uitgescheiden in secreta, zoals speeksel en darmsappen. Dit IgA onderscheidt zich van IgA geproduceerd in het bloed of in het beenmerg, door de aanwezigheid van secretair component en wordt secretair IgA (SIgA) genoemd. Hoewel SIgA voornamelijk in secreta voorkomt en daar betrokken is bij het neutraliseren van virussen en bacteriën komt SIgA ook voor in de circulatie. De rol van SIgA in het bloed is niet duidelijk. Bij IgAN patiënten is de concentratie van SIgA in het bloed hoger dan bij gezonde personen. Bij een laag percentage IgAN patiënten wordt SIgA eveneens in de nieren aangetroffen en is geassocieerd met meer hematurie en de aanwezigheid van ontstekings-eiwitten in de nier.

IgA van patiënten met IgAN verschilt niet alleen kwantitatief van IgA van gezonde personen, ook kwalitatief. Er zijn belangrijke verschillen aangetoond in de besuikering (glycosylering) van het IgA molecuul. Bovendien blijkt dit anders geglycosyleerde IgA in verhoogde mate aanwezig in de nieren. Welke factoren verantwoordelijk zijn voor de verandering in glycosylering is onduidelijk.

Bij het op gang komen van een afweerreactie zijn verschillende cellen betrokken. In de eerste plaats zijn er cellen die een eiwit (antigeen) opnemen en dit in stukjes aan andere witte bloed cellen (T cellen) tonen, waardoor deze cellen geactiveerd kunnen raken. Deze antigeen presenterende cellen (APC) initiëren de immuunrespons. De belangrijkste APC is de dendritische cel (DC). Er zijn verschillende typen DC, die nog maar ten dele gekarakteriseerd zijn wat betreft hun functie. Een DC is ook in staat om een B cel (voorloper van een cel die immuunglobuline produceert) te laten veranderen in een plasmacel, een cel die een bepaald type Ig kan maken. Dit proces kan op

verschillende manieren plaatsvinden. Het kan door middel van activatie van bepaalde witte bloedcellen, T cellen, waarna deze T cel de B cel activeert en stimuleert tot Ig productie. Het kan echter ook door een direct effect van de DC op de B cel, waarbij de DC bepaalde signaaleiwitten afscheidt, die de B cel activeren, waarna proliferatie en differentiatie optreedt en er uiteindelijk een Ig producerende plasma cel ontstaat.

Het onderzoek, beschreven in dit proefschrift heeft zich gericht op verschillende aspecten van regulatie van de immuunrespons van IgAN patiënten. Hoofdstuk 2 gaat over een vaccinatie studie, waarbij IgAN patiënten en gezonde controle personen worden gevaccineerd met twee verschillende eiwitten, waarmee deze personen nog niet eerder in contact zijn geweest (neo-antigenen). Een dergelijke toediening leidt tot een zogenaamde primaire immuun respons. Het ene antigeen, Cholera Toxine B subunit (CTB) wordt toegediend op de slijmvliezen van de neus. Het andere eiwit, Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) wordt onder de huid toegediend. In totaal krijgen alle personen 3 maal deze eiwitten toegediend. Het blijkt dat de IgAN patiënten na de mucosale vaccinatie met CTB minder IgA gericht tegen het CTB maken dan de gezonde personen. Er wordt geen verschil gevonden tussen de beide groepen in de IgG en de IgM antistoffen gericht tegen CTB. Na de vaccinatie met KLH worden geen verschillen in concentratie van afweerstoffen gevonden tussen de beide groepen.

Aangezien het een primaire immuunrespons betreft, waarbij de DC een belangrijke rol speelt, hebben we gepostuleerd dat er minder DC aanwezig zijn bij IgAN patiënten. Vervolgens hebben we gekeken naar de aanwezigheid van DC in de mucosa van de neus, de plaats waar het vaccin werd toegediend. Dit wordt beschreven in hoofdstuk 3. Het blijkt dat IgAN patiënten niet minder DC in de neus mucosa hebben dan de controle personen. Van bepaalde subtypen zijn er zelfs meer DC bij de IgAN patiënten aanwezig. Dit betekent dat de eerder gevonden IgA hyporespons niet verklaard kan worden door een tekort aan DC bij IgAN patiënten.

Om te onderzoeken of de aanwezige DC minder goed functioneren, hebben we gebruik gemaakt van een *in vitro* model. Dit model en de resultaten

van het onderzoek worden beschreven in hoofdstuk 4. In dit model wordt een primaire immuunrespons nagebootst. Daarbij wordt gebruik gemaakt van B cellen die nog niet eerder bij een immuun respons betrokken zijn geweest, zogenaamde naïeve B cellen, en van cellen die de geactiveerde T cel nabootsten. Aan deze cellen worden DC toegevoegd die zijn opgekweekt uit monocytten, voorlopercellen van DC, geïsoleerd uit het bloed van IgAN patiënten en van gezonde vrijwilligers. De enige variabele in dit model is de DC. Het blijkt dat onder deze gecontroleerde omstandigheden naïeve B cellen kunnen worden gestimuleerd om zich te ontwikkelen tot Ig producerende plasmacellen. Afhankelijk van de omstandigheden wordt er meer IgA, IgG of IgM geproduceerd. De aanwezigheid van DC verhoogt de productie van Ig in hoge mate. DC afkomstig van IgAN patiënten induceerden minder IgA productie dan DC afkomstig van controle personen. Er was geen verschil in de productie van IgG en IgM. Hoewel er onderling variatie was in het vermogen B cellen aan te zetten tot IgA productie tussen de verschillende IgAN patiënten was de gemiddelde IgA productie veel lager dan bij de controle personen.

