



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Immune regulation by receptors for IgG

Boross, P.

Citation

Boross, P. (2009, June 4). *Immune regulation by receptors for IgG*.
Gildeprint, Enschede. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13824>

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/1887/13824>

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

Supplements



Summary

In the present thesis the role of murine Fc γ R in autoimmune diseases is analyzed with special focus on arthritis and lupus. Series of studies performed with a variety of arthritis models established in mice deficient for one or more Fc γ R provided direct evidence for a prominent role of Fc γ R in arthritis (Chapter 2). However, the precise contribution of the individual members of the Fc γ R gene family, Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, Fc γ RIV, to joint pathology is not fully understood. In this thesis we show by using Fc γ RI and Fc γ RIII KO mice that Fc γ RI and Fc γ RIII can fully compensate for each other in the development of collagen-induced arthritis (CIA). Our observation that destructive arthritis develops in Fc γ RI/II/III knockout (KO) mice but not in Fc γ RII /Fc γ R KO mice (deficient for all Fc γ R) provides for the first time strong indications that Fc γ RIV alone can be sufficient to drive the downstream antibody effector pathways that induce arthritis pathology (Chapter 3).

During passive Immune Complex (IC)-induced experimental arthritis Fc γ RIII mainly regulates onset and degree of joint inflammation, whereas Fc γ RI is predominantly involved in mediating severe cartilage damage. Local over-expression of IFN γ in Fc γ RI KO mice enhances inflammation but not severe cartilage damage. In Chapter 4 we show, using Fc γ RIII KO mice, that in IFN γ -accelerated IC-induced experimental arthritis Fc γ RI can take over the role of Fc γ RIII in mediating enhanced joint inflammation.

We have confirmed that Fc γ RIIB plays an important negative regulatory role in both the central and effector phase of arthritis (Chapter 3). In addition, we have shown that in Fc γ RI/III KO mice, Fc γ RIIB can act as a potent endocytic receptor and can reduce joint inflammation by IC-clearance during the development of arthritis (Chapter 5). These results with different murine arthritis models established in different combinations of Fc γ R KO mice provide new insights into the complex role of Fc γ Rs during the development of arthritis.

The precise contribution of Fc γ RIIB to the development of autoimmunity has been a matter of debate in the last decade. It has been suggested that 129-derived loci closely linked to the Fc γ RIIB gene may contribute to the strong autoimmune phenotype of Fc γ RIIB KO mice generated by gene targeting in 129-derived ES cells and subsequently backcrossed on C57Bl/6 background (Fc γ RIIB₁₂₉^{-/-} mice). In Chapter 6, we provide for the first time, direct evidence that Fc γ RIIB on its own plays a limited role in the development of spontaneous autoimmunity in C57Bl/6 mice. Fc γ RIIB_{B6}^{-/-} mice, generated on full C57Bl/6 background, exhibited a milder (non-lethal) autoimmune phenotype compared to Fc γ RIIB₁₂₉^{-/-} mice. However, our data suggest that impaired Fc γ RIIB function has the potential to amplify the development of lupus-like autoimmune disease, when combined with other loci associated with autoimmunity, such as the 129-derived Sle1 region. Fc γ RIIB_{B6}^{-/-} mice still lack both a negative feedback loop on the antibody production of B cells and a negative control of Fc γ R-mediated antibody effector pathways. Importantly, Fc γ RIIB_{B6}^{-/-} mice remained susceptible for the induction of CIA. All together these data enabled us redefine the intrinsic role of Fc γ RIIB in autoimmunity. We conclude that the role of Fc γ RIIB in the development of spontaneous autoimmunity (Systemic Lupus Erythematosus) is more restricted as originally postulated on the basis of the phenotype of Fc γ RIIB₁₂₉^{-/-} mice, whereas its role in induced autoimmunity (CIA) is prominent supporting the hypothesis that Fc γ RIIB represents a late checkpoint in B cell tolerance.

In Chapter 7 we describe the generation and characterization of a novel B cell-specific inducible Cre transgenic mouse line. The conditional knockout models for Fc γ RIIB and inducible B cell-specific Fc γ RIIB_{B6}^{-/-} mice enable detailed *in vivo* analysis of Fc γ RIIB function. The results presented in this thesis provide new insights in the role of Fc γ Rs in protective immunity and immuno-pathology; thereby support the design of new therapeutic interventions.

