

Az ellenanyagok orvos-biológiai alkalmazása

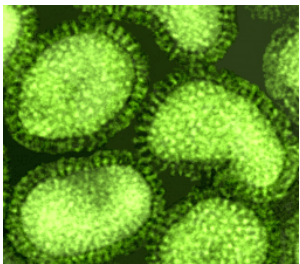
II. Az ellenanyagok metabolizmusa (génátrendeződés, izotípusváltás, affinitásérés, termelés, elimináció, megoszlás biológiai terekben)

Dr. Kacs Kovics Imre

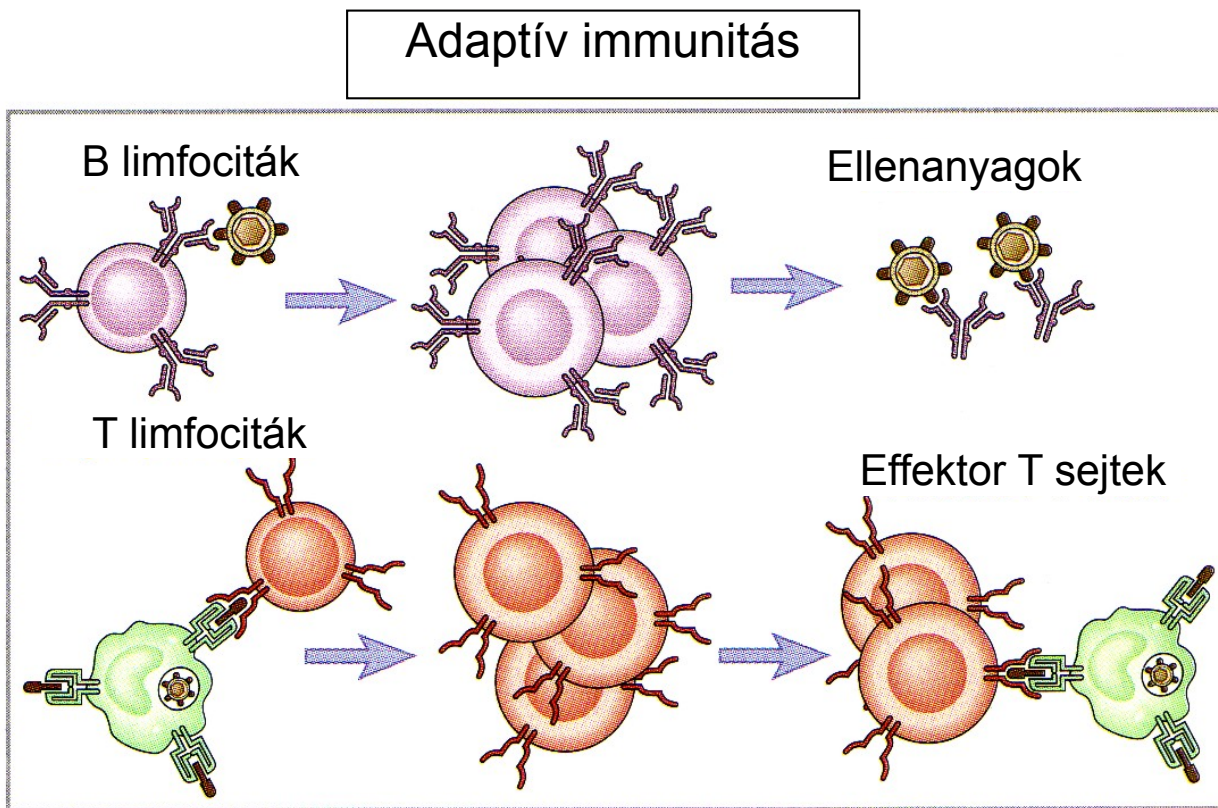
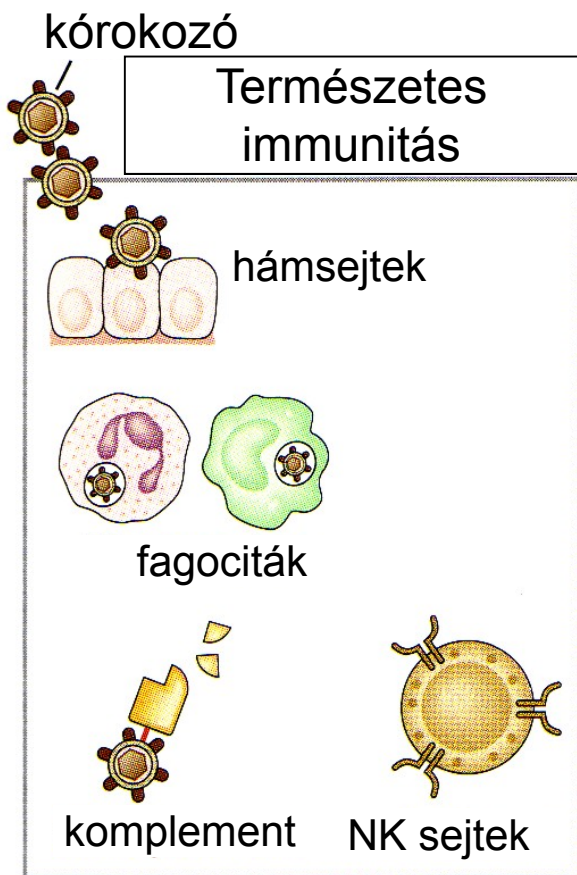
egyetemi docens

ELTE, TTK, Biológiai Intézet, Immunológiai Tanszék, Budapest
(ikacsko@elte.hu)

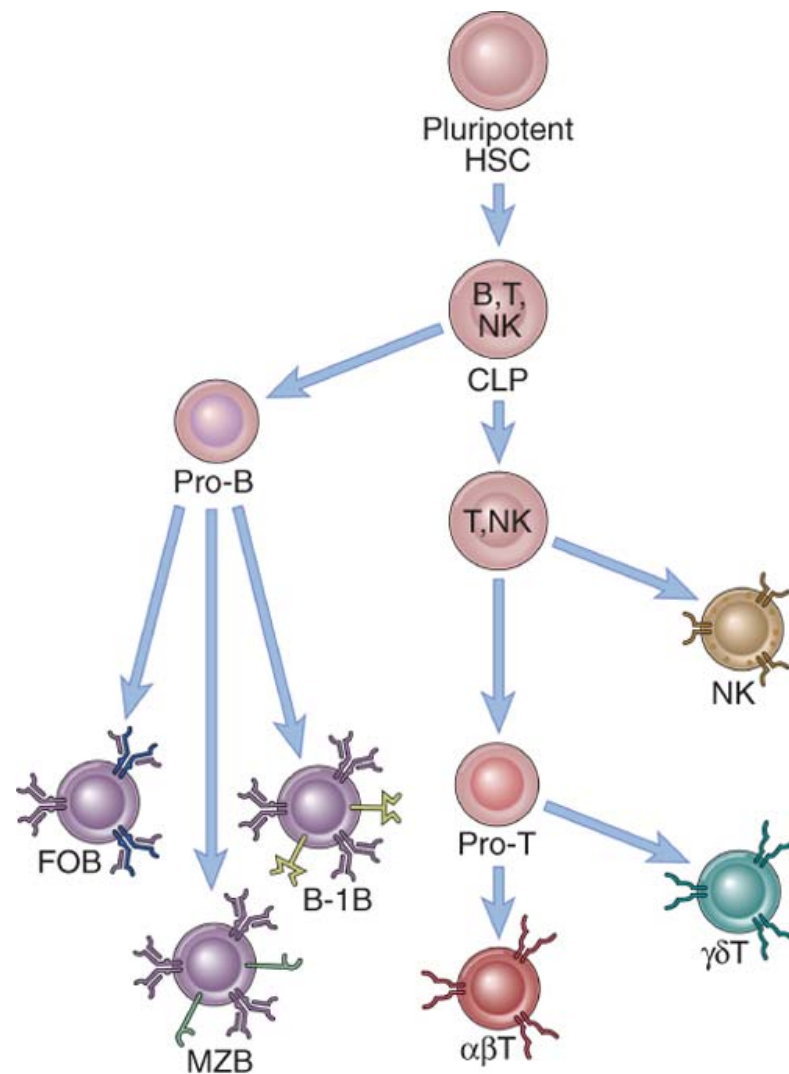




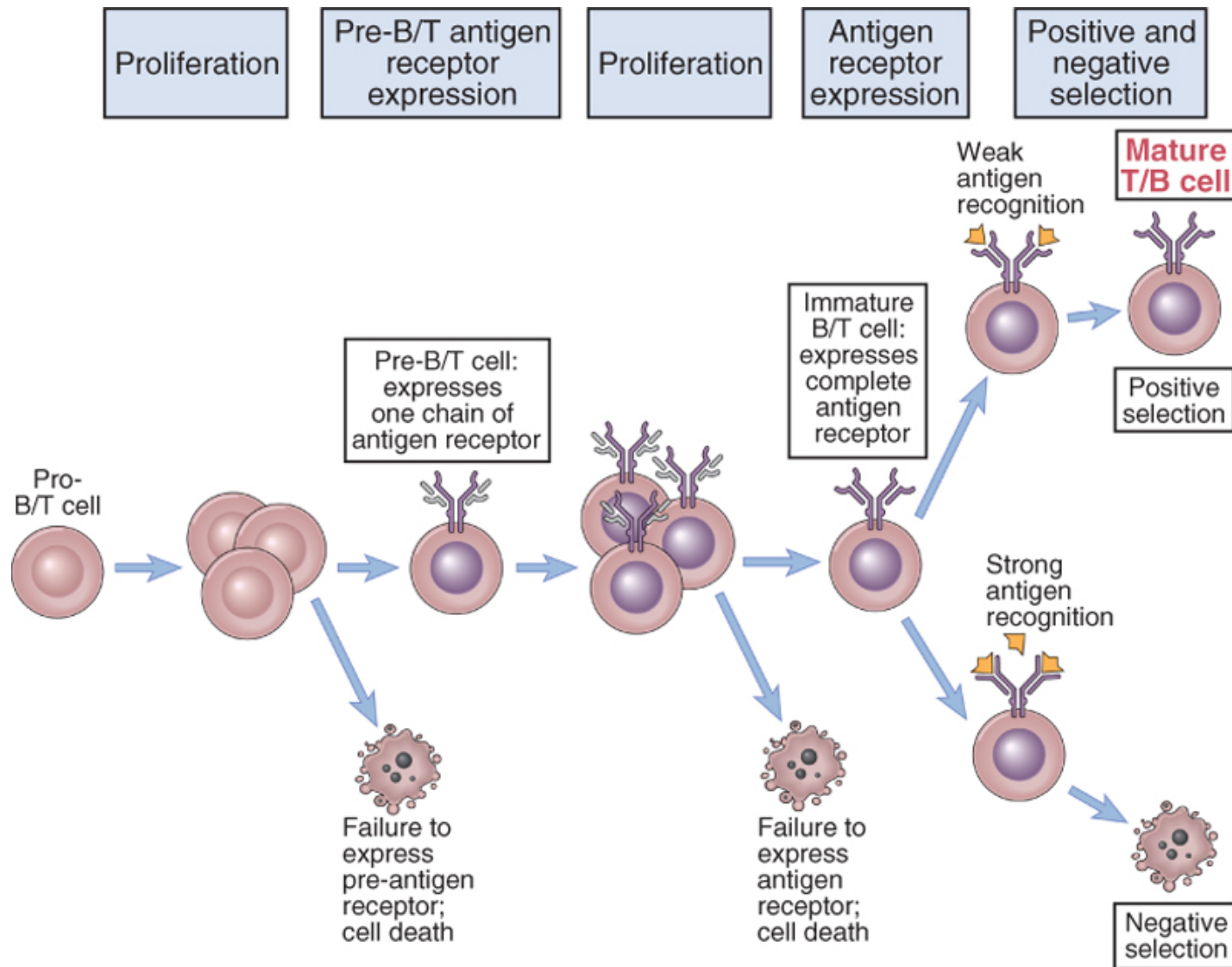
A természetes és az adaptív immunválasz

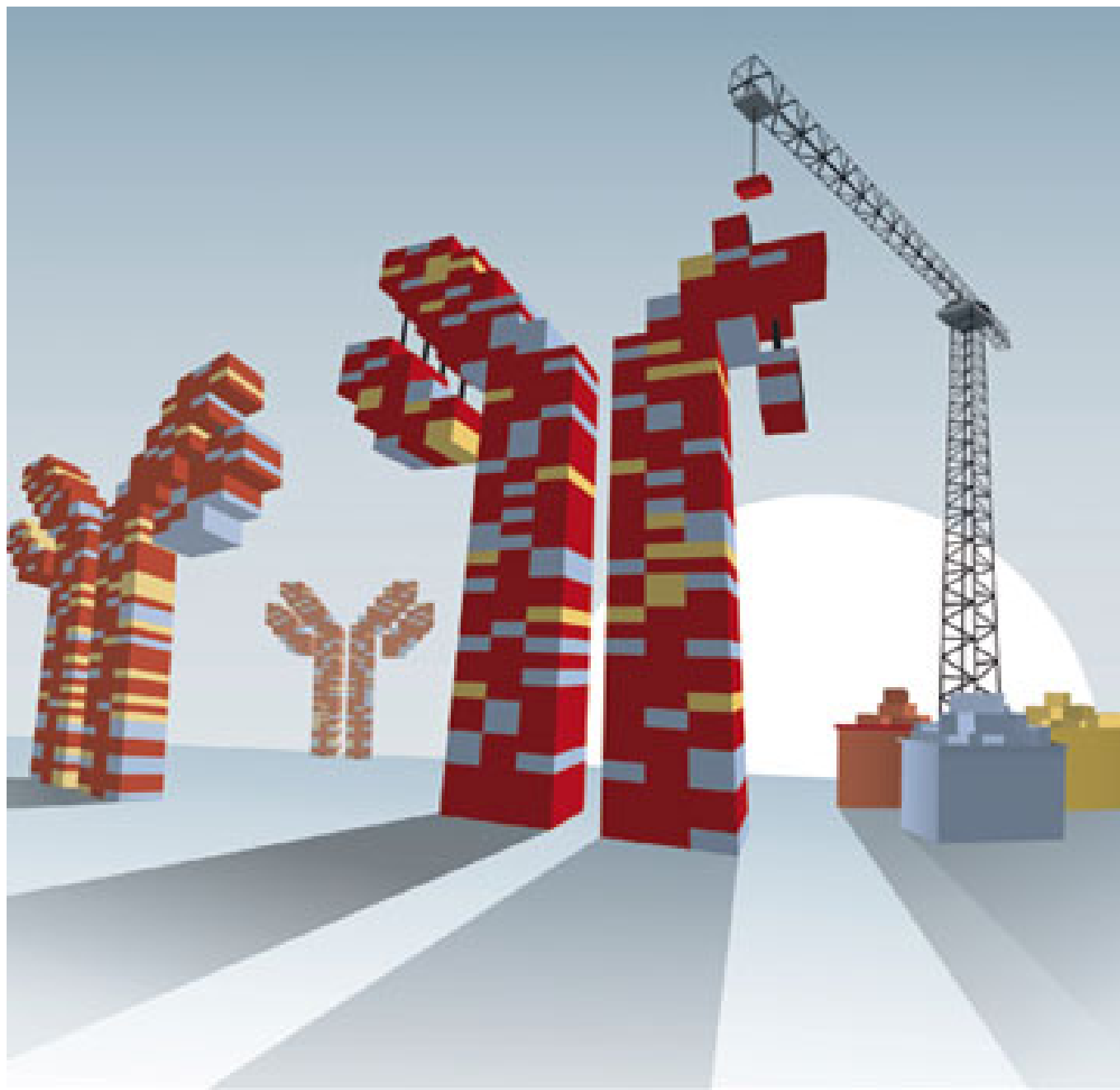


A pluripotens őssejtből származnak a különböző B- és T-limfocita populációk

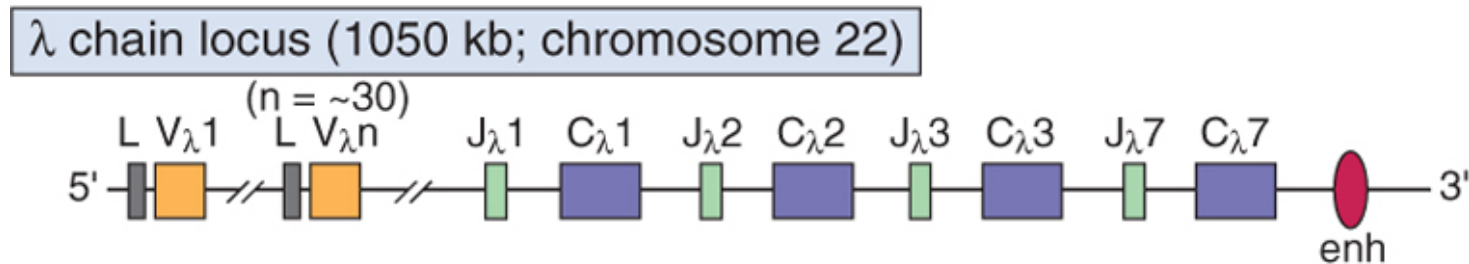
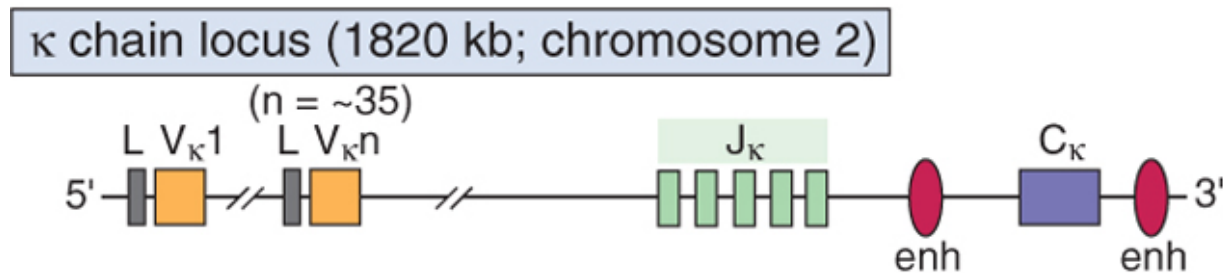
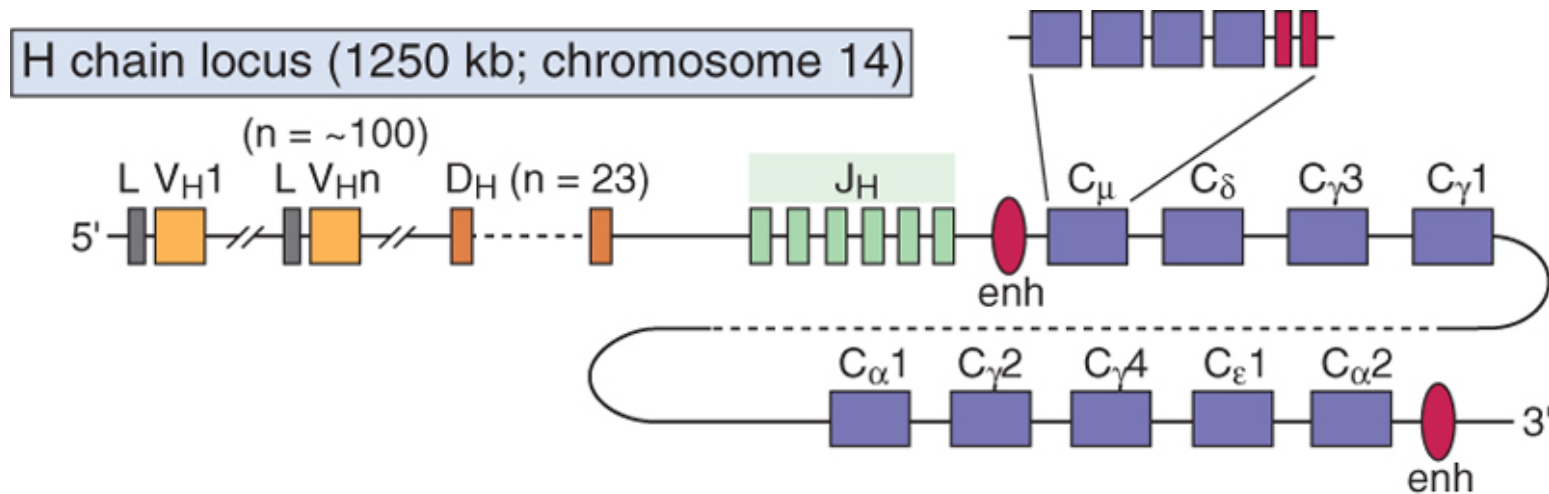


A limfocita érés fázisai

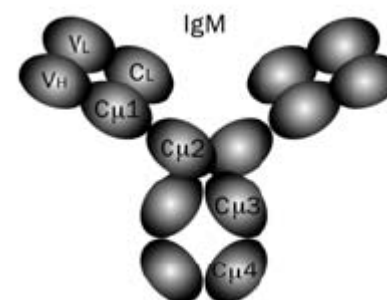
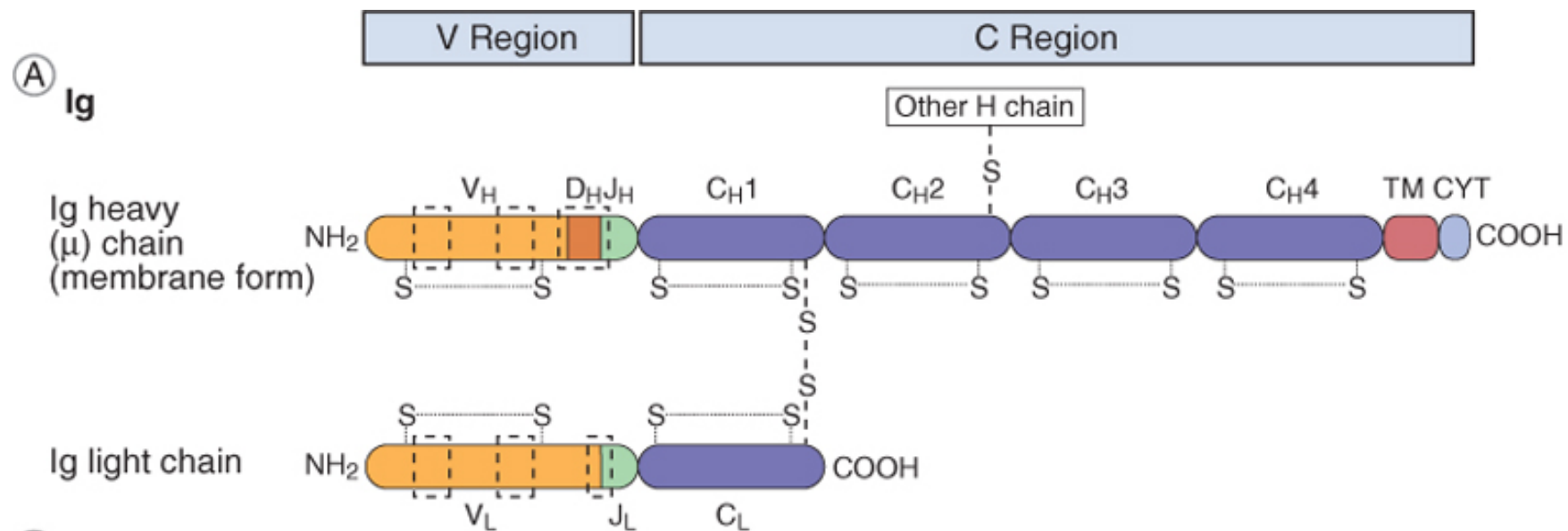