De resultaten van de hoofdstukken 2,3 en 4 tonen dat DC van patiënten met IgAN functioneel tekort schieten in het induceren van een primaire IgA immuunrespons. Onze hypothese is dat door het minder effectieve verloop van deze primaire mucosale IgA immuunrespons de totale expositieduur aan mucosale antigenen verlengd wordt, met als gevolg uiteindelijk een hogere concentratie afwijkend IgA in het bloed, wat kan bijdragen aan het neerslaan van IgA in de nieren.

Zoals eerder vermeld, wordt een belangrijk deel van de totale hoeveelheid IgA in de mucosa geproduceerd en dit wordt als secretoir IgA (SIgA) uitgescheiden in de diverse secreta. Bij de meeste IgAN patiënten is de concentratie van SIgA in het bloed verhoogd en bij 15% van de patiënten wordt in de nieren ook SIgA aangetroffen. In de hoofdstukken 5 en 6 wordt dieper ingegaan op de rol van SIgA. Hoofdstuk 5 is een overzichtartikel, dat een algemene beschrijving geeft van de verschillende aspecten van SIgA en de rol van SIgA beschrijft in relatie tot IgAN. In hoofdstuk 6 tonen we aan dat er antigeen-specifiek SIgA kan worden aangetoond in het bloed van personen die mucosaal gevaccineerd zijn. Hierbij hebben we gebruik gemaakt

van de bloedmonsters van de personen uit de vaccinatie studie van hoofdstuk 2. Tevens hebben we gekeken hoe de verdeling in grootte is van de specifieke IgA respons na de mucosale en subcutane vaccinatie. Het is immers zo dat met name pIgA in de nieren neerslaat. Het blijkt dat zowel IgAN patienten als ook gezonde personen tijdens een primaire immuun respons voornamelijk pIgA produceren. Dit geldt voor de beide vormen van immunisatie. Deze studie is de eerste studie die het mogelijk maakt om de grootteverdeling van IgA moleculen na verschillende vormen van immunisatie met elkaar te vergelijken. Tussen beide groepen kunnen geen verschillen in grootteverdeling van het antigeen specifieke IgA worden aangetoond. Aangezien slechts een klein deel van het IgA uit het bloed neerslaat in de nieren is het goed mogelijk dat aanwezige subtiele verschillen in grootteverdeling van het IgA, niet gevonden zijn doordat de gebruikte methodes tekort schieten.

Hoofdstuk 7 beschrijft een ander belangrijk aspect van IgAN, namelijk de glycosylering (besuikering) van het IgA molecuul. In vele studies is inmiddels aangetoond dat de glycosylering een belangrijke rol speelt bij het ontstaan van IgAN. Patiënten met IgAN hebben IgA dat anders geglycosyleerd is in vergelijking met controle personen. Dit IgA heeft een verhoogde neiging tot complex vorming. Bovendien bevatten de neerslagen van IgA met name dit afwijkend geglycosyleerde IgA. Recent is er onderzoek gedaan naar enzymen die betrokken zijn bij dit glycosylerings proces. Het blijkt dat de aanwezigheid van deze enzymen en ook de gen expressie van deze enzymen niet verschillend is tussen patiënten en controles. Het is belangrijk te beseffen dat slechts een deel van het IgA van IgAN patiënten afwijkend geglycosyleerd is. Welke factoren bepalen hoe de glycosylering verloopt en welke factoren verantwoordelijk zijn voor het feit dat een deel van het IgA afwijkend geglycosyleerd is blijft nog onduidelijk.

Het bovenstaande toont aan dat bij IgAN patiënten gezocht moet worden naar afwijkingen in het immuunsysteem. Het onderzoek, zoals beschreven in dit proefschrift heeft zich gericht op de immuunrespons bij patiënten met IgAN, omdat met name de afwijkingen in de immuun respons van invloed kunnen zijn op het ontstaan van een verhoogde concentratie van afwijkend IgA in het bloed en daarmee van invloed kunnen zijn op het ontstaan van IgAN. Daar

het immuunsysteem een uitermate complex systeem is, waarbij vele eiwitten betrokken zijn en waarbij nog steeds nieuwe eiwitten en signaleringsroutes ontdekt worden, moge duidelijk zijn dat het oplossen van de pathogenese van IgAN een moeilijke zaak is, die verdergaand onderzoek noodzakelijk maakt