Nederlandse samenvatting

In dit proefschrift worden de resultaten beschreven van onderzoek naar de rol van de receptoren voor IgG, Fcγ receptoren (FcγR) in de ontwikkeling van de auto-immuunziekten artritis (reuma) en lupus (SLE) in muizen. Studies waarbij gebruik werd gemaakt van verschillende artritis modellen in muizen met genetisch geïnactiveerde FcγR (FcγR knockout muizen) leverden een direct bewijs voor een belangrijke rol voor FcγR in artritis (Hoofdstuk 2). Het is echter onduidelijk wat de afzonderlijke bijdrage is van de individuele leden van de FcγR genfamilie, FcγRI, FcγRII, FcγRIII, FcγRIV in de pathologie in het gewricht. In dit proefschrift, wordt met behulp van FcγRI en FcγRIII knockout (KO) muizen aangetoond dat FcγRI en FcγRIII elkaars rol in de pathologie van collageen-geïnduceerde artritis (CIA) volledig kunnen overnemen. De waarneming dat destructieve artritis zich kan ontwikkelen in FcγRI/II/III KO muizen maar niet in FcγRII/FcR γ keten KO muizen (missen alle bekende FcγR) levert voor de eerste keer een sterke aanwijzing dat de aanwezigheid van FcγRIV alleen voldoende is om met behulp van auto-antilichamen een reeks processen in gang te zetten die tot de pathologie in artritis leiden (Hoofdstuk 3).

Tijdens passieve immuun-complex (IC)-geïnduceerde artritis, blijkt FcγRIII vooral van belang voor de eerste aanzet van het ziekteproces en de mate van ontsteking in het gewricht, terwijl FcγRI een grote rol speelt bij het ontstaan van kraakbeenschade. Locale over-expressie van IFNγ in FcγRI KO muizen resulteert, ondanks toenemende ontsteking, niet in ernstige kraakbeenschade. In Hoofdstuk 4 wordt met behulp van FcγRIII KO muizen aangetoond dat in IFNγ-versnelde IC-geïnduceerde artritis, FcγRI de rol van FcγRIII kan overnemen in het induceren van gewrichtsontsteking.

De in dit proefschrift beschreven resultaten bevestigen de belangrijke remmende regulerende rol van FcγRIIB in zowel de vroege als late fase van artritis (Hoofdstuk 3). Bovendien kon in FcγRI/III KO muizen worden aangetoond dat in IC-geïnduceerde artritis FcγRIIB sterk kan bijdragen aan de vermindering van de ontsteking in de gewrichten omdat binding van de IC aan deze receptor resulteert in efficiënte opname (endocytose) en dus verwijdering van de IC (Hoofdstuk 5). Al deze resultaten met diverse muismodellen van artritis in verschillende combinaties van FcγR KO muizenstammen hebben geleid tot nieuwe inzichten in de complexe rol van de verschillende leden van de FcγR gen familie in artritis.

Op basis van waarnemingen met FcγRIIB KO muizen is gepostuleerd dat FcγRIIB een centrale rol speelt in de ontwikkeling van auto-immuniteit. Deze hypothese is echter in de afgelopen jaren in toenemende mate ter discussie komen te staan. De tot nu toe beschikbare FcγRIIB KO muizen zijn gemaakt door het gen te muteren in ES cellen afkomstig van de inteeltstam 129 en zijn vervolgens teruggekruist op de C57Bl/6 achtergrond (FcγRIIB₁₂₉^{-/-} muizen). In deze muizen ontwikkelen zich spontaan zeer ernstige auto-immuun ziekten en kunnen gemakkelijk auto-immuunziekten worden opgewekt zoals collageen geïnduceerde artritis. Met recent genetisch onderzoek zijn aanwijzingen gevonden dat loci afkomstig van het 129 genoom, die naast het FcγRIIB gen liggen (o.a. het SLE1 locus) en bij het terugkruisen mee overerven met het gemuteerde FcγRIIB gen, een substantiële bijdrage zouden kunnen leveren aan het sterke auto-immune fenotype van de FcγRIIB₁₂₉^{-/-} muizen. In Hoofdstuk 6, wordt voor het eerst aangetoond dat in zuivere C57Bl/6 muizen afwezigheid van FcγRIIB een beperkte bijdrage levert aan de ontwikkeling van spontane auto-immuniteit. FcγRIIB_{B6}^{-/-}

muizen, gemaakt op volledig C57Bl/6 achtergrond, lieten een mild (niet-lethaal) auto-immuun fenotype zien in vergelijking met FcγRIIB₁₂₉^{-/-} muizen. Deze data suggereren dat een verstoorde FcγRIIB functie de ontwikkeling van een lupus-achtig auto-immuun ziekte kan bevorderen wanneer andere loci, geassocieerd met autoimmunitet, zoals bijvoorbeeld het van 129 muizen afkomstige Sle1 locus, ook aanwezig zijn. Overigens missen de FcγRIIB_{B6}^{-/-} muizen de negatieve feedback regulatie op antilichaam productie in B cellen en de negatieve controle van FcγR-gemedieerde antilichaam effector functies en zijn ze in deze eigenschappen niet van de FcγRIIB₁₂₉^{-/-} muizen te onderscheiden. Met deze resultaten kon de intrinsieke rol van FcγRIIB in auto-immunitet opnieuw worden gedefinieerd. De rol van FcγRIIB in de ontwikkeling van spontane auto-immuun ziekten (Systemic Lupus Erythematosus) is beperkter dan tot op heden op basis van het fenotype van de FcγRIIB₁₂₉^{-/-} muizen werd aangenomen. De prominente rol van FcγRIIB in geïnduceerde auto-immuun ziekten ondersteunt de hypothese dat FcγRIIB een laat 'check point' vertegenwoordigt in B cel tolerantie.