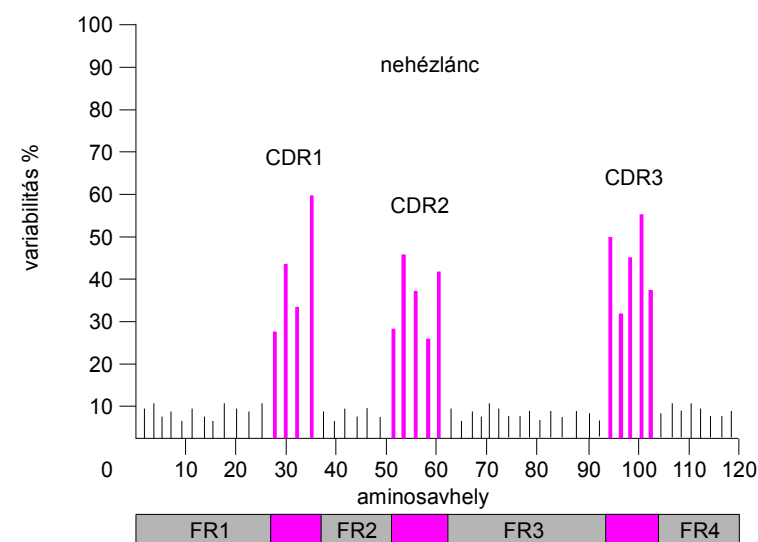
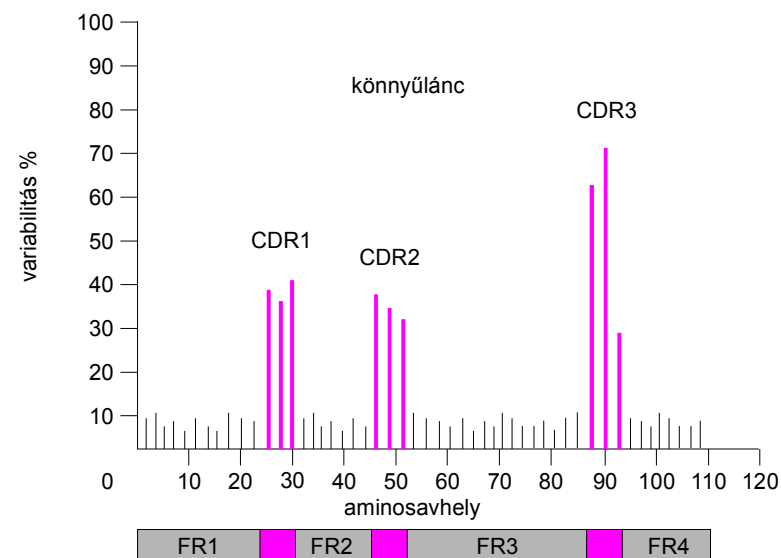
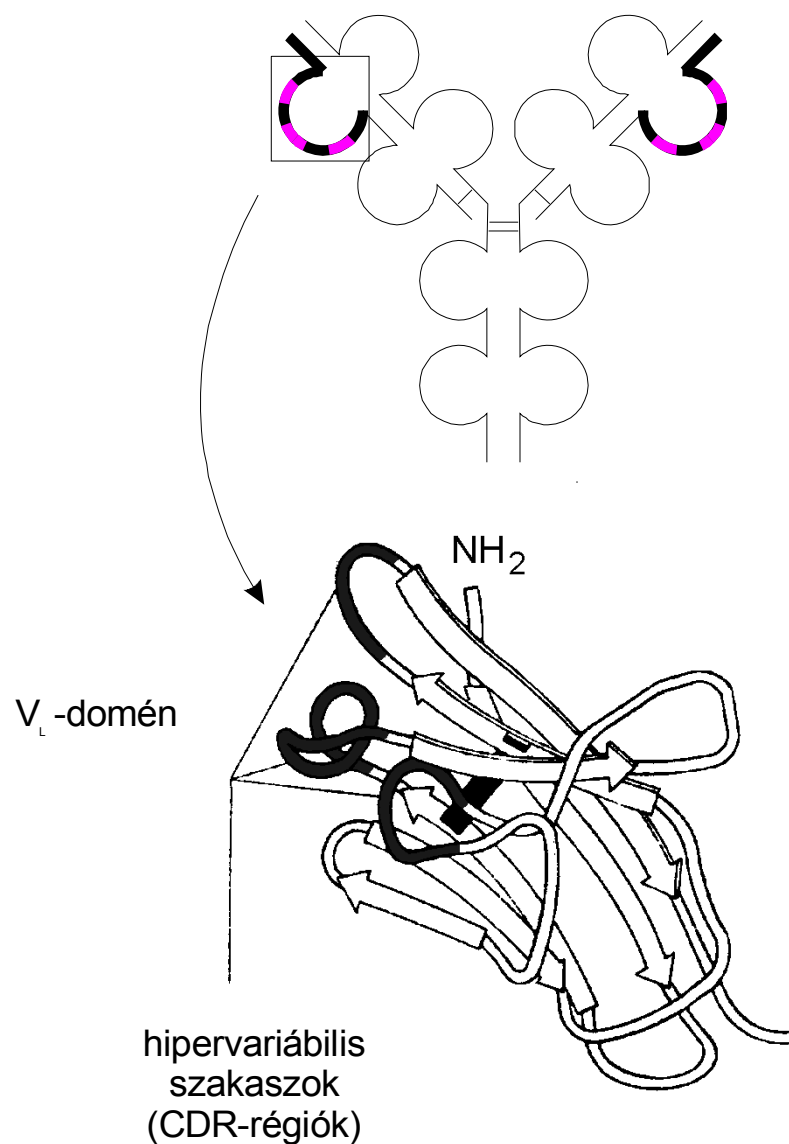
A humán Ig lókuszt szerkezete



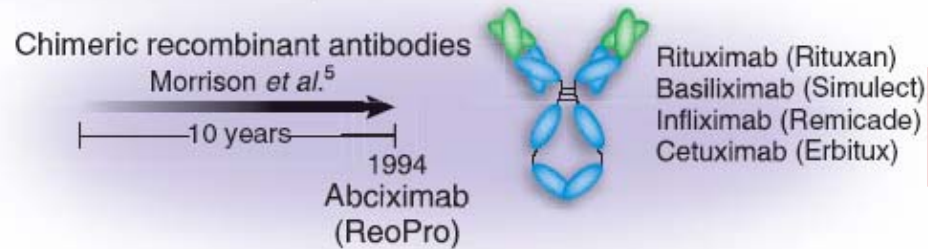
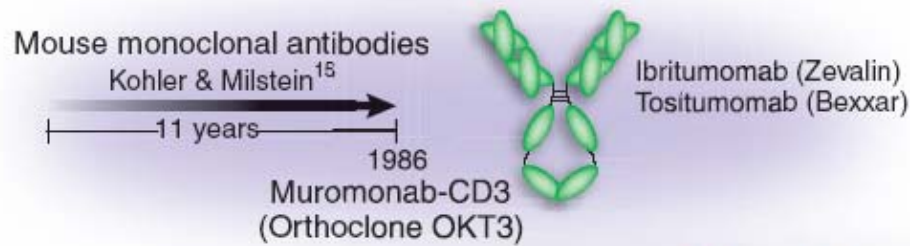
Az immunglobulin doméneket kódoló génszegmensek



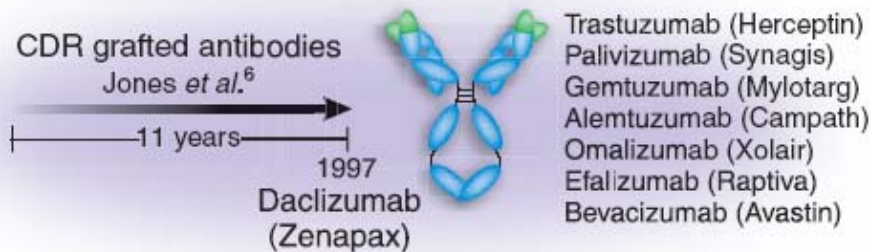
Az Ig-könnyűlánc hipervariábilis régióinak elhelyezkedése, CDR- és FR-szekvenciái



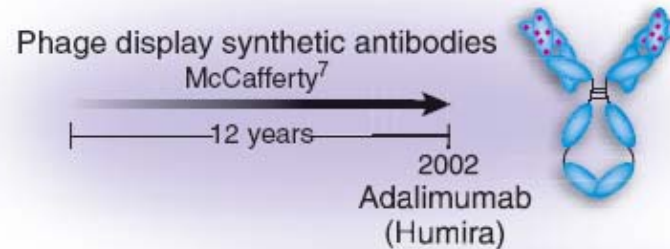
A humán terápiás ellenanyagok „evolúciója” és klinikai alkalmazásuk



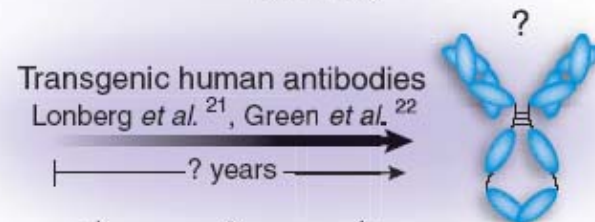
Infliximab: human anti-chimeric antibody = HACA
A betegek 8-61% (!)¹: klinikai hatékonyság, felezési idő
rövidülés, anaphylaxis



Certolizumab pegol (CIMZIA)
HACA: a betegek 8%-a²(alacsonyabb plazma konc.,
csökkent hatékonyság)

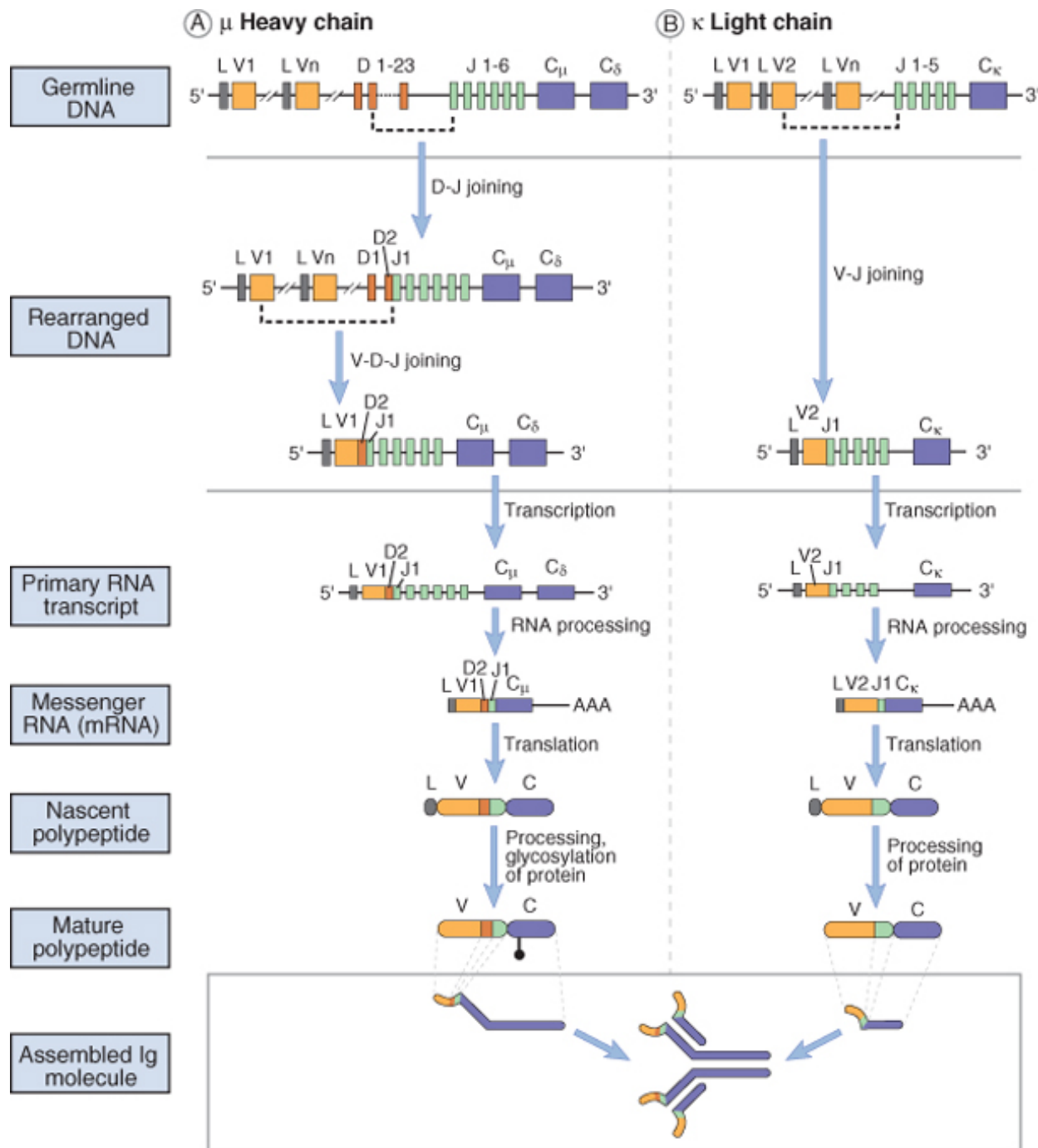


Adalimumab (Humira)
human anti-human antibody (HAHA):
a betegek 6%³; non-responderek: 35%, responder 5%



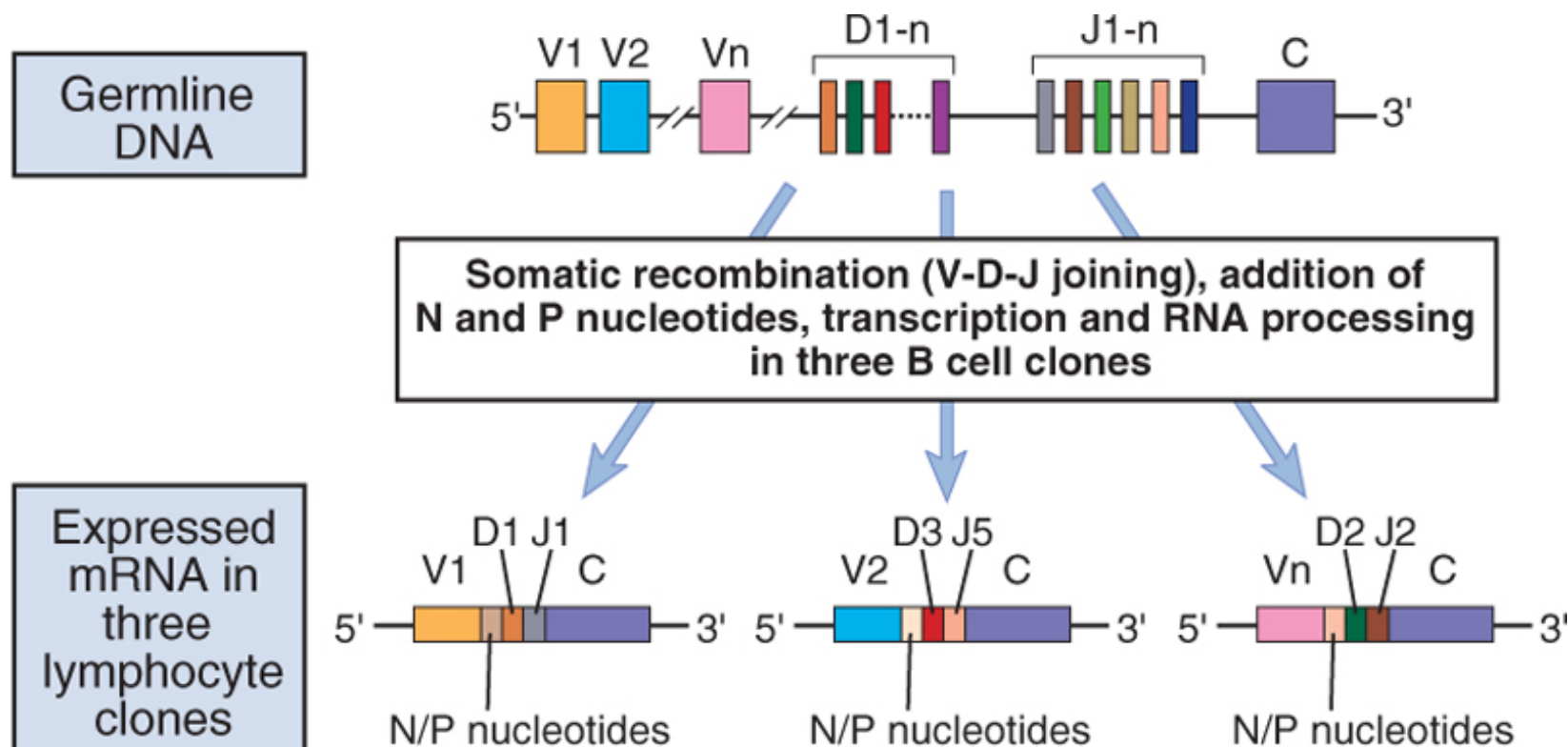
Panitumumab – EGFR (Abgenix/Amgen) 2006
Golimumab – TNF (Medarex/BMS) 2009 (HAHA: 6.5%⁴)
Canakinumab- IL-1b (Medarex/BMS) 2009
Ustekinumab – p40: IL12, IL-23 (Medarex/BMS) 2009
Ofatumumab – CD20 (Medarex/BMS) 2009
Denosumab – RANKL (Abgenix/Amgen), 2010



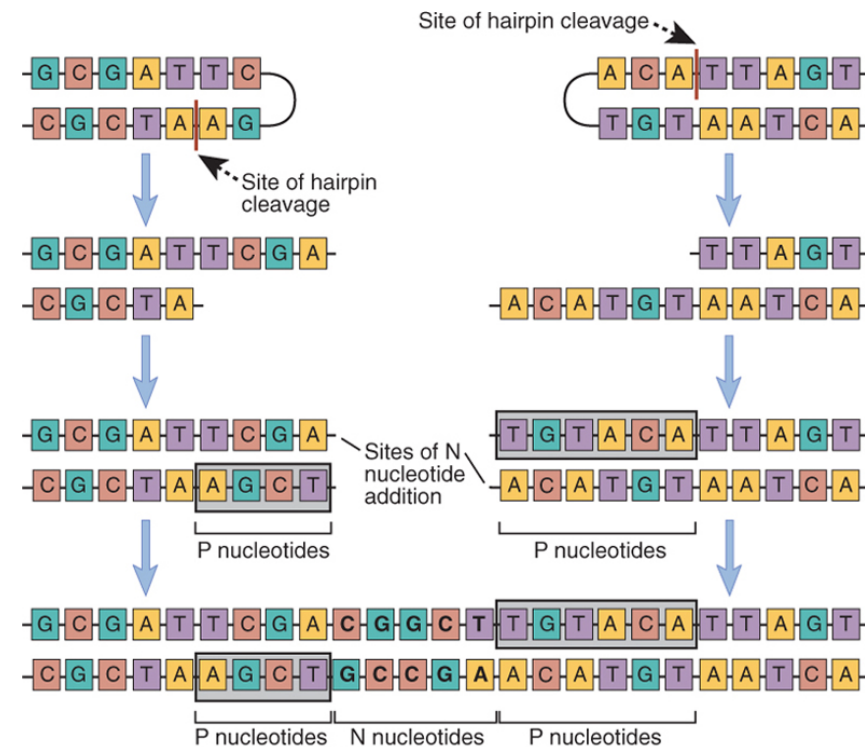
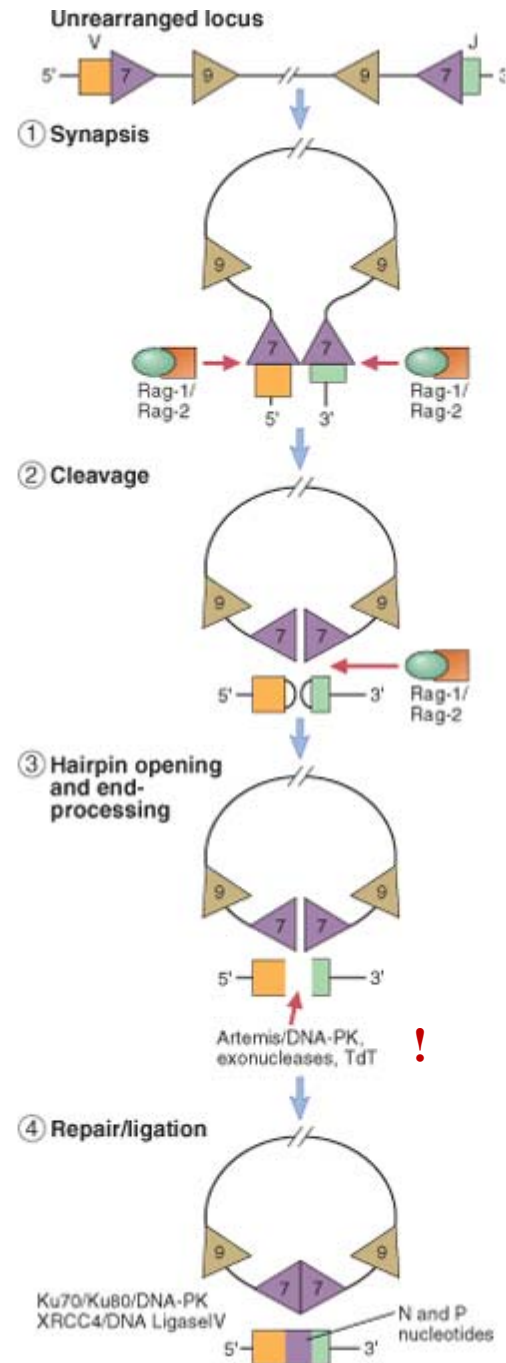


Az Ig nehéz- és könnyű láncának génrekombinációja és expressziója

Az antigén receptor gének diverzitásáért felelős mechanizmusok



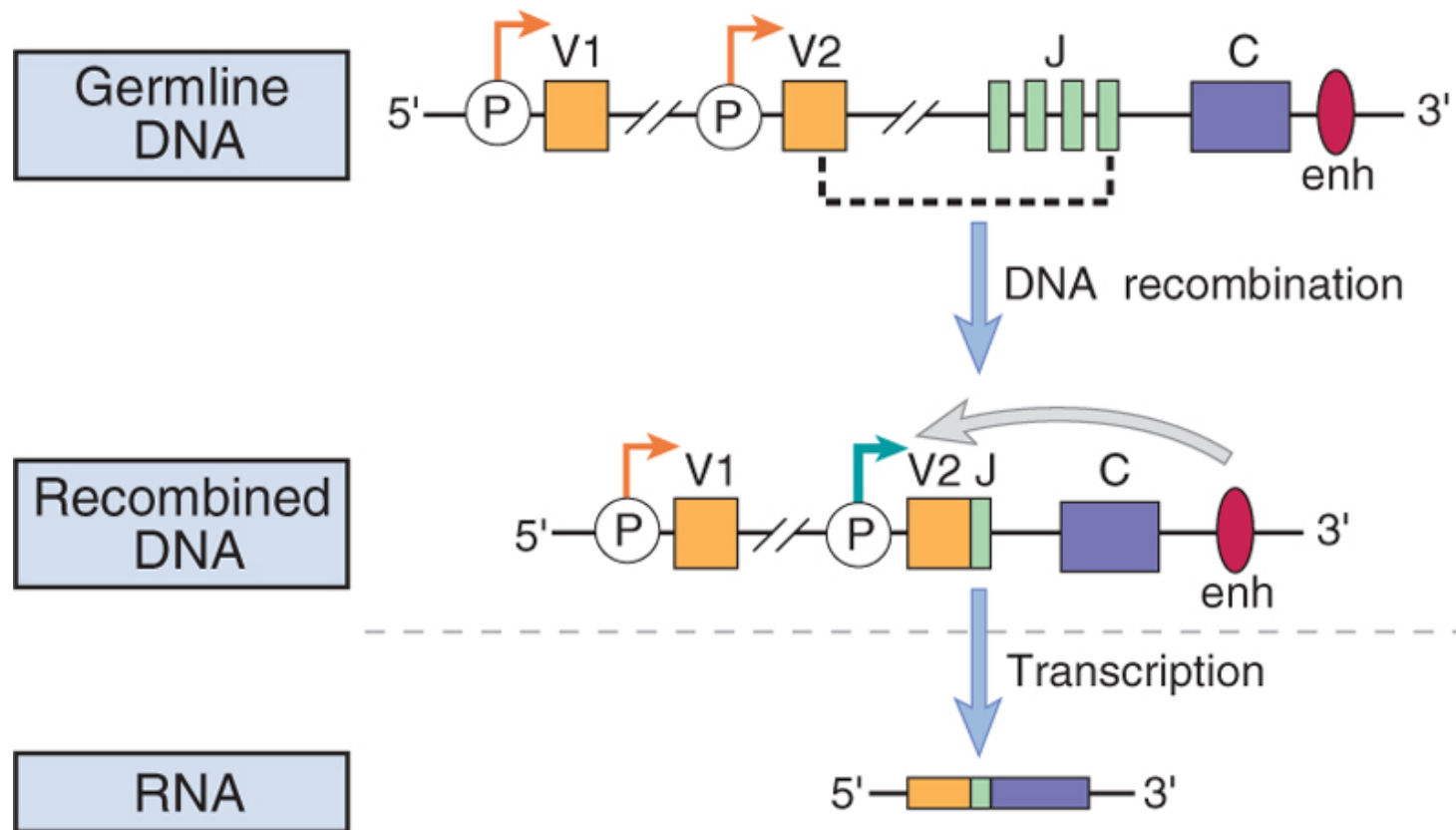
V(D)J rekombináció



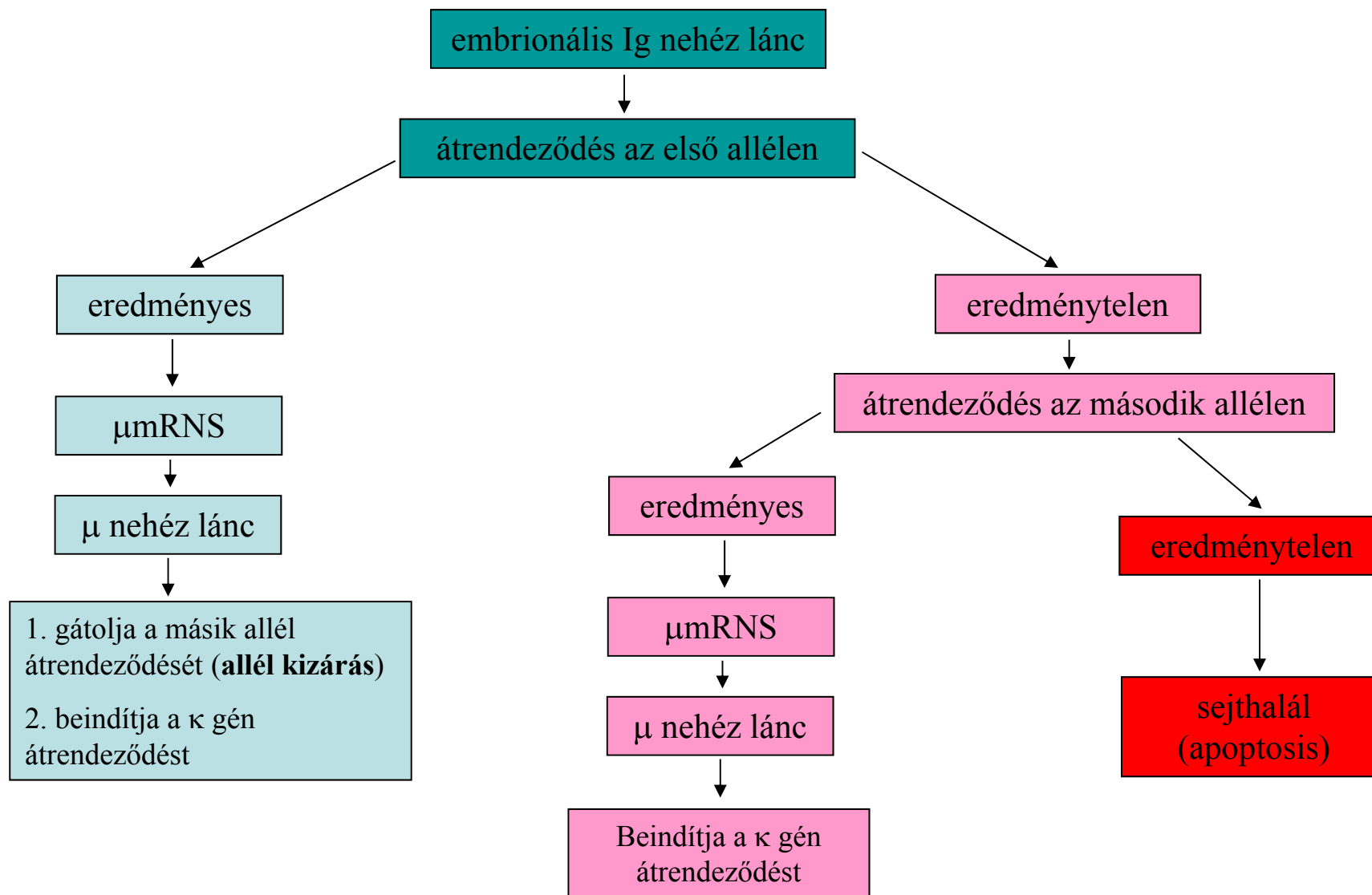
Egér ellenanyagok diverzitása
(csupán a rekombináció révén!)