In Hoofdstuk 7, wordt het maken en karakteriseren van een nieuwe B cel specifieke induceerbare Cre transgene muislijn beschreven. De conditionele celtype specifieke KO muizen modellen voor FcγRIIB en de induceerbare B cel-specifieke FcγRIIB_{B6}^{-/-} muizen zullen een gedetailleerde *in vivo* analyse van de biologische functie van FcγRIIB mogelijk maken.

De resultaten beschreven in dit proefschrift hebben geleid tot nieuwe inzichten in de rol van FcγR in zowel bescherming (immunitet) als in de immuun-pathologie van ziekten, en zullen daarmee bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe strategieën voor therapeutisch interventies bij ziekten waarin (auto-) antilichamen een belangrijke rol spelen.

Curriculum vitae

- Name: Péter Boross
- Date of birth: August 19, 1977
- Place of birth: Budapest, Hungary
- 1991 – 1995 High school: Trefort Ágoston Gyakorló Gimnázium, Budapest, Hungary
- 1995 – 2001 MSc in biology, major in Molecular Biology
Eötvös Loránd Science University, Budapest, Hungary
Master thesis supervisors: Dr. Zsuzsa Bajtay and Prof. Dr. Anna Erdei
- 2001 – 2007 Ph.D. student
Department of Human Genetics, Leiden University Medical Center,
Leiden, the Netherlands
Promotors: Prof. Dr. Gert-Jan van Ommen, Prof. Dr. Tom Huizinga
Copromotor: Dr. Sjef Verbeek
- 2007 – Postdoctoral fellow
Department of Immunology, Utrecht Medical Center, Utrecht
Supervisors: Dr. Jeanette Leusen and Prof. Dr. Jan van de Winkel

List of publications

Coordinate expression of activating Fcγ receptors I and III and inhibiting Fcγ receptor type II in the determination of joint inflammation and cartilage destruction during immune complex-mediated arthritis.

Nabbe KC, Blom AB, Holthuysen AE, Boross P, Roth J, Verbeek S, van Lent PL, van den Berg WB
Arthritis and Rheumatism, 2003, Jan;48(1):255-65.

The inhibitory receptor FcγRII reduces joint inflammation and destruction in experimental immune complex-mediated arthritides not only by inhibition of FcγRI/III but also by efficient clearance and endocytosis of immune complexes

van Lent P, Nabbe KC, Boross P, Blom AB, Roth J, Holthuysen A, Sloetjes A, Verbeek S, van den Berg WB
American Journal of Pathology, 2003, Nov;163(5):1839-48.

Joint inflammation and chondrocyte death become independent of Fcγ receptor type III by local overexpression of interferon-gamma during immune complex-mediated arthritis.

Nabbe KC, Boross P, Holthuysen AE, Sloetjes AW, Kolls JK, Verbeek S, van Lent PL, van den Berg WB
Arthritis and Rheumatism, 2005, Mar;52(3):967-74.

Effect of immune serum and role of individual Fcγ receptors on the intracellular distribution and survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in murine macrophages

Uppington H, Menager N, Boross P, Wood J, Sheppard M, Verbeek S, Mastroeni P.
Immunology, 2006, Oct;119(2):147-58.

The complex role of Fcγ receptors in the pathology of arthritis (Review)

Boross P, Verbeek JS
Springer Seminars in Immunopathology, 2006, Dec;28(4):339-50

Destructive arthritis in the absence of both FcγRI and FcγRIII

Boross P, van Lent PL, Martin Ramirez J., van der Kaa J, Mulder MHCM, Claassens JWC, van den Berg W, Arandhara V, Verbeek JS
Journal of Immunology, 2008, Apr 1;180(7):5083-91.

Highly B lymphocyte-specific tamoxifen inducible transgene expression of CreER^{T2} by using the LC-1 locus BAC vector

Boross P, Breukel C, Schönig K, van der Kaa J, Claassens JWC, Bujard H, Verbeek JS
Submitted

In C57Bl/6 mice Fc γ RIIB deficiency amplifies spontaneous autoimmunity caused by other loci

Boross P, Arandhara V, Martin-Ramirez J, Flierman R, Carlucci F, Santiago-Raber M-L, Rastaldi MP, Lubberts E, van der Kaa J, Breukel C, Mulder MHCM, Claassens JWC, Daha MR, Cook T, Izui S, Botto M, Verbeek JS

Manuscript in preparation