	Gének száma		
	H-lánc	κ-lánc	λ-lánc
Csíravonal			
V-gén-szegmentum	250-1000	250	2
J-szegmentum	4	4	3
D-szegmentum	12	0	0
Kombinatorikus kapcsolódás	Kombinációk száma		
Vx(D)xJ	10000-40000	1000	6
H-L lánc kapcsolódás			
H x κ	1-4 x 10 ⁷		
H x λ	5-10 x 10 ⁴		
Teljes készlet	10 ⁹ -10 ¹¹		

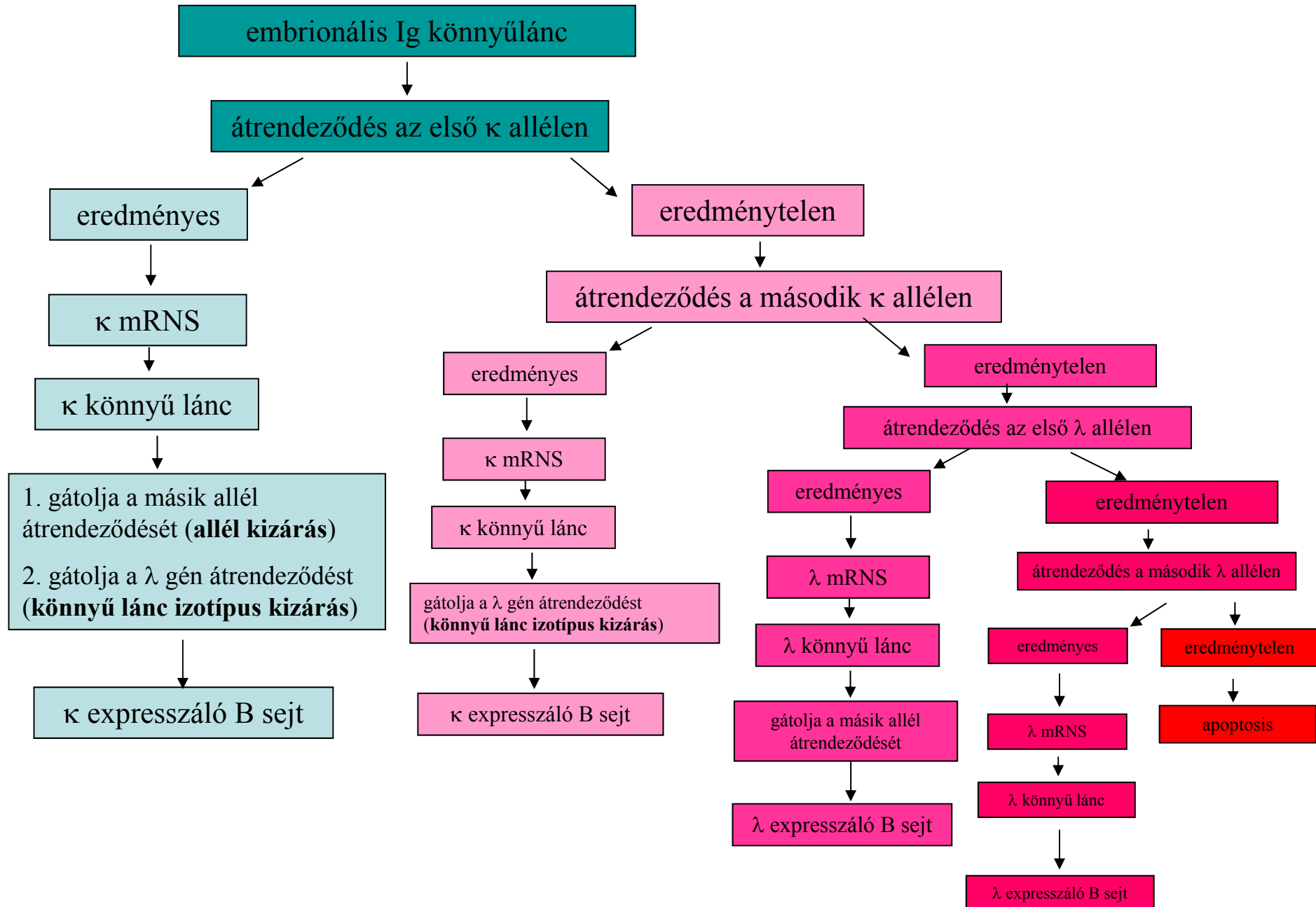
Az Ig gének transzkripció szabályozása – az „enhanszer” régió promoterhez viszonyított pozíciója szabályozza az átírást



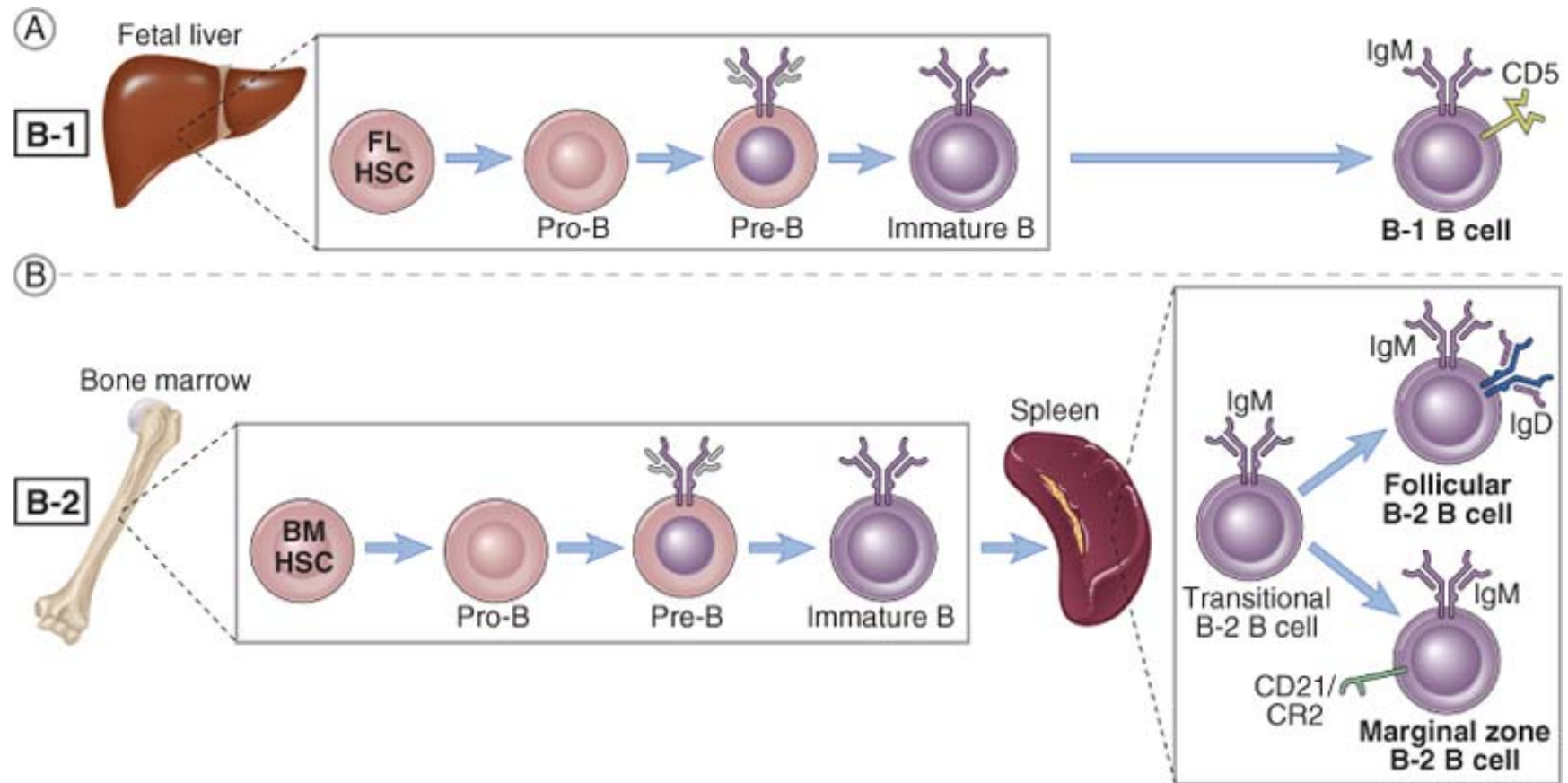
Az Ig nehézlánc (IgM) átrendeződésének és expressziójának sorrendje



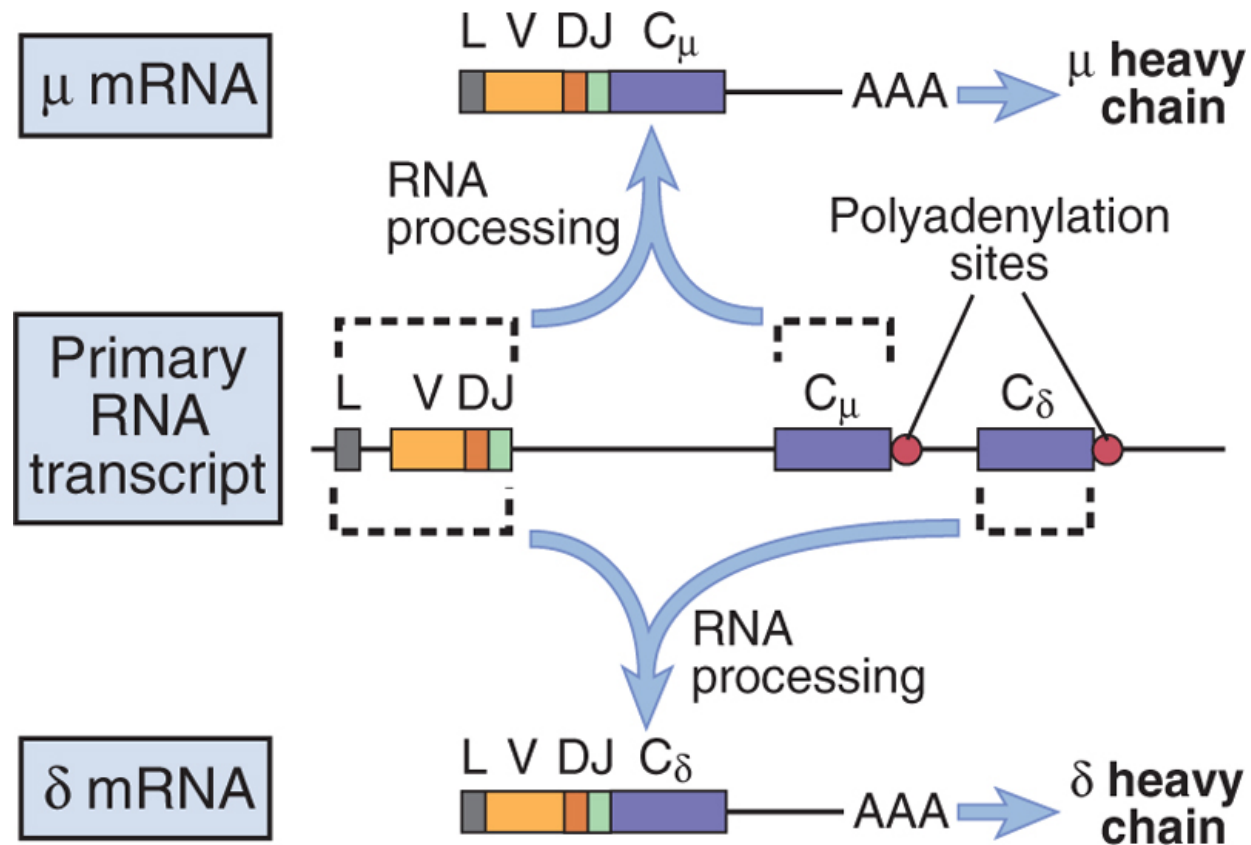
Az Ig könnyűlánc (κ és λ) átrendeződésének sorrendje



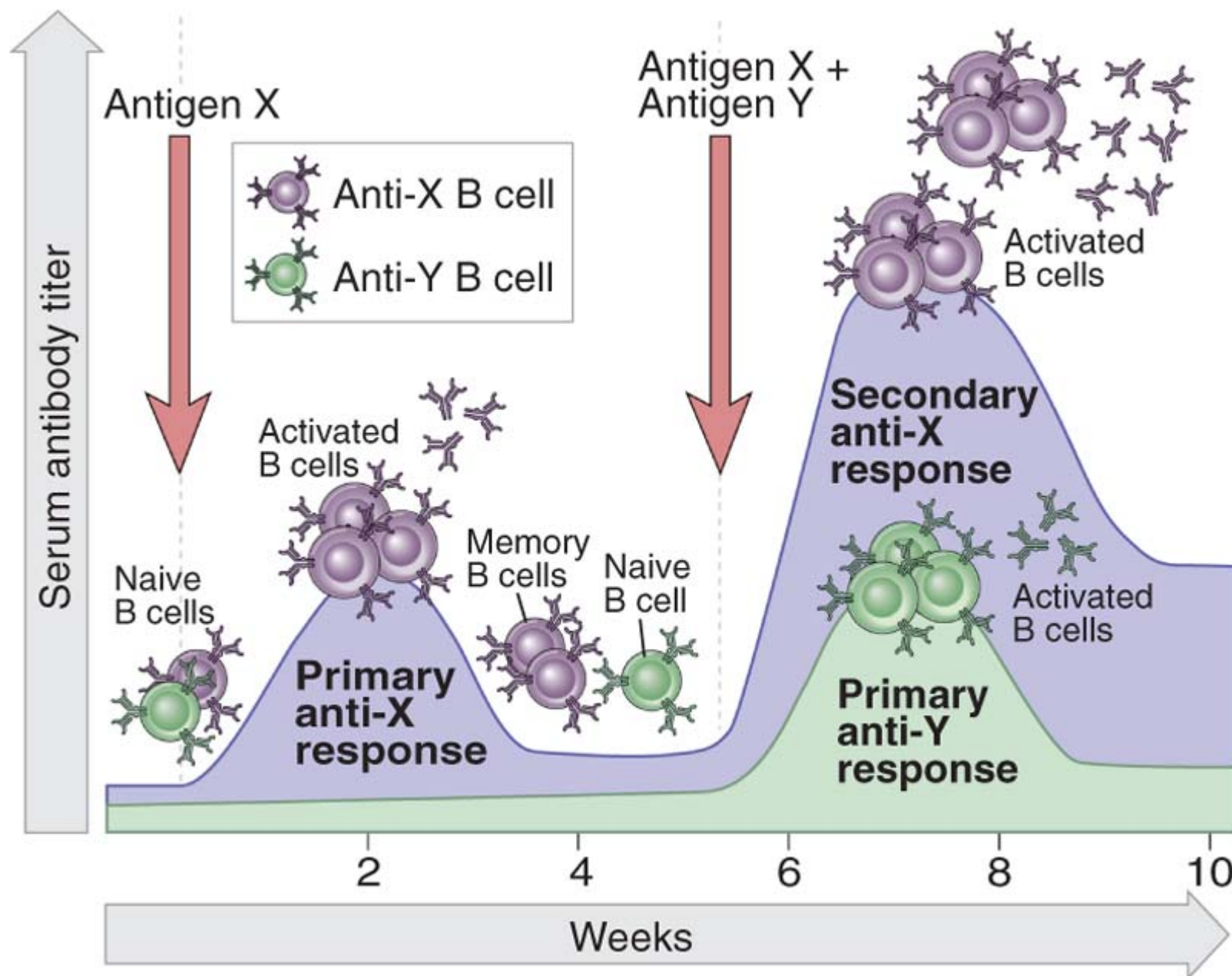
B-limfocita szubpopulációk kialakulása



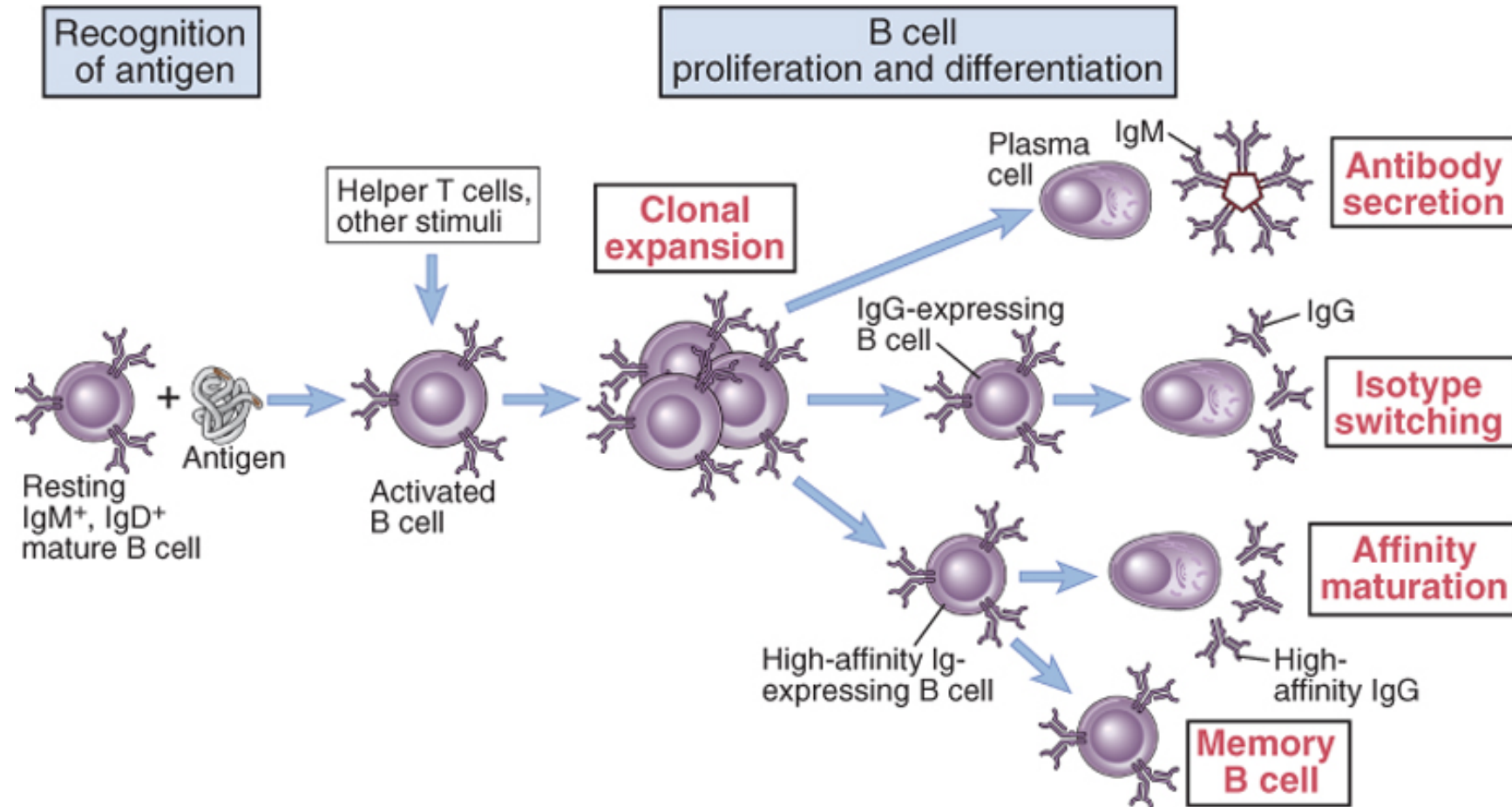
Az IgM és IgD együttes expressziója humán B limfocitákon

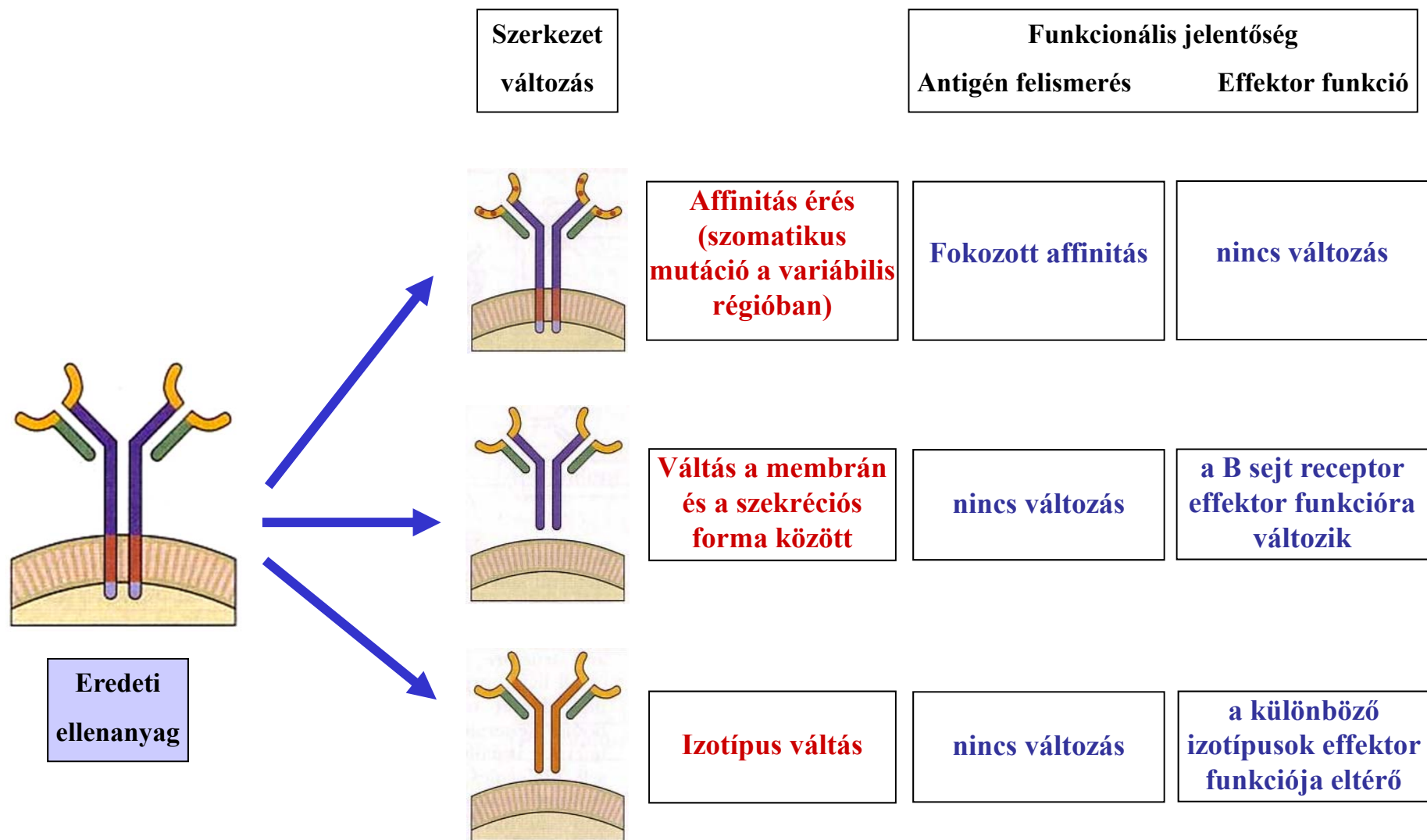


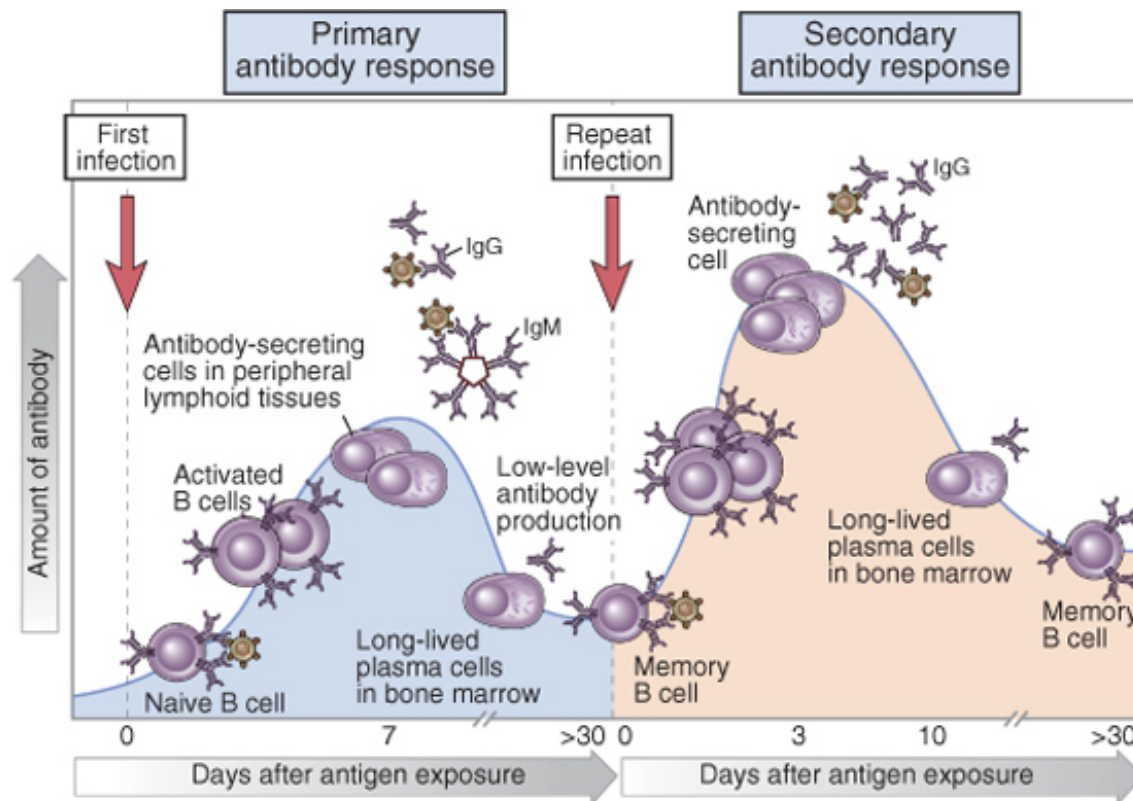
Az immunválasz specifikussága, memóriája és önkorlátozása



T-independent és T-dependens humorális immunválasz kialakulása



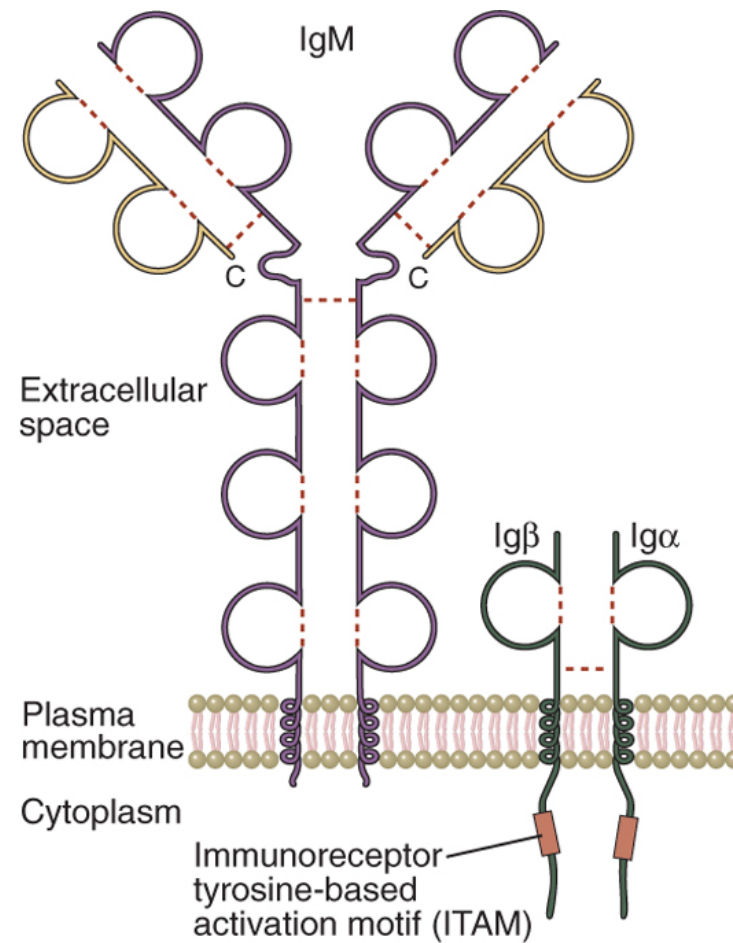




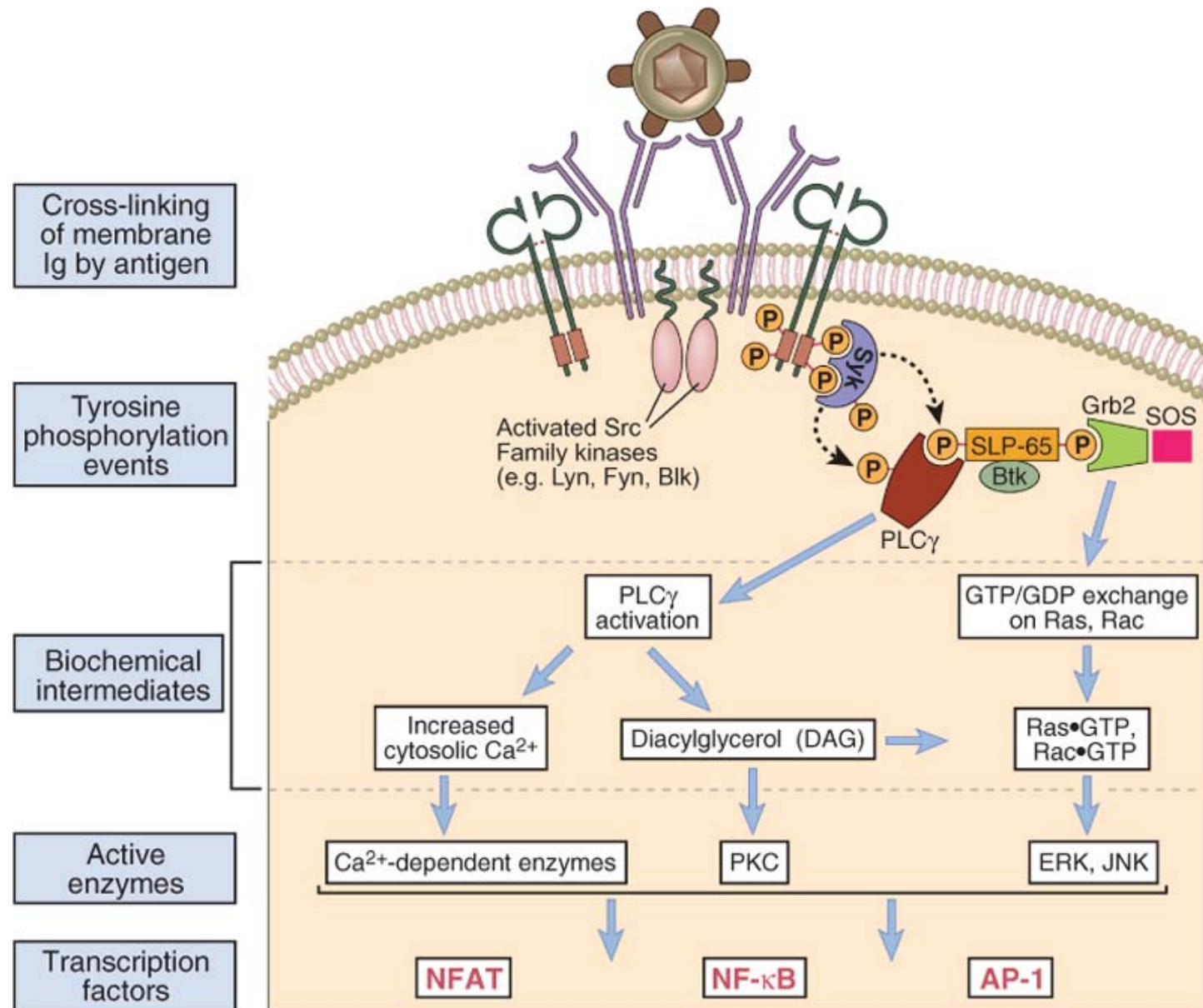
Az elsődleges
(primer) és
másodlagos
(szekunder)
immunválasz
kialakulása

Feature	Primary response	Secondary response
Time lag after immunization	Usually 5–10 days	Usually 1–3 days
Peak response	Smaller	Larger
Antibody isotype	Usually IgM > IgG	Relative increase in IgG and, under certain situations, in IgA or IgE
Antibody affinity	Lower average affinity, more variable	Higher average affinity (affinity maturation)
Induced by	All immunogens	Only protein antigens
Required immunization	Relatively high doses of antigens, optimally with adjuvants (for protein antigens)	Low doses of antigens; adjuvants may not be necessary

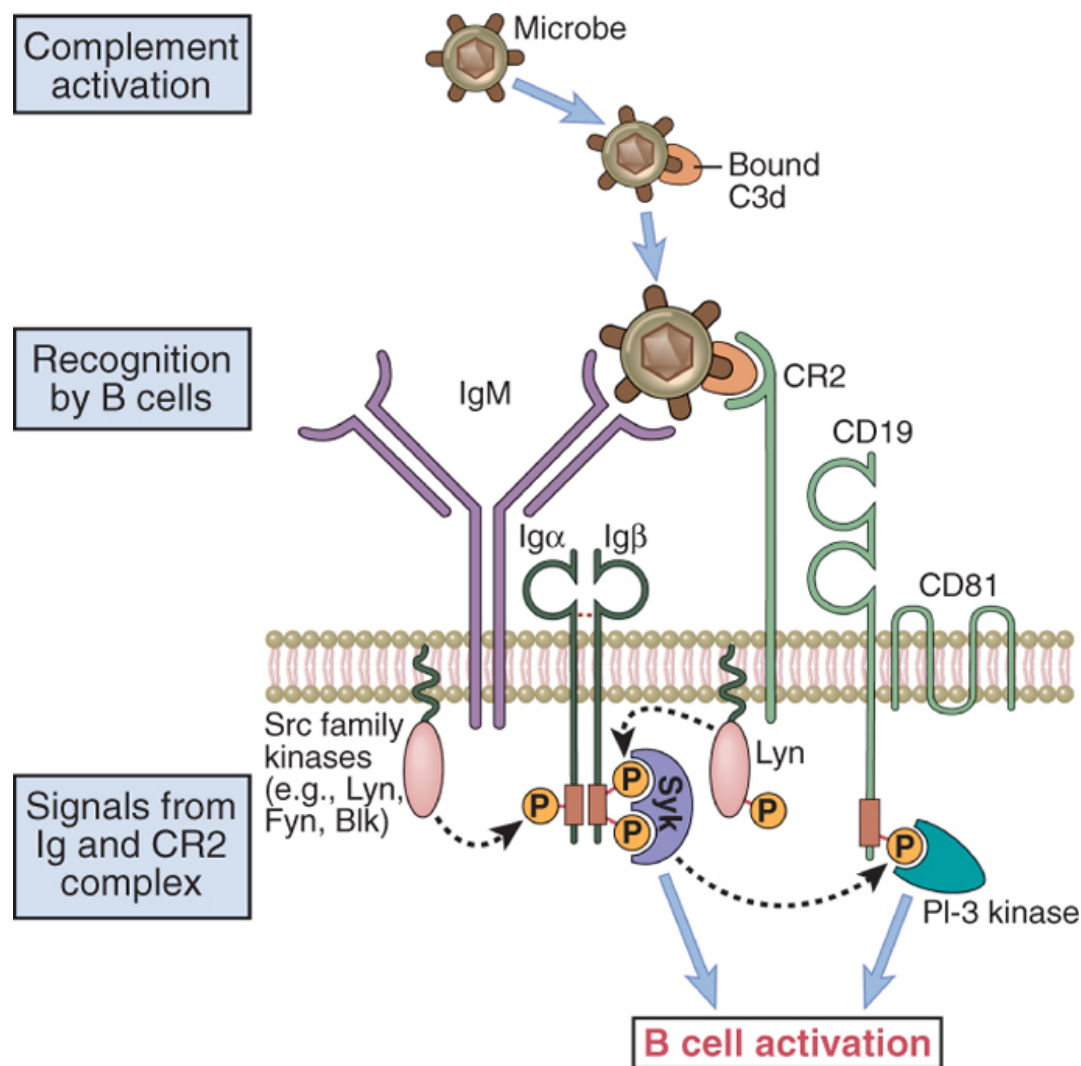
A B-sejt receptor (BCR) szerkezete



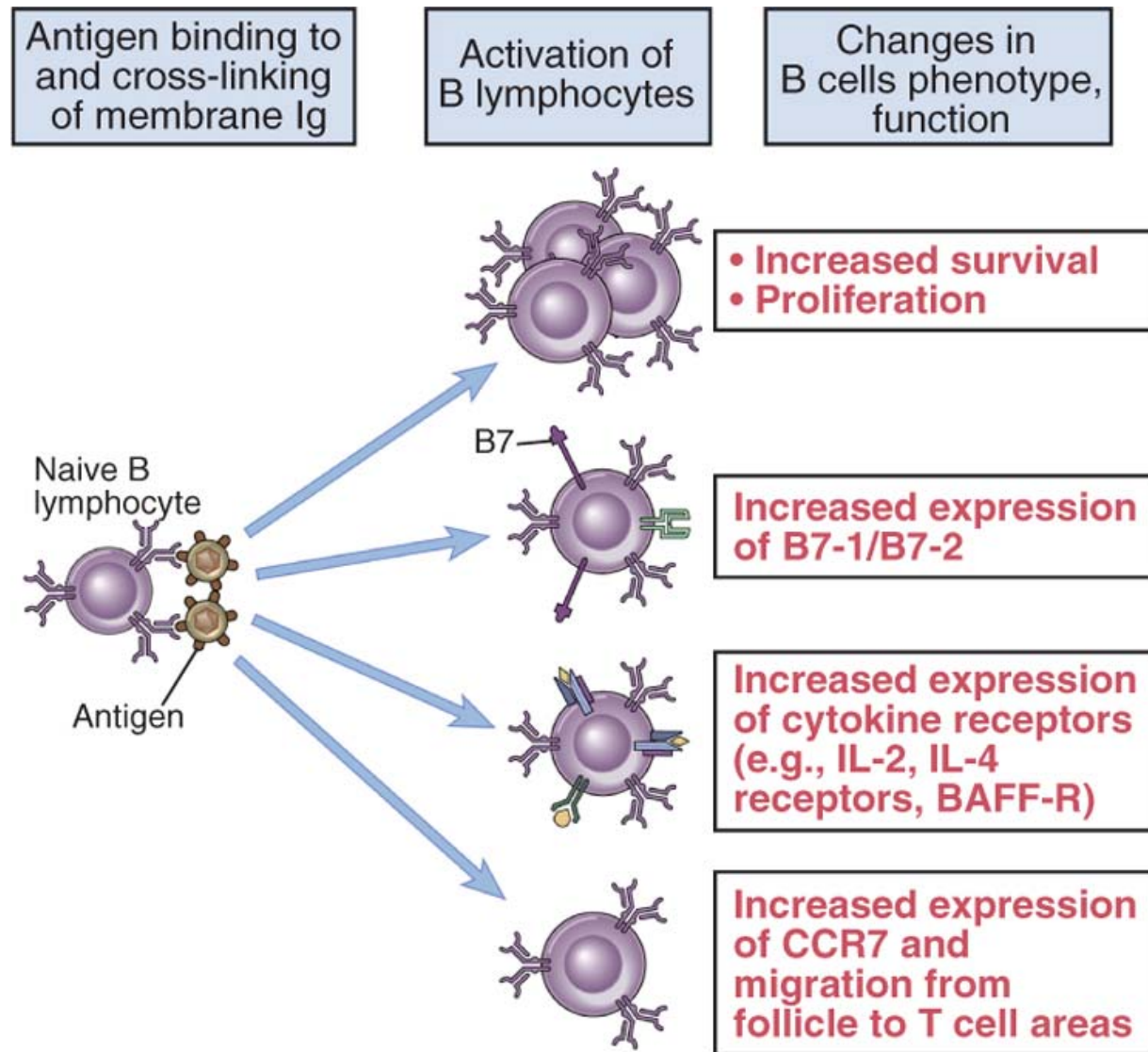
A B-sejt receptor (BCR) szerepe a szignalizációban



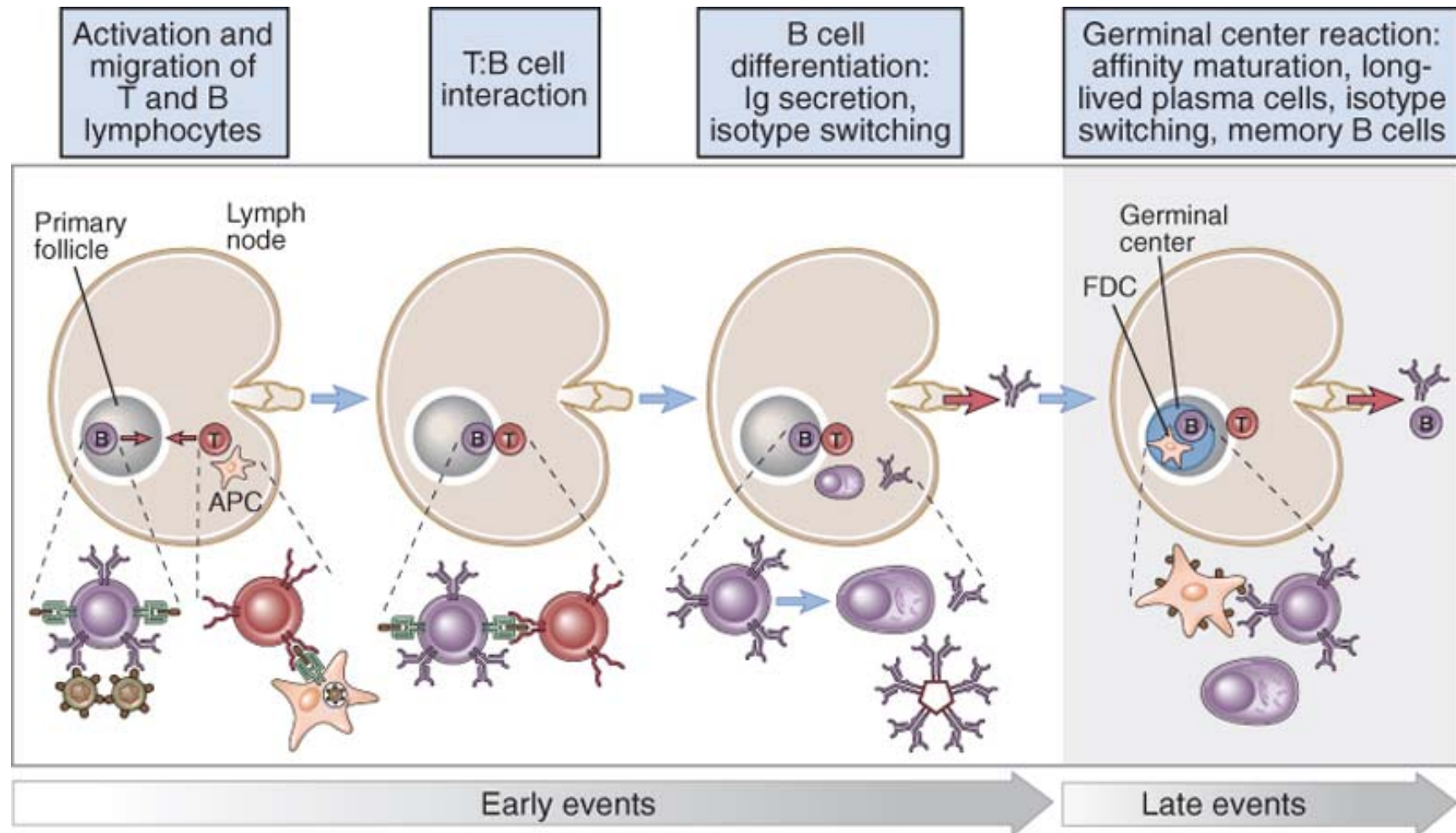
A komplement szerepe a B-sejt aktiválásban



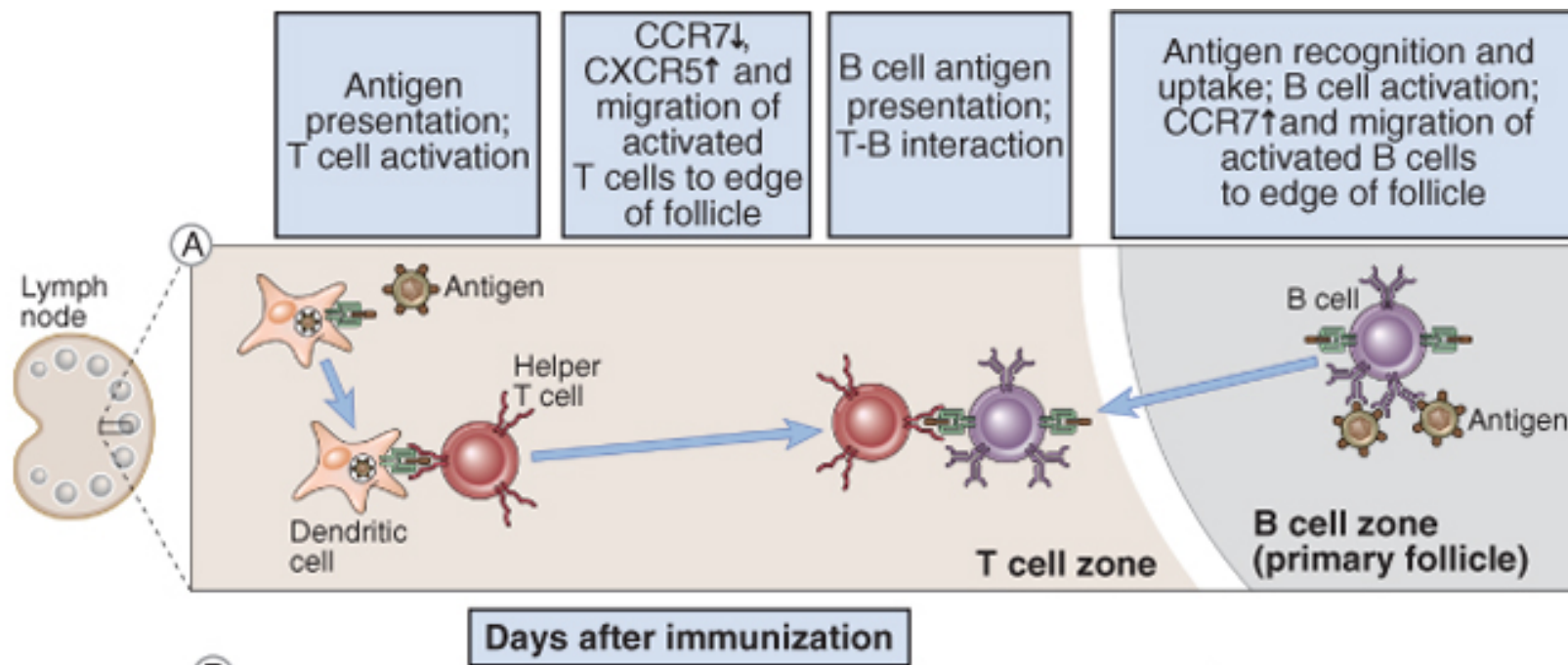
A BCR-k - antigén által kialakított - keresztkötések szerepe



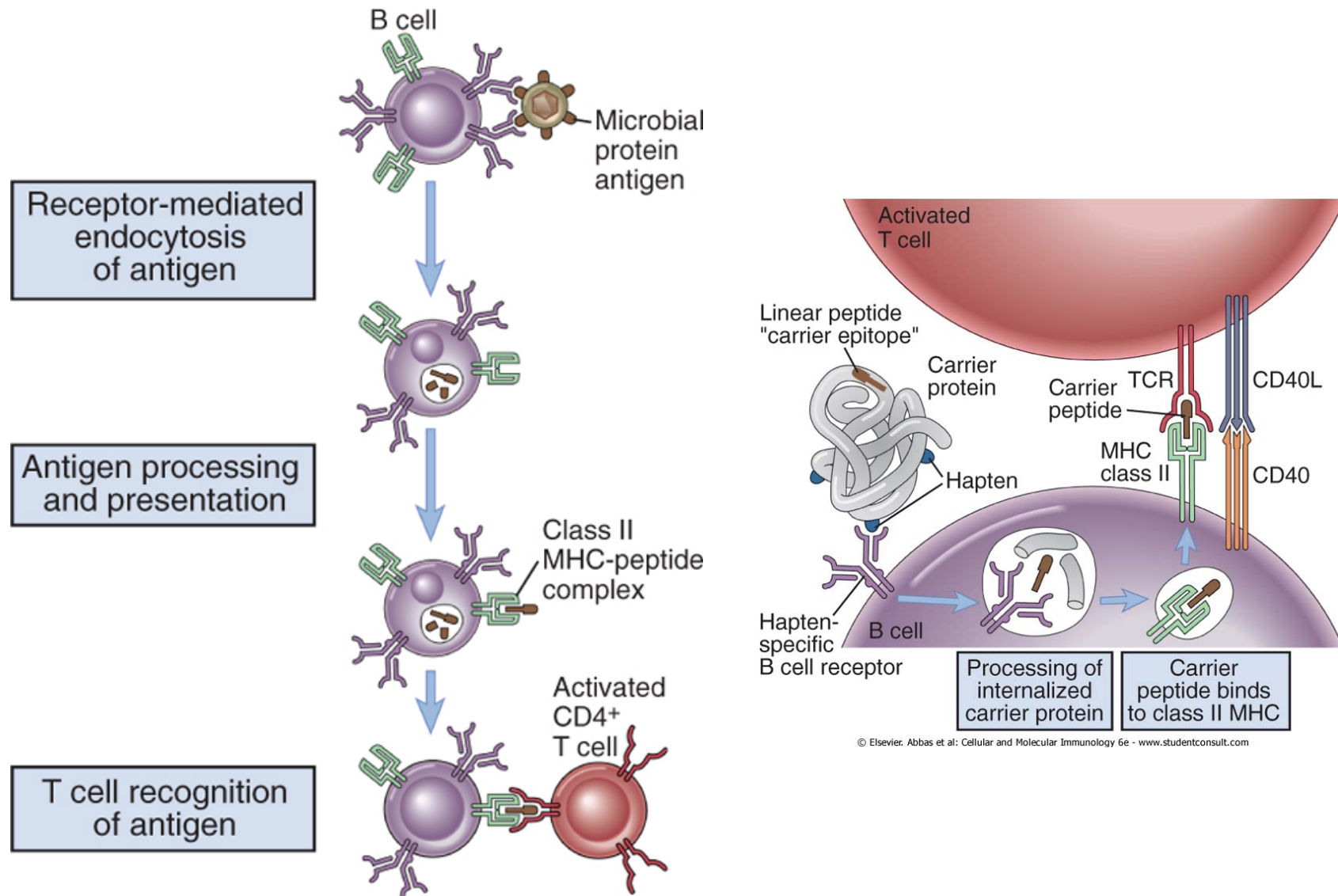
Korai és késői események a T-dependens humorális immunválasz során



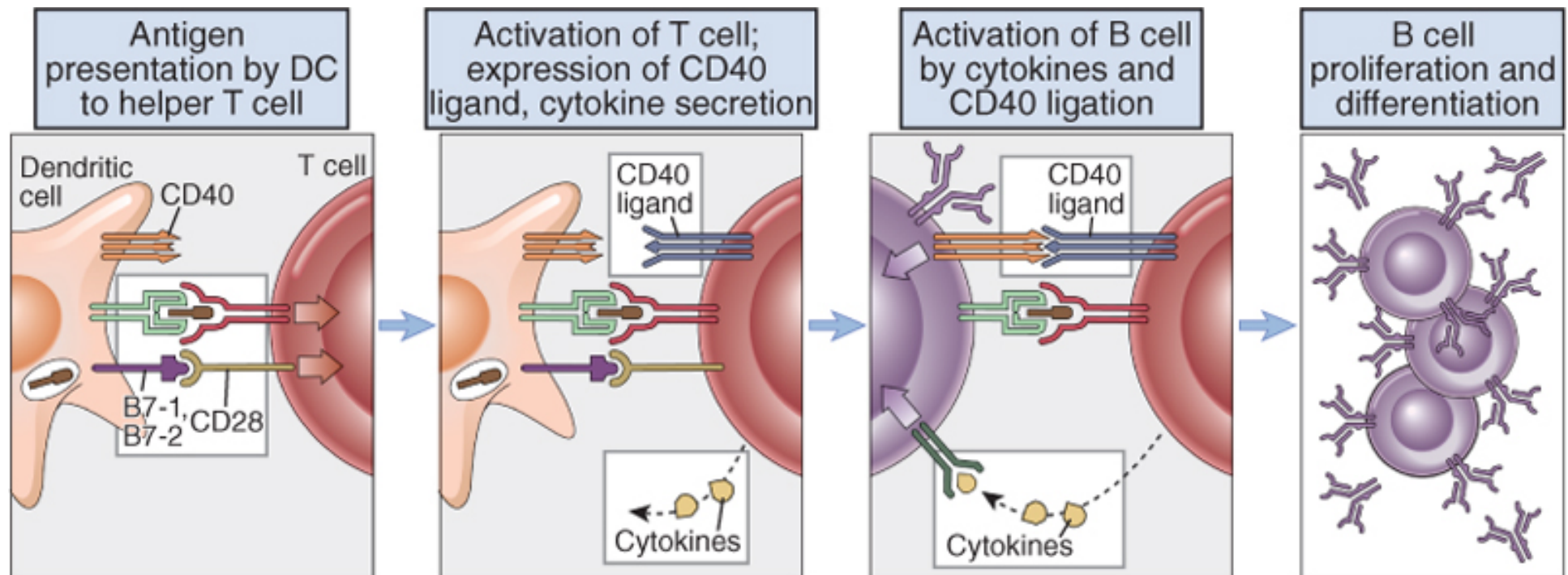
A B-sejtek és a Thelper sejtek migrációja és interakciója a másodlagos nyirokszervekben

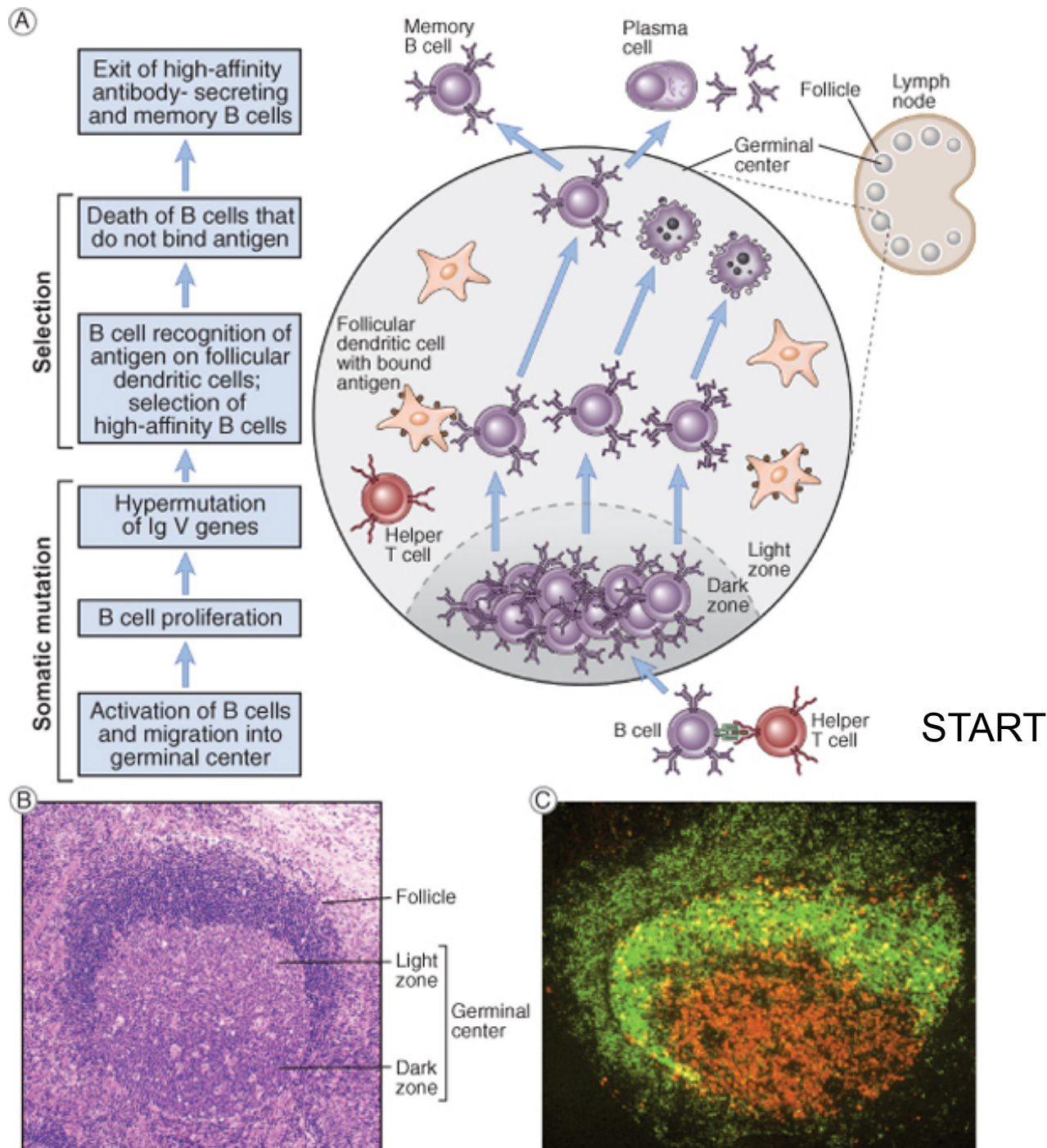


A B-sejt antigén prezentációja aktivált Thelper sejtek számára



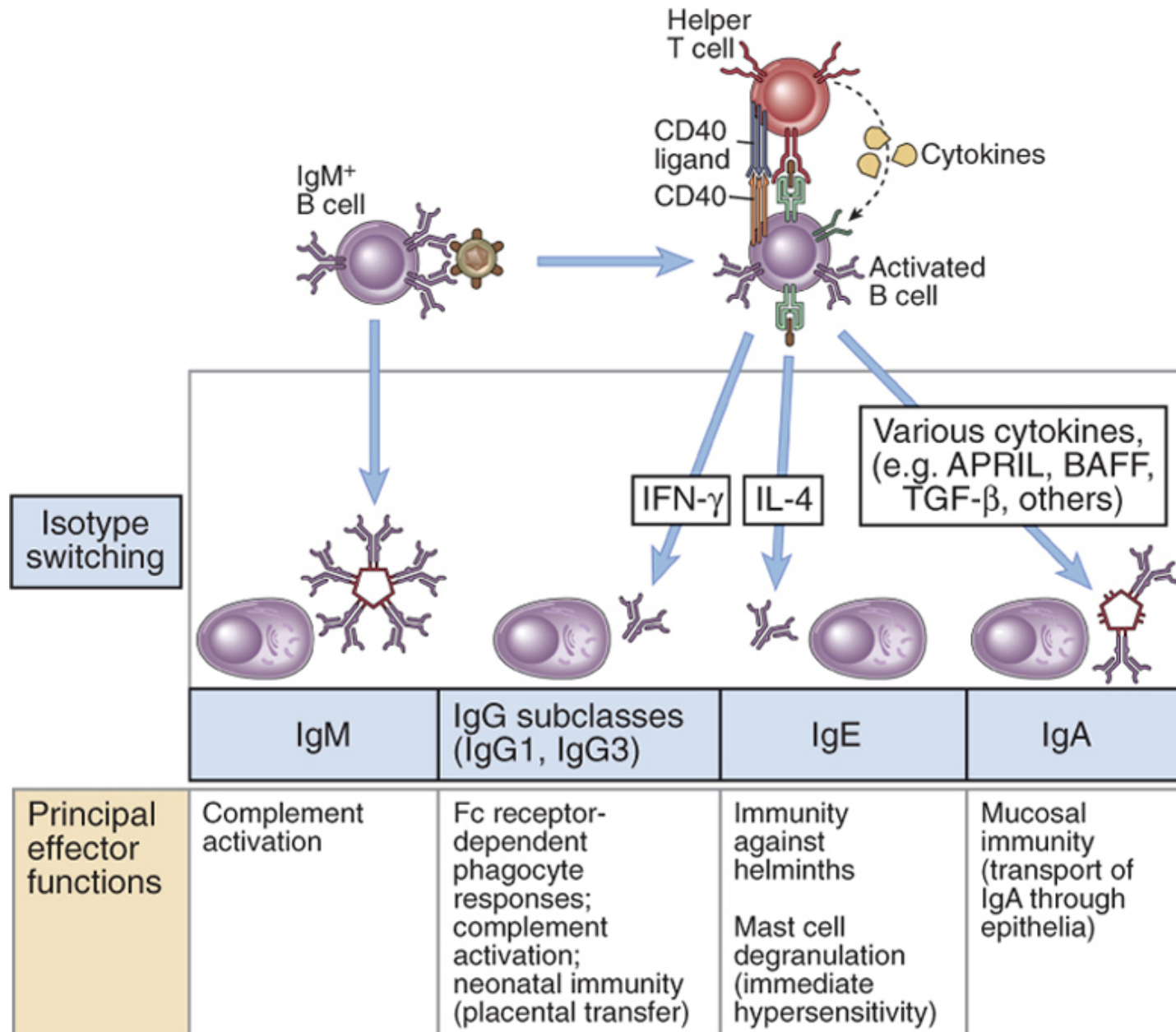
A Thelper mediált B-sejt aktiválás mechanizmusa



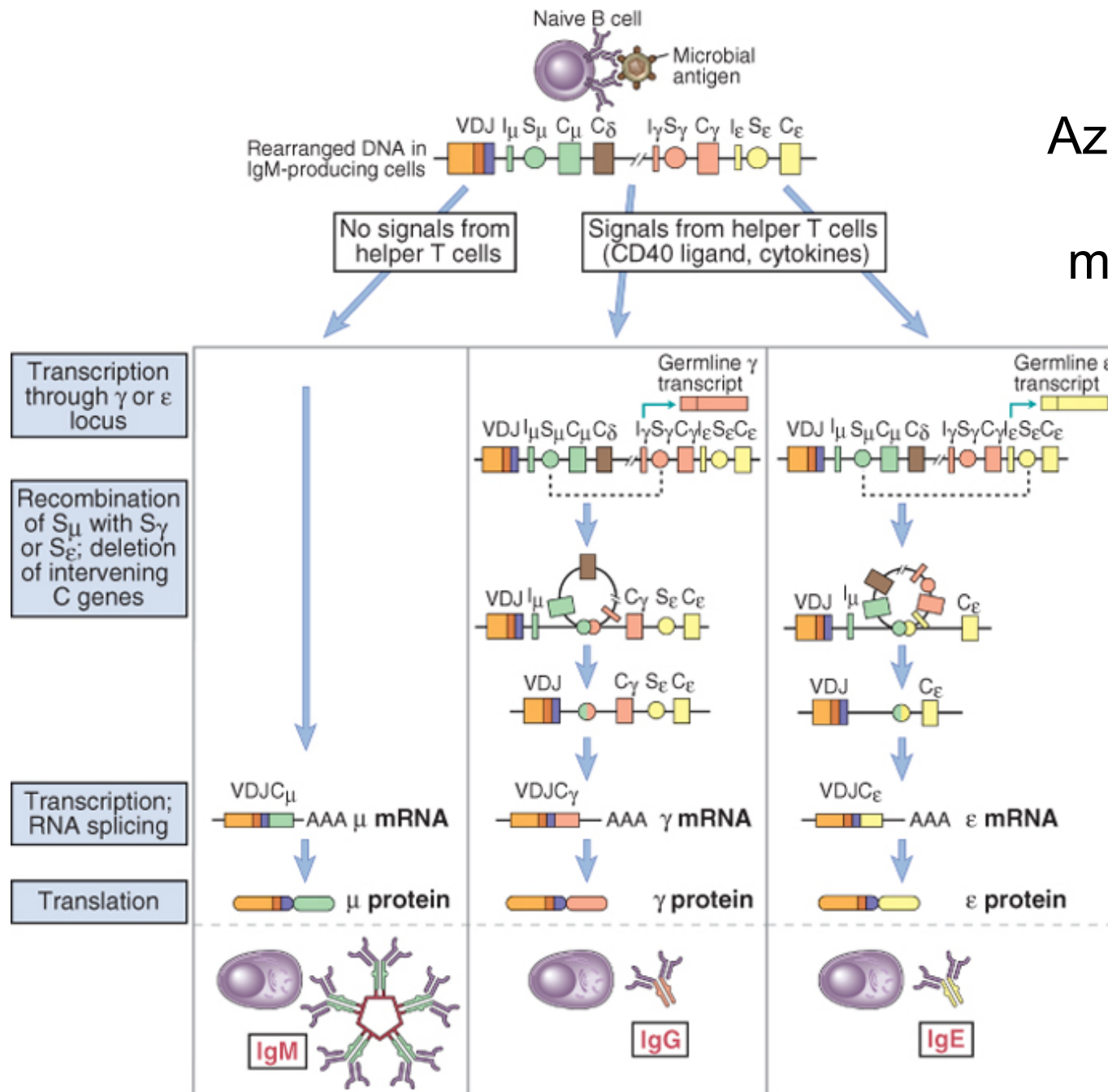


A T-dependens
humorális
immunválasz
csíráközpont
(germinális
center)
reakciója

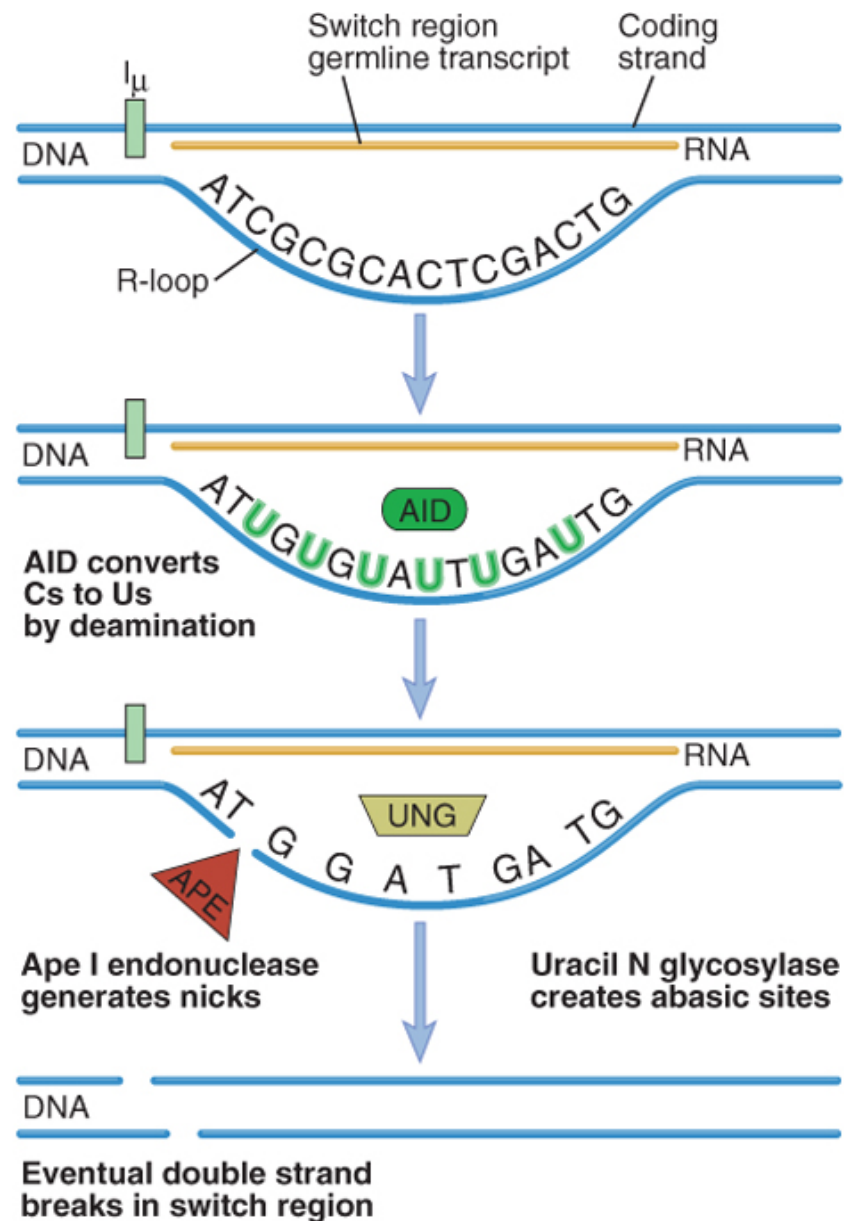
Izotípusváltás



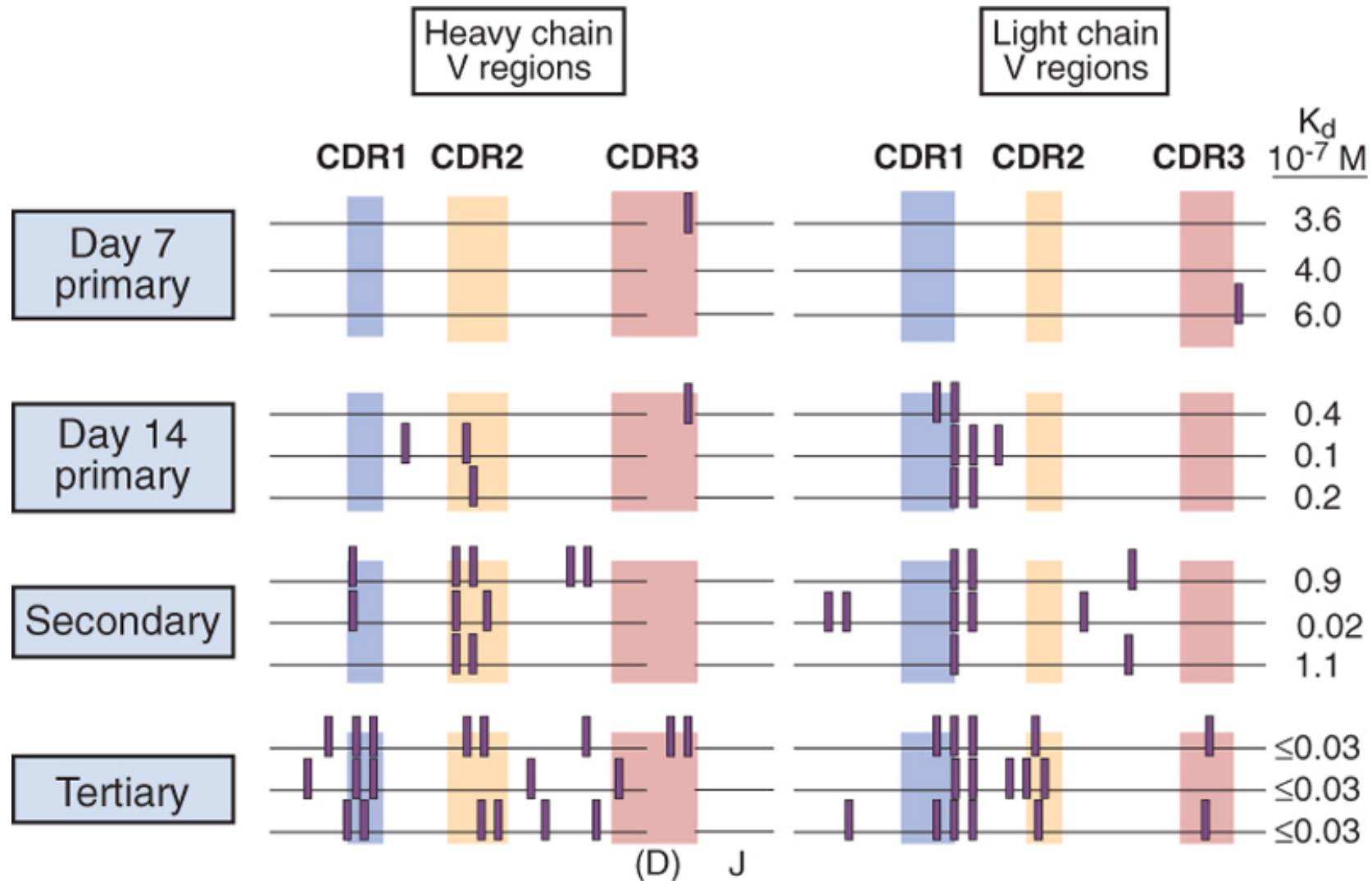
Az izotípusváltás molekuláris mechanizmusa



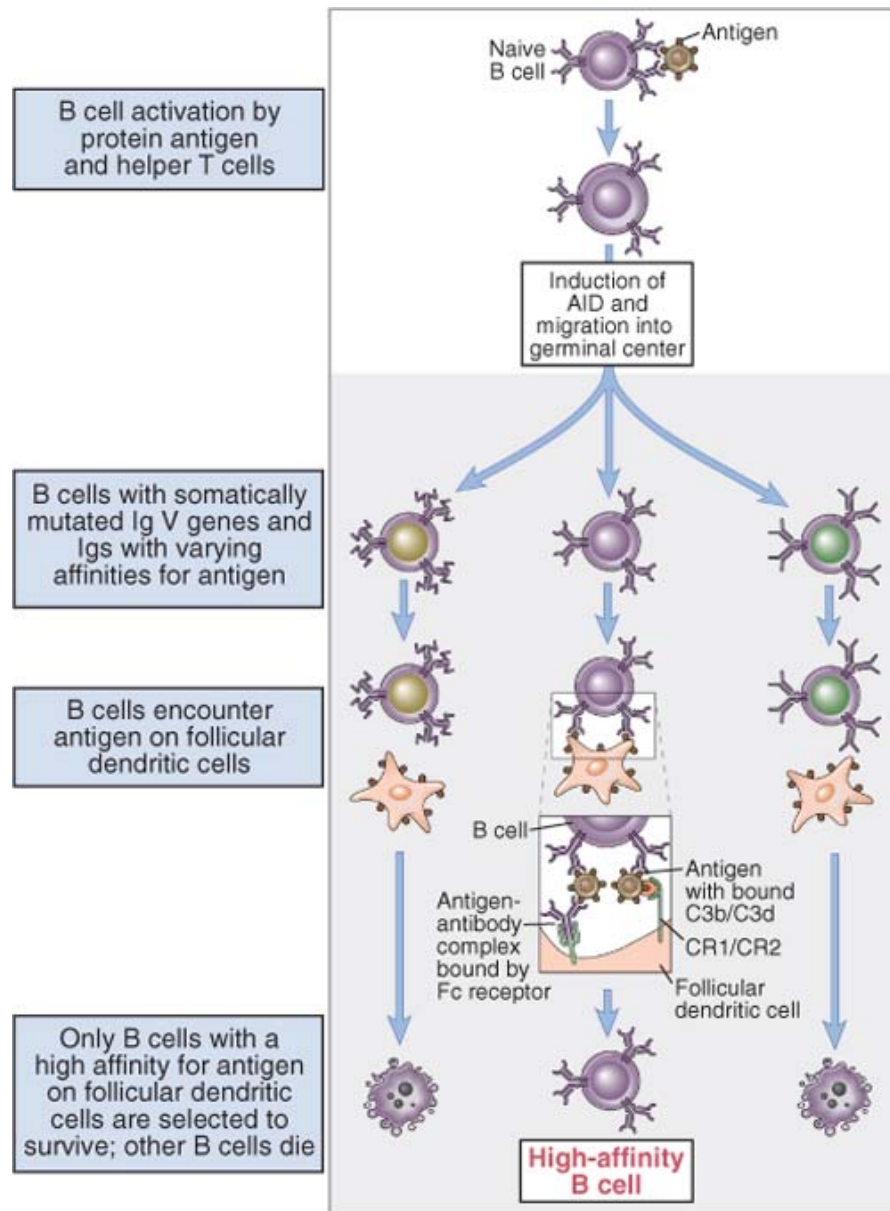
Az AID (activation induced deaminase) által kiváltott DNS törés



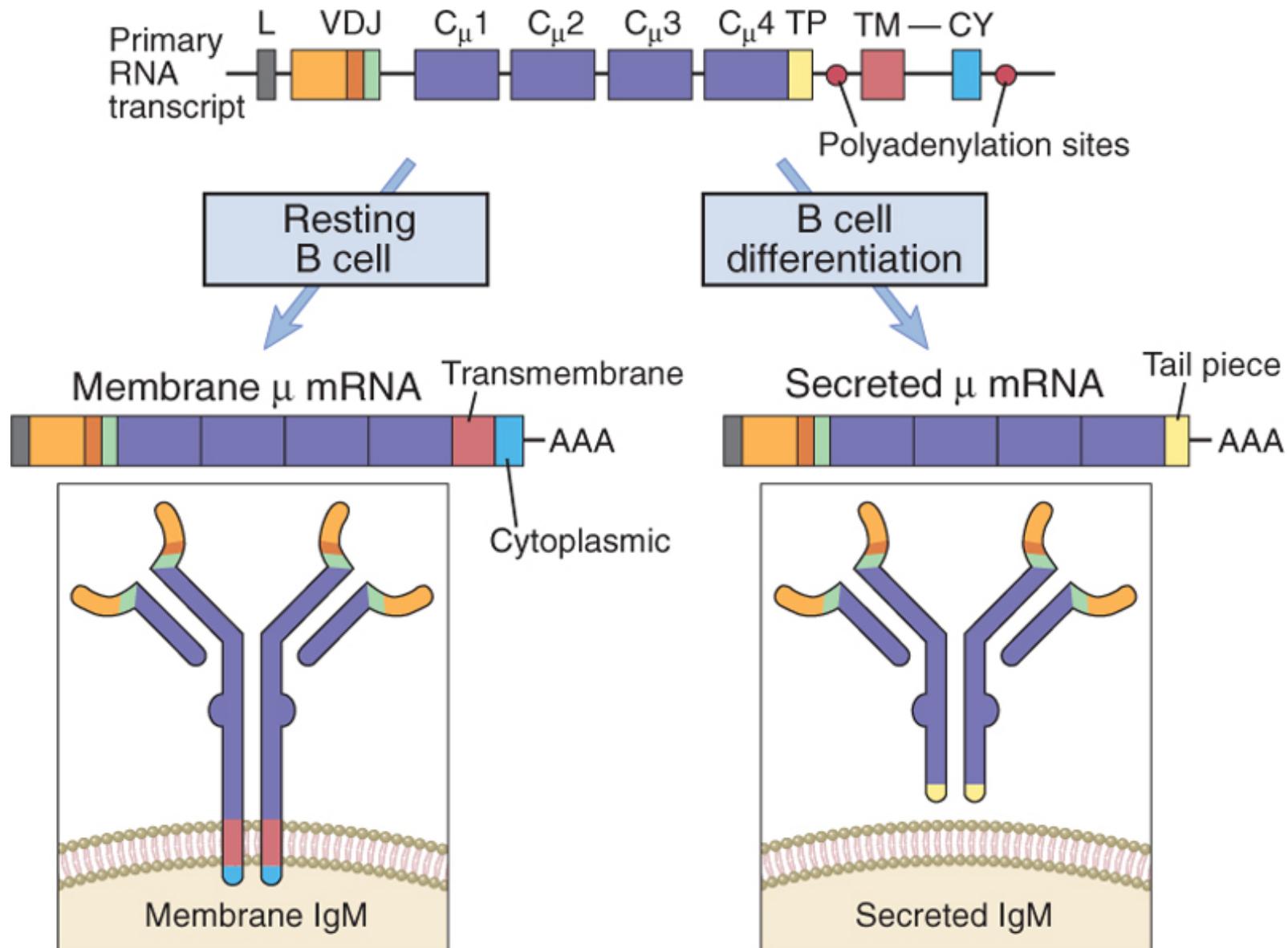
A variábilis gének szomatikus hipermutációja – affinitás érés



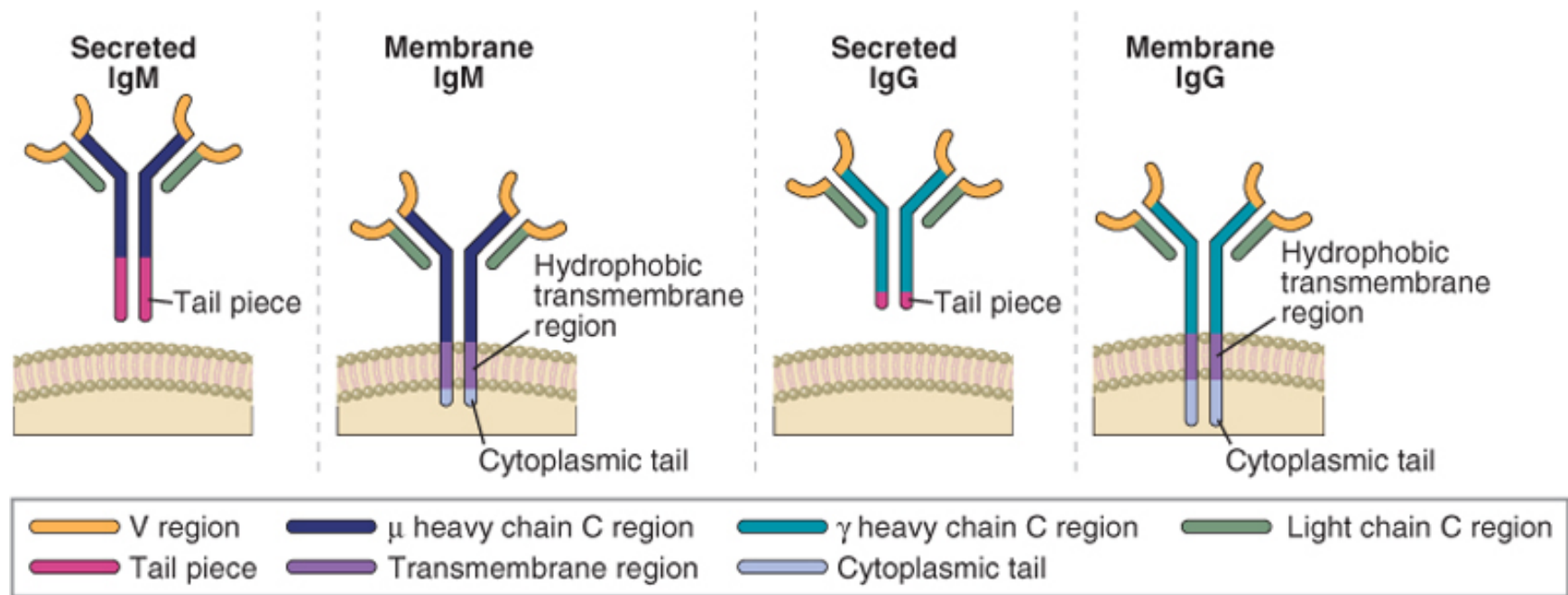
B-sejt szelekció a csíráközpontban



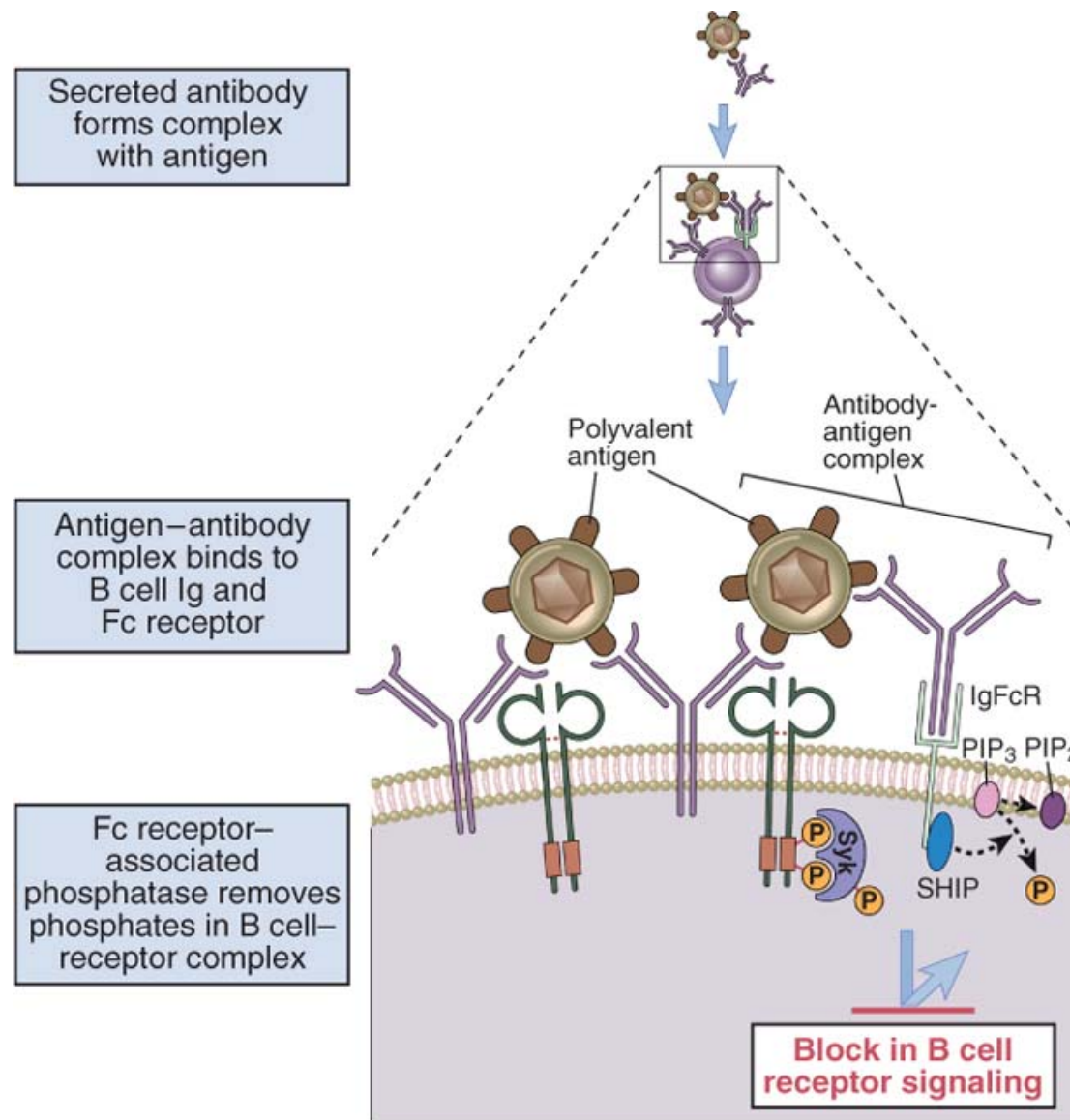
Membrán és szekretált Ig forma létrejötte



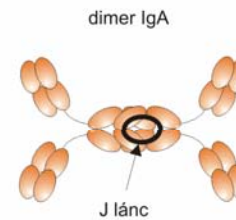
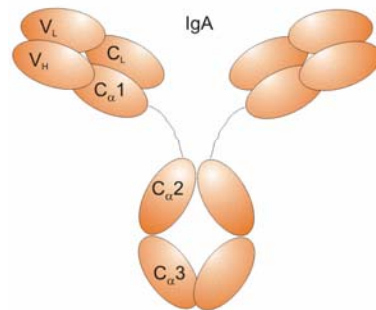
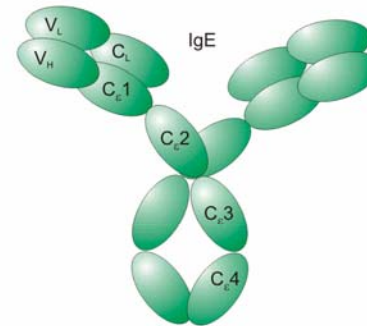
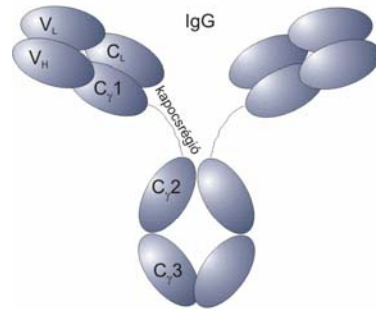
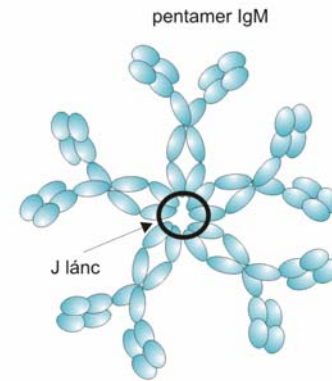
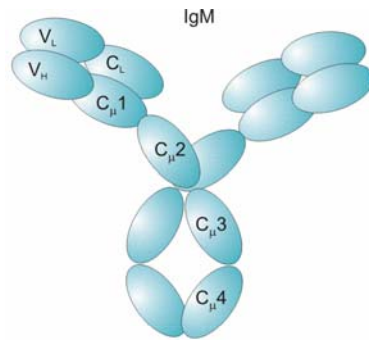
Az immunglobulin szekretált és membrán formája



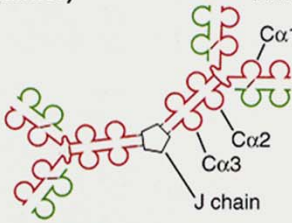
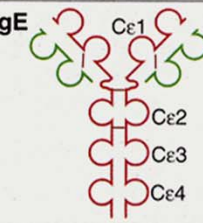
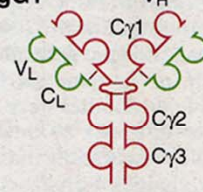
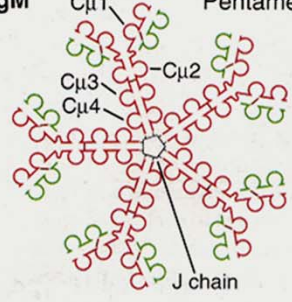
B-sejt aktiváció szabályozása az Fc γ R receptorok (Fc γ R) közvetítésével



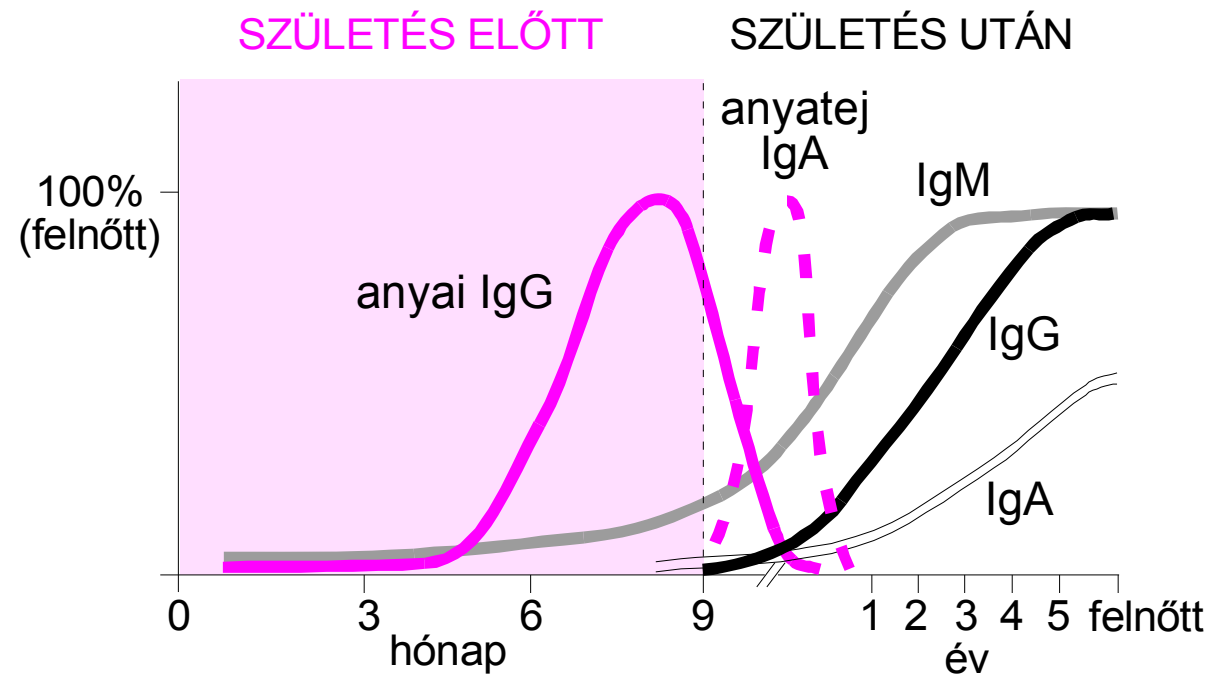
Immunglobulin izotípusok



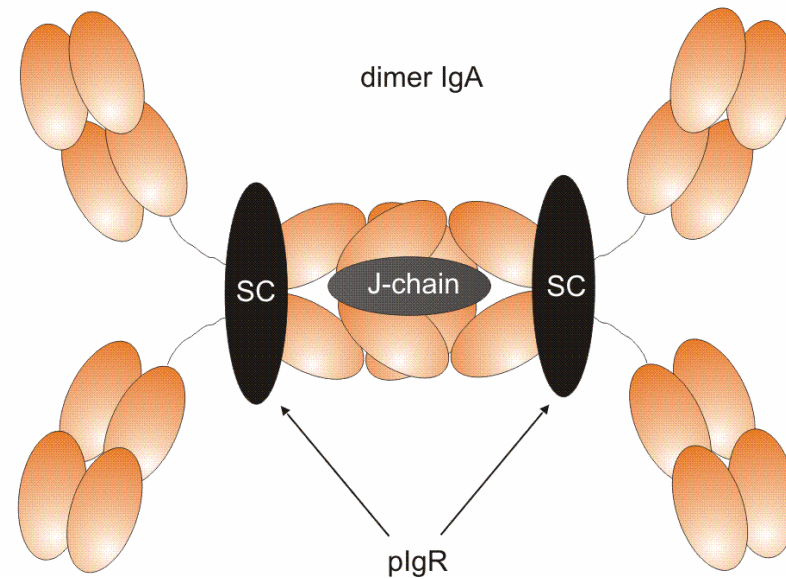
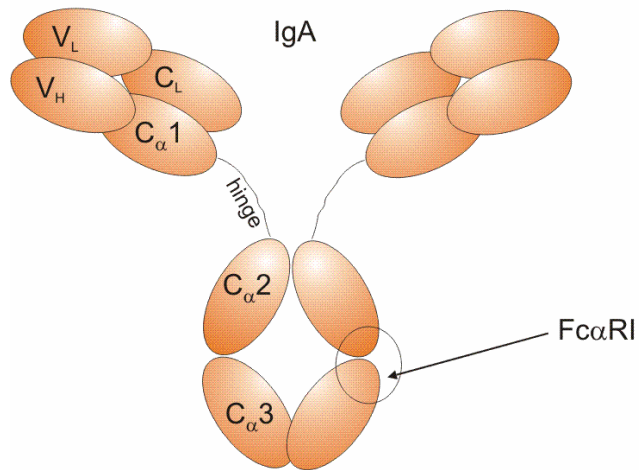
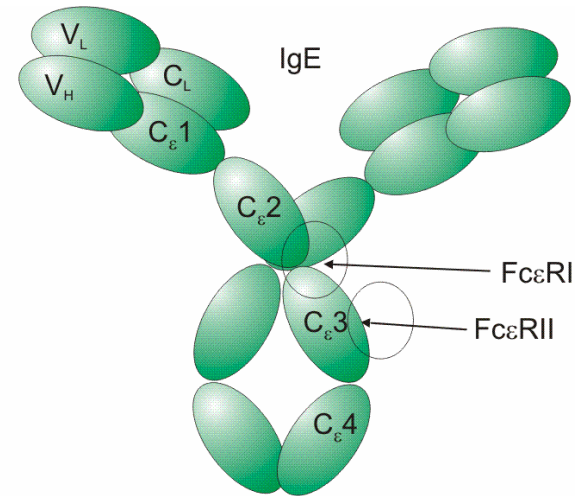
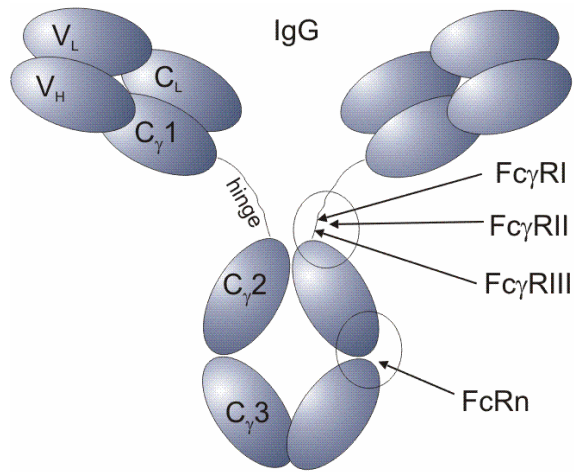
Humán immunglobulin izotípusok legfontosabb tulajdonságai

Isotype of antibody	Subtypes	H chain	Serum concentr. (mg/mL)	Serum half-life (days)	Secreted form	Functions
IgA	IgA1, 2	α (1 or 2)	3.5	6	IgA (dimer) Monomer, dimer, trimer 	Mucosal immunity
IgD	None	δ	Trace	3	None	Naive B cell antigen receptor
IgE	None	ϵ	0.05	2	IgE  Monomer	Immediate hypersensitivity
IgG	IgG1–4	γ (1, 2, 3, or 4)	13.5	23	IgG1  Monomer	Opsonization, complement activation, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, neonatal immunity, feedback inhibition of B cells
IgM	None	μ	1.5	5	IgM  Pentamer	Naive B cell antigen receptor, complement activation

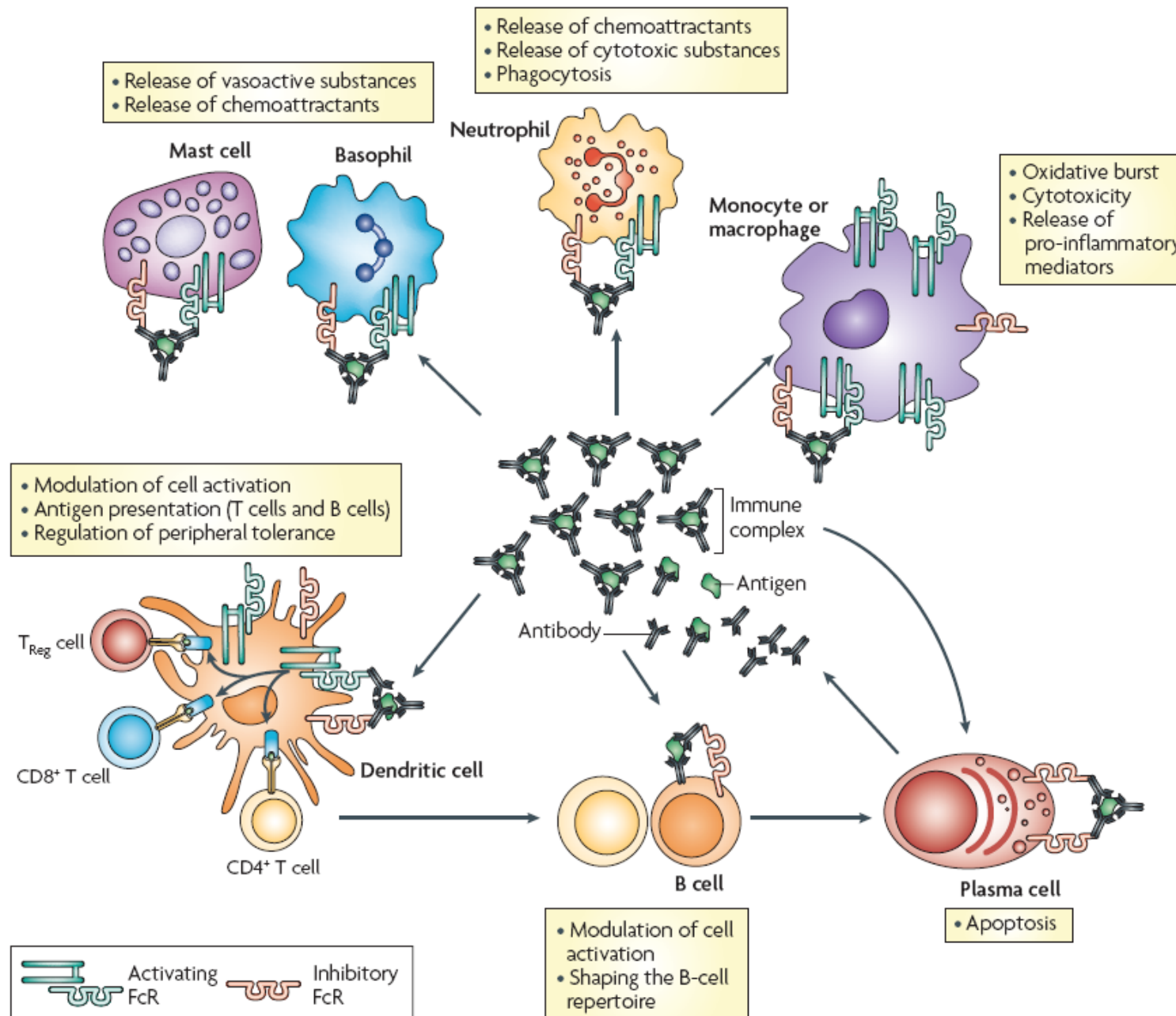
Az Ig-osztályok megjelenése az egyedfejlődés során (ember)



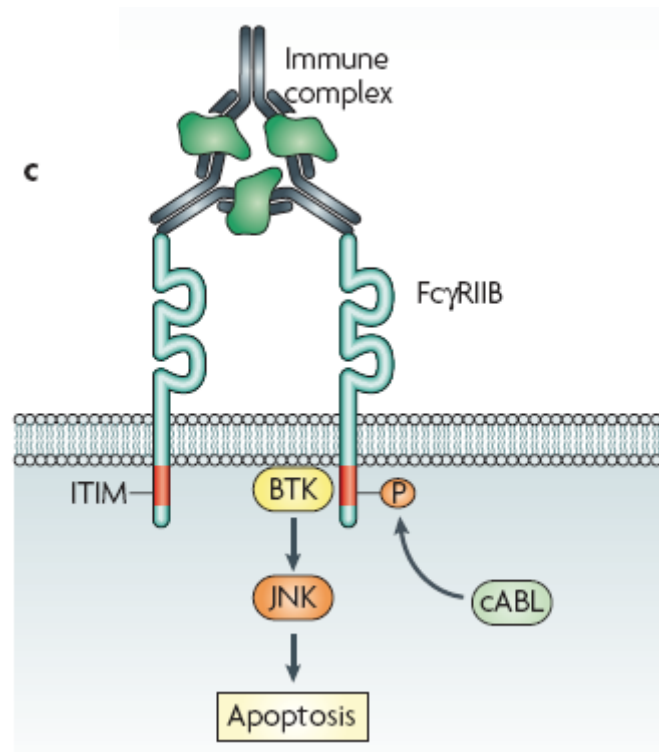
Fc receptorok kapcsolódása az egyes immunglobulin izotípusokhoz



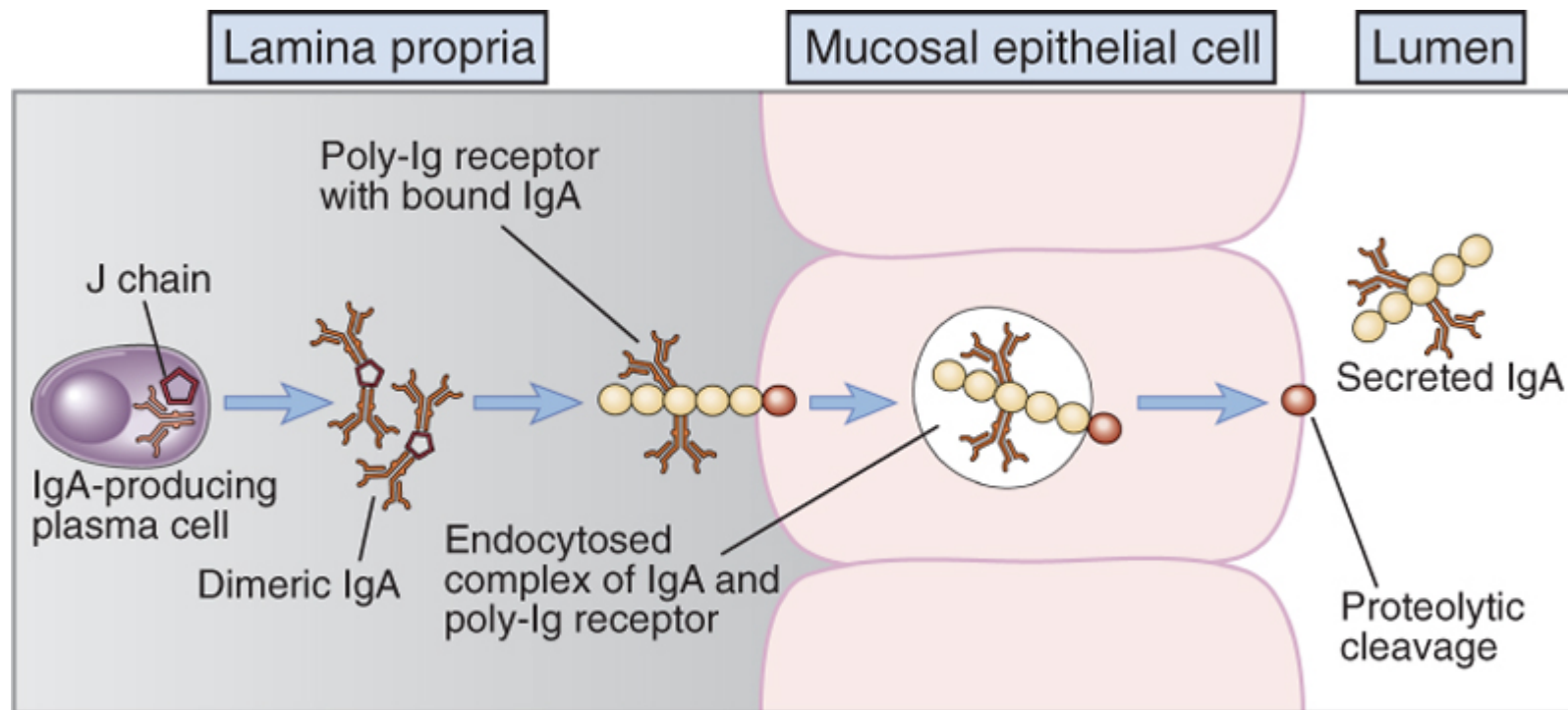
Az immunkomplexek szabályozó szerepei



A gátló $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ keresztkötése a B-sejtek apoptózisához vezet



A polimer immunglobulin receptor (pIgR) az IgA szekréciójában



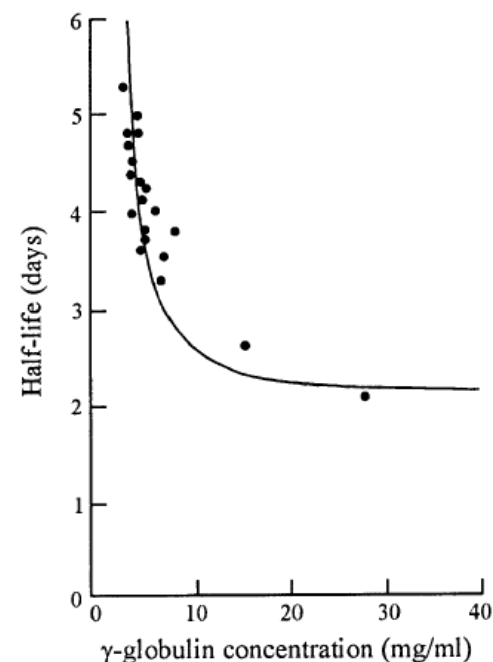


IgG kötő receptor - FcRn Kezdetek

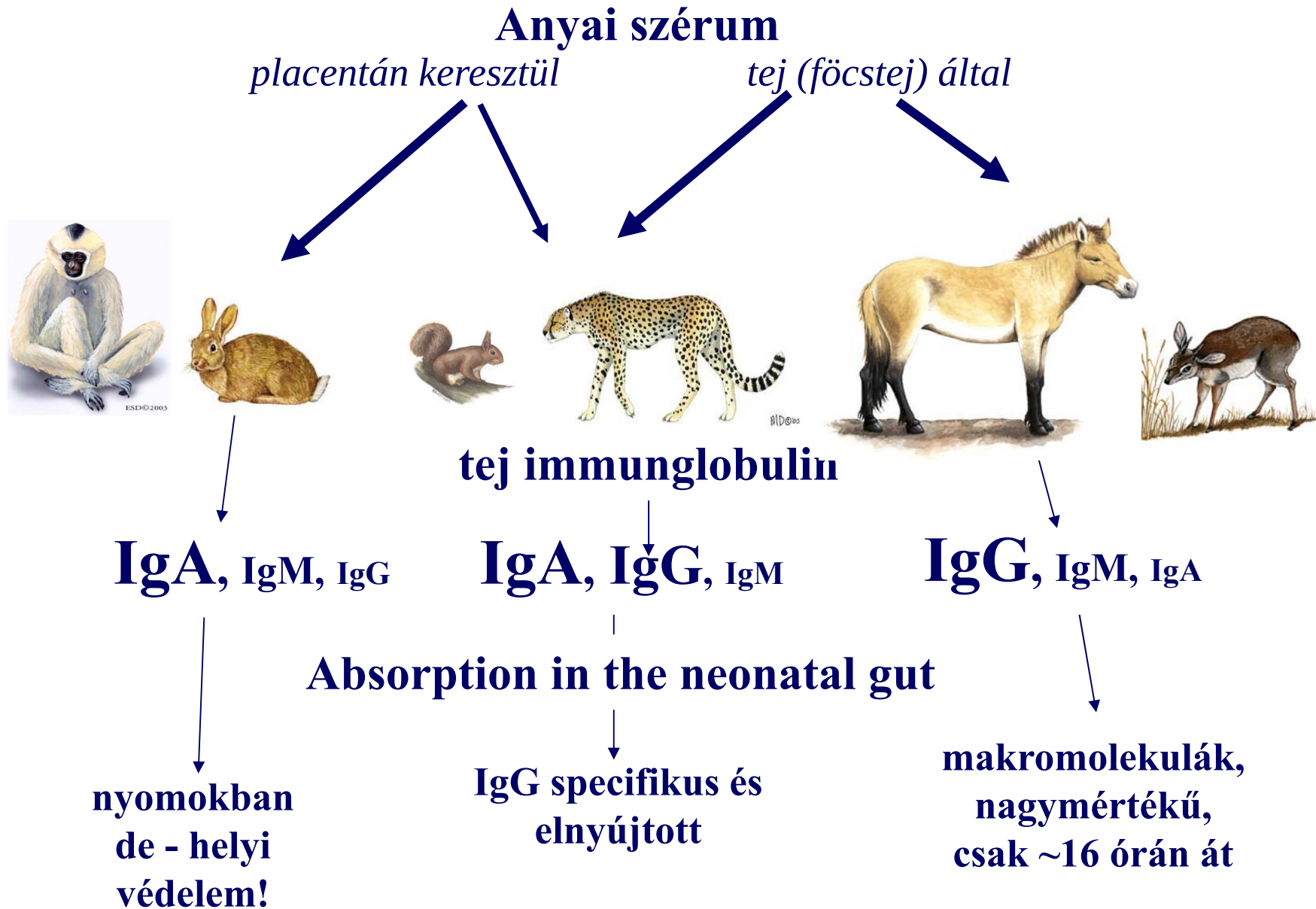
Paul Ehrlich – 1892
Az anyai immunitás átadása
alapvető fontosságú az újszülött
egészsége szempontjából



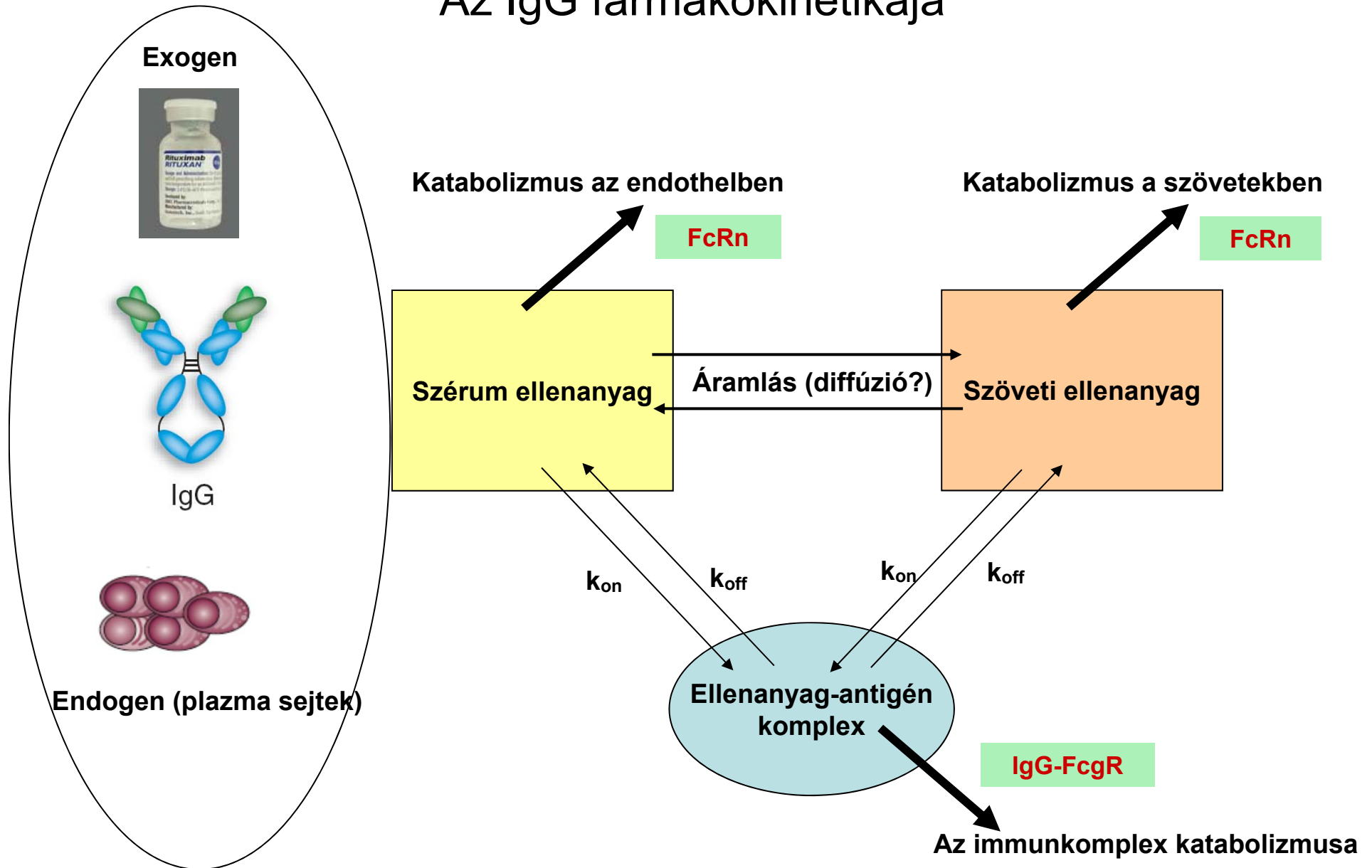
F.W. Rogers Brambell
1958 – az anyai IgG utódba kerülését egy
telíthető receptor rendszer biztosítja
1964 – egy hasonló, vagy azonos receptor
rendszer védi meg az IgG molekulát a
gyors lebomlástól
„Brambell receptor - FcRB (= FcRn)”



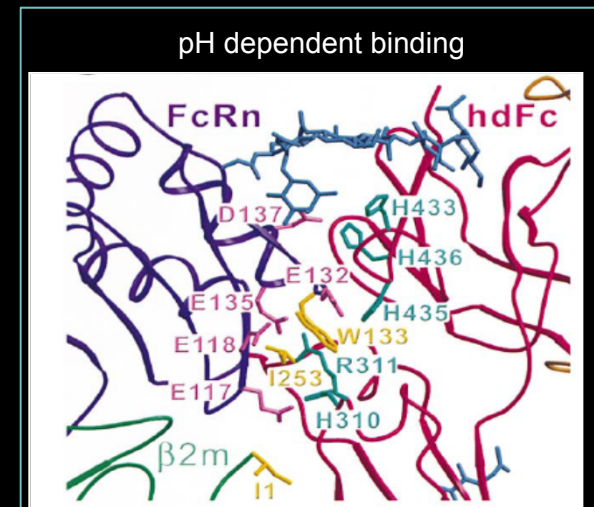
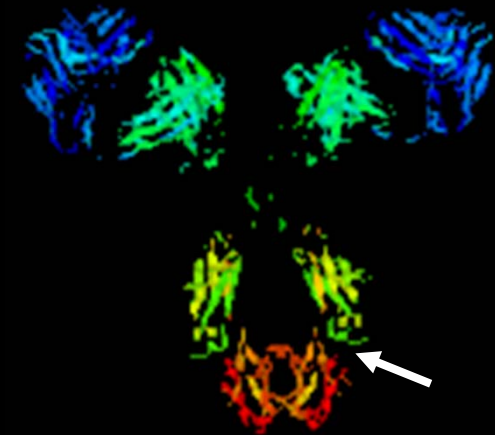
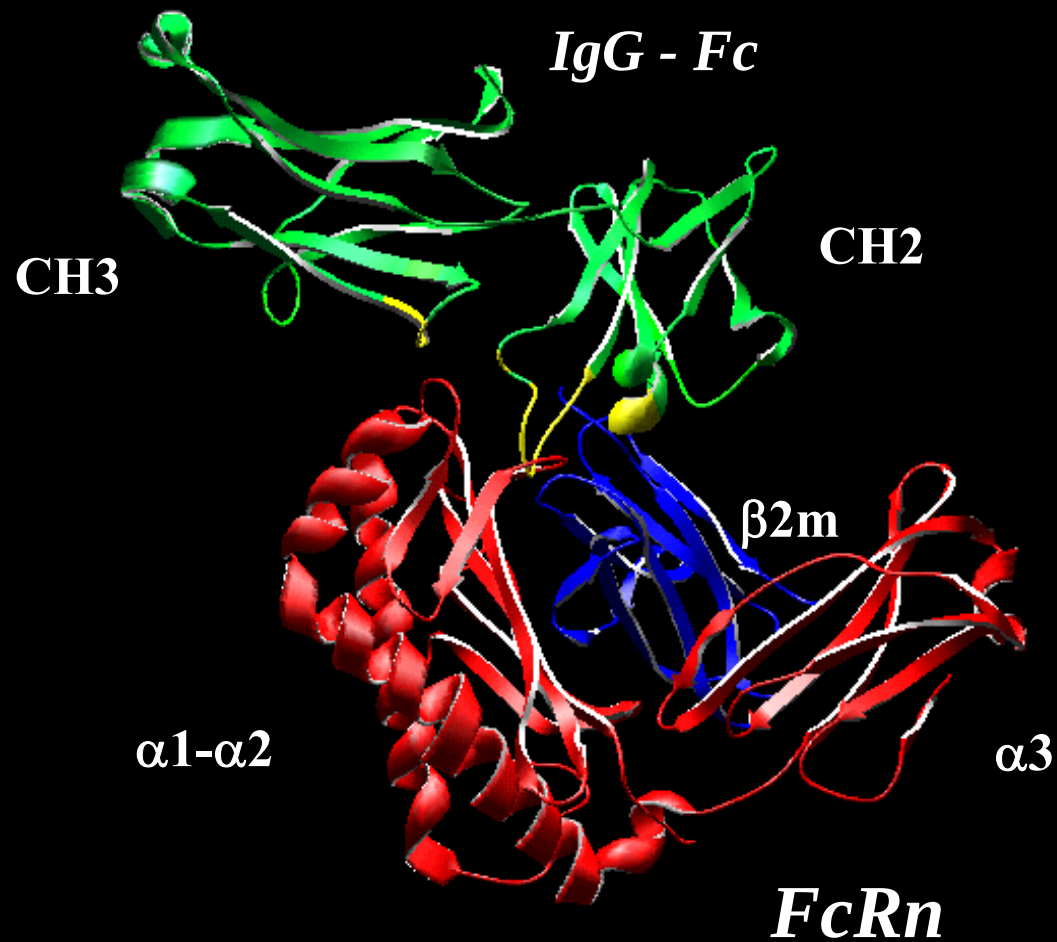
A maternális immunitás átadása emlősökben



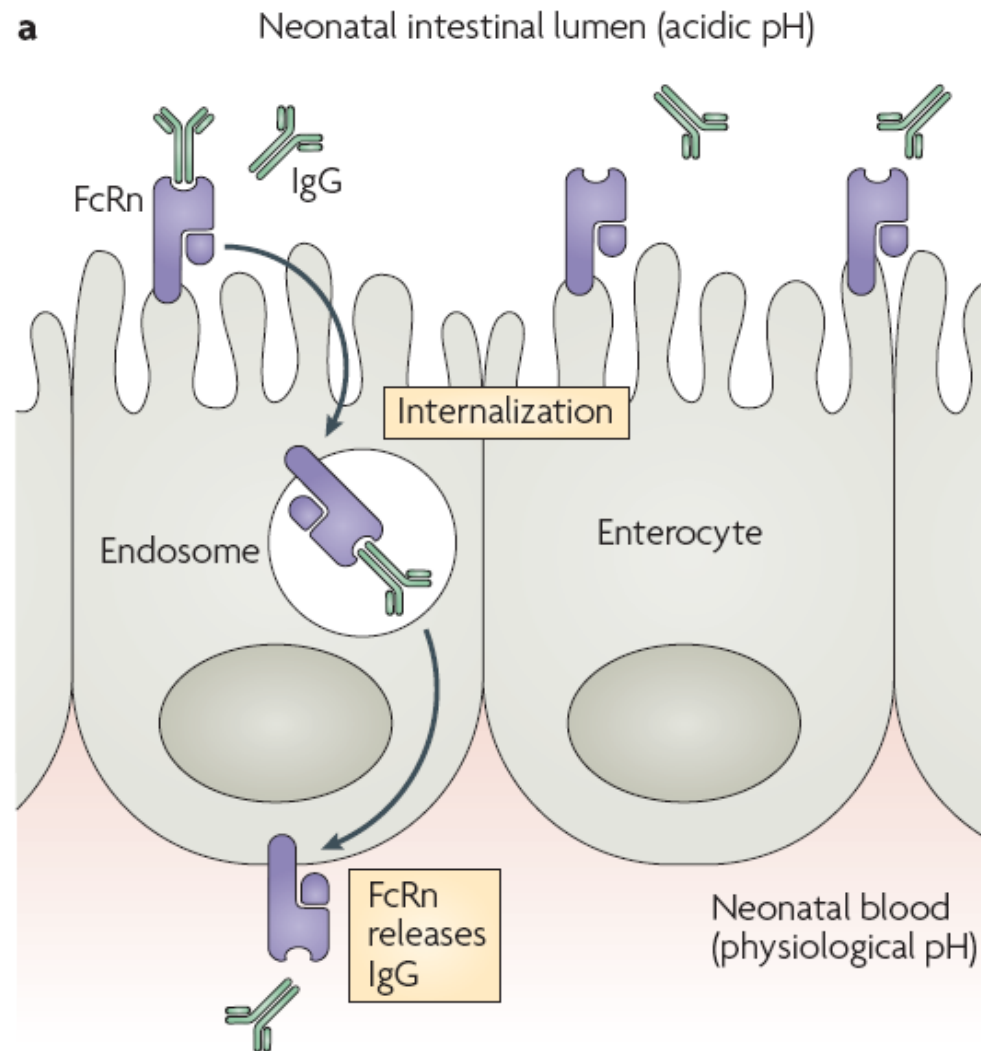
Az IgG farmakokinetikája



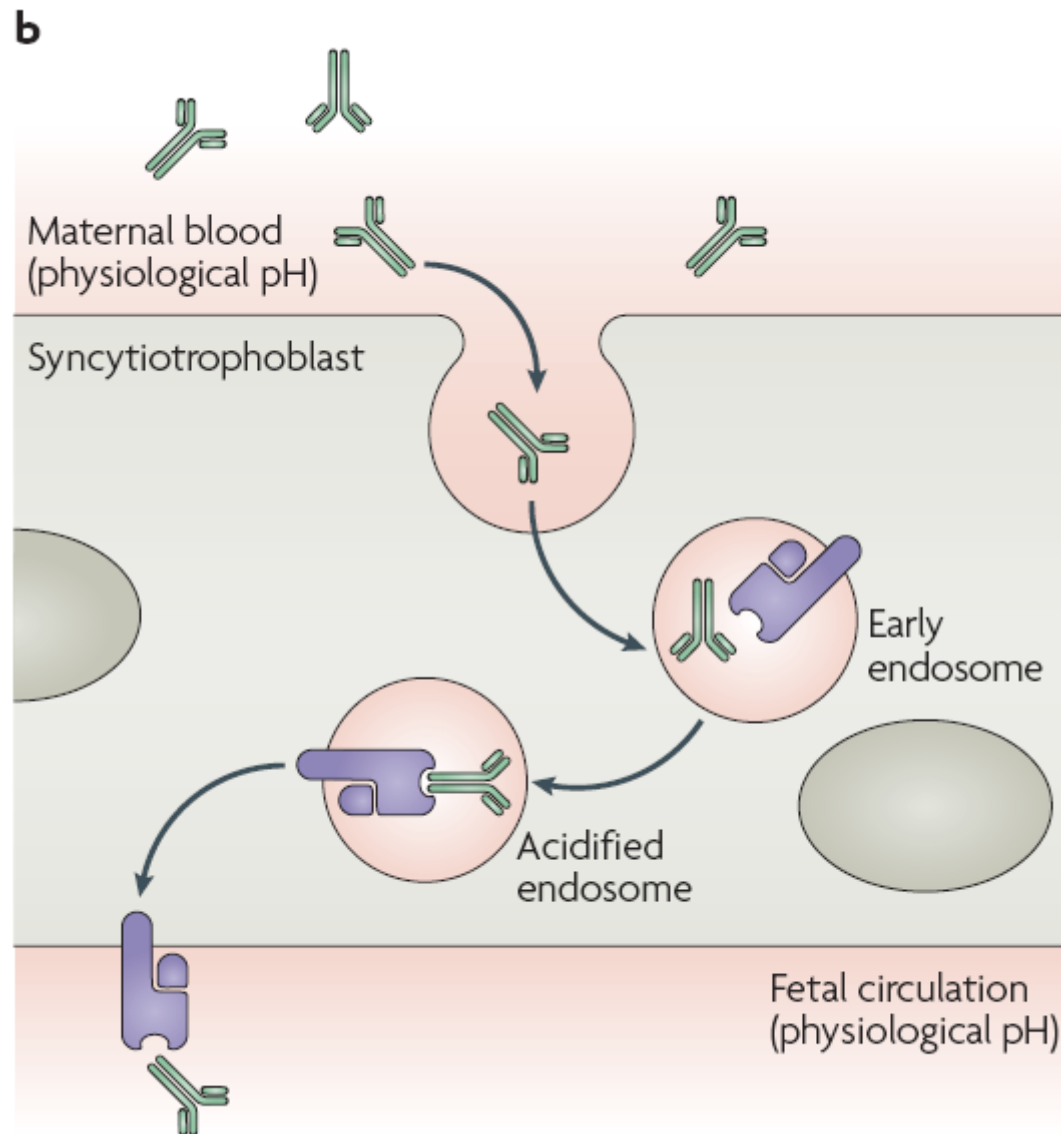
The FcRn - IgG kapcsolódás



Az FcRn mediált IgG transzport különböző típusai – újszülött rágcsálók vékonybél enterocitái

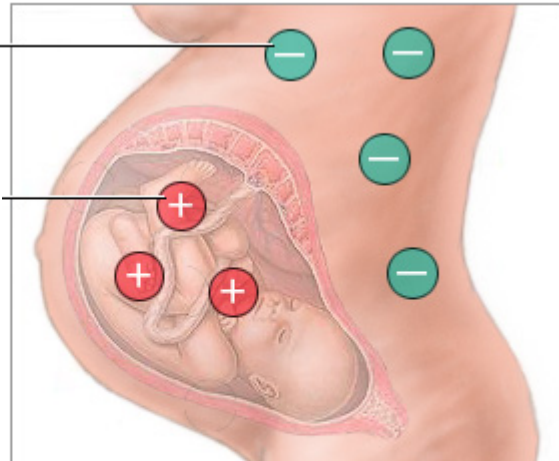


Az FcRn mediált IgG transzport különböző típusai – humán placenta

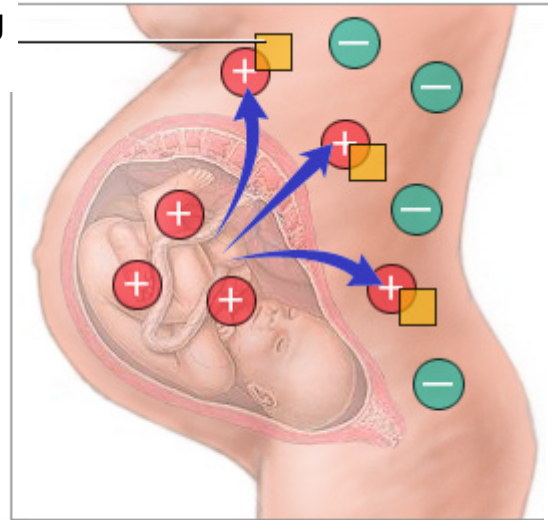


Rh negatív
véresejt

Rh pozitív
véresejt



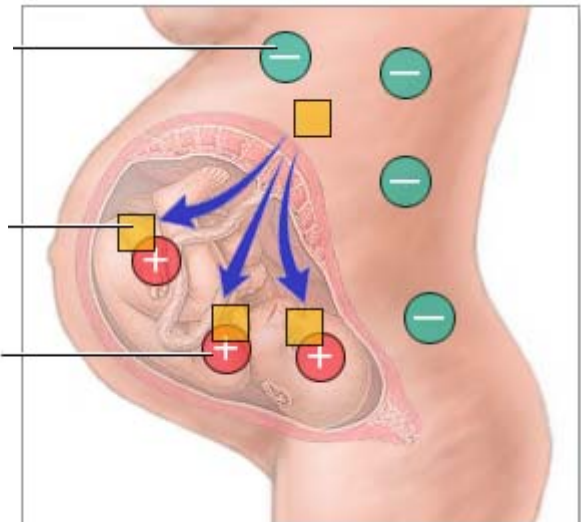
Ellenanyag
(IgG)



Rh negatív
véresejt

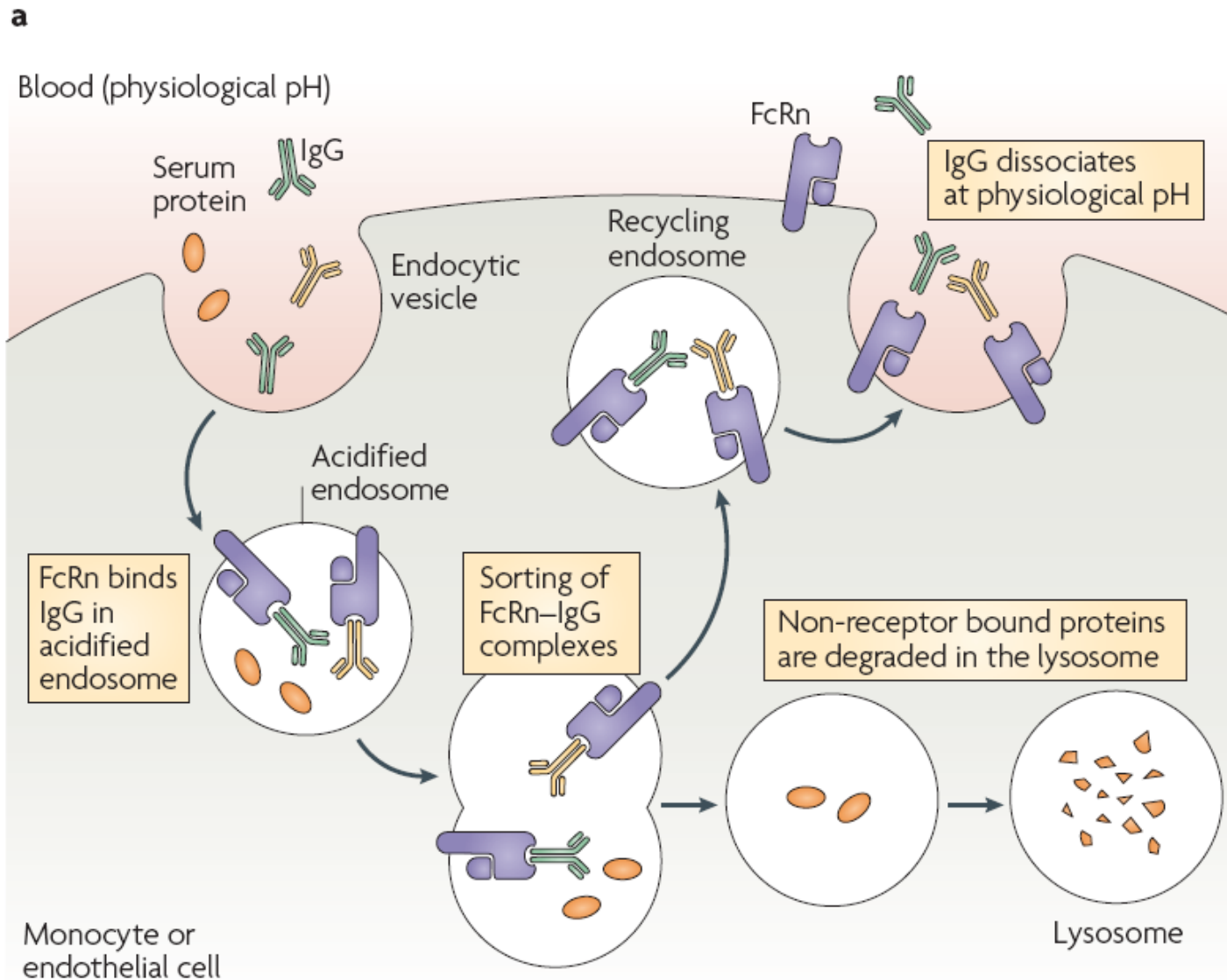
Ellenanyag
(IgG)

Rh pozitív
véresejt

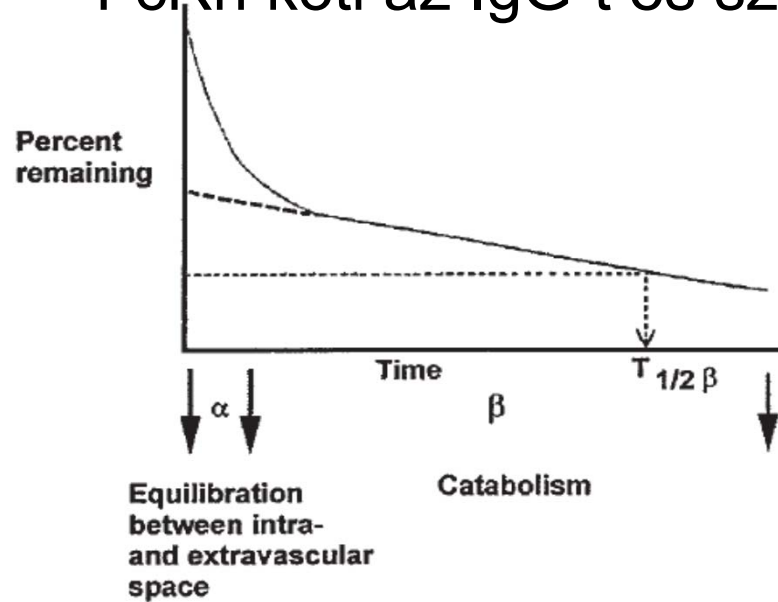


Az Rh inkompatibilitás oka az anyai immuntranszport

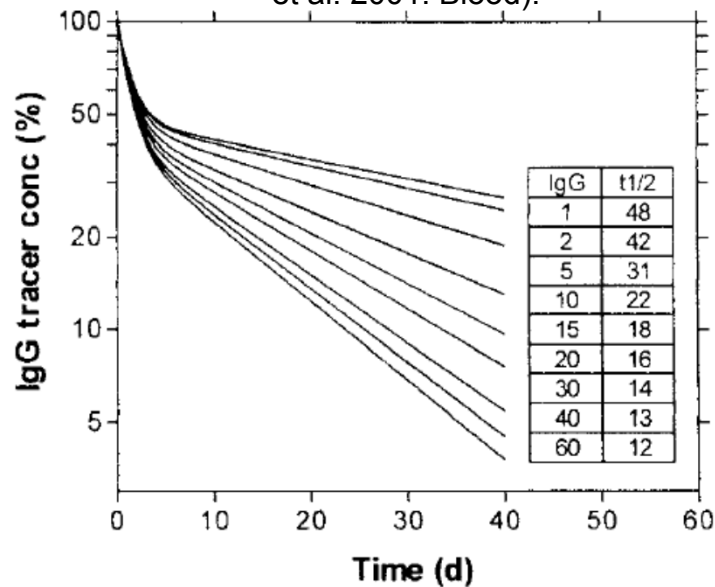
Az FcRn mediált IgG védelem a lebomlás ellen – monocita, endothel sejtek



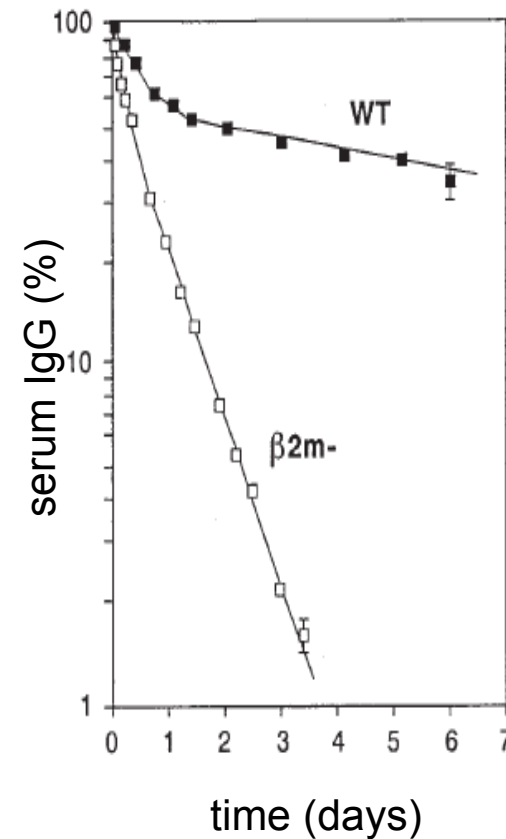
FcRn köti az IgG-t és szabályozza a katabolizmusát



Simulation of the clearance of intravenously injected tracer doses of IgG at different IgG plasma concentrations in humans (Bleeker et al. 2001. Blood).

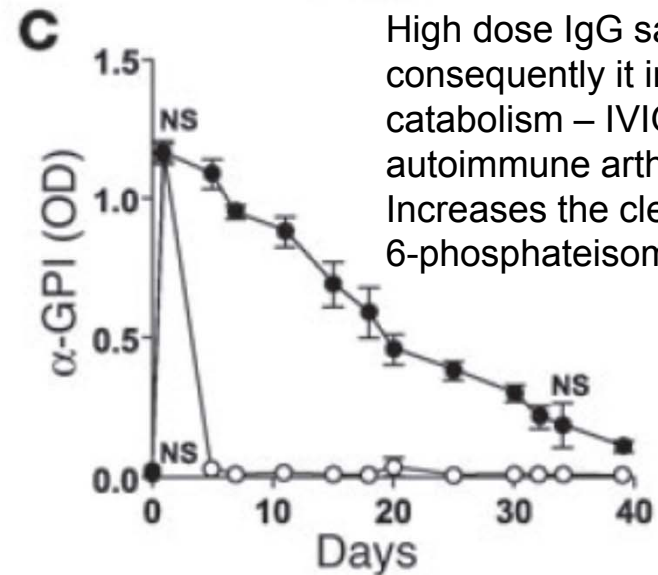
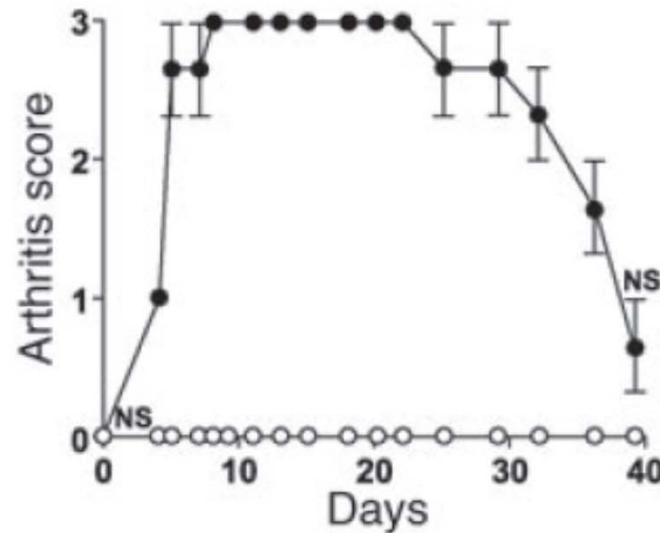
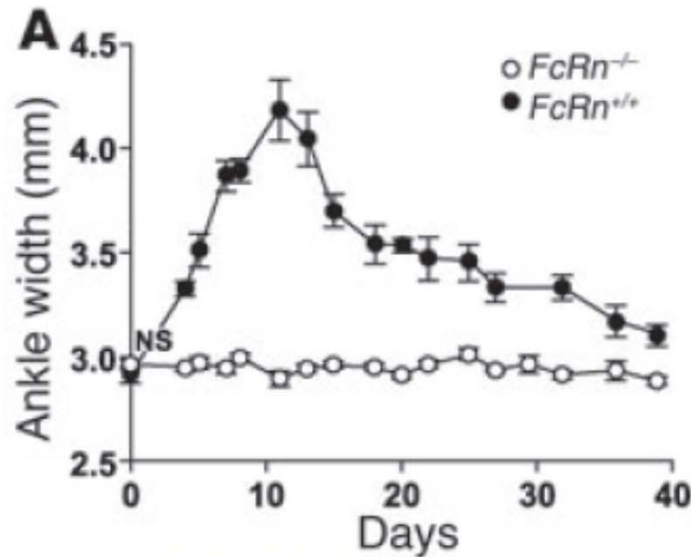


IgG half-life in $\beta 2m$ KO and wt mice



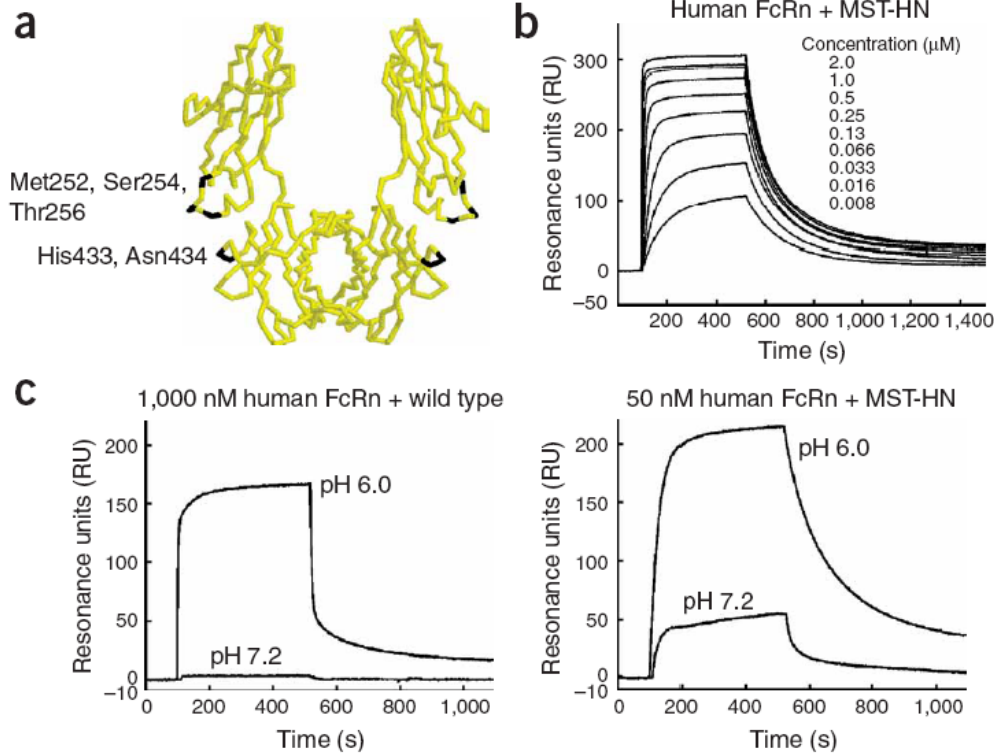
Junghans & Anderson. 1996. PNAS

Terápiás célú FcRn telítés



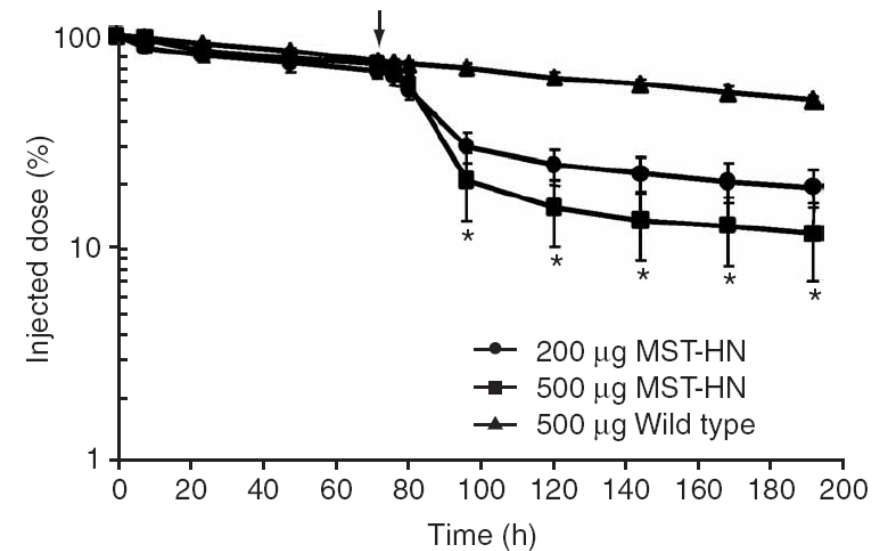
High dose IgG saturates the FcRn consequently it increases the endogen IgG catabolism – IVIG is efficient in treating autoimmune arthritis
Increases the clearance of the anti-glucose-6-phosphate isomerase (α -GPI)

Terápiás célú FcRn blokkolás



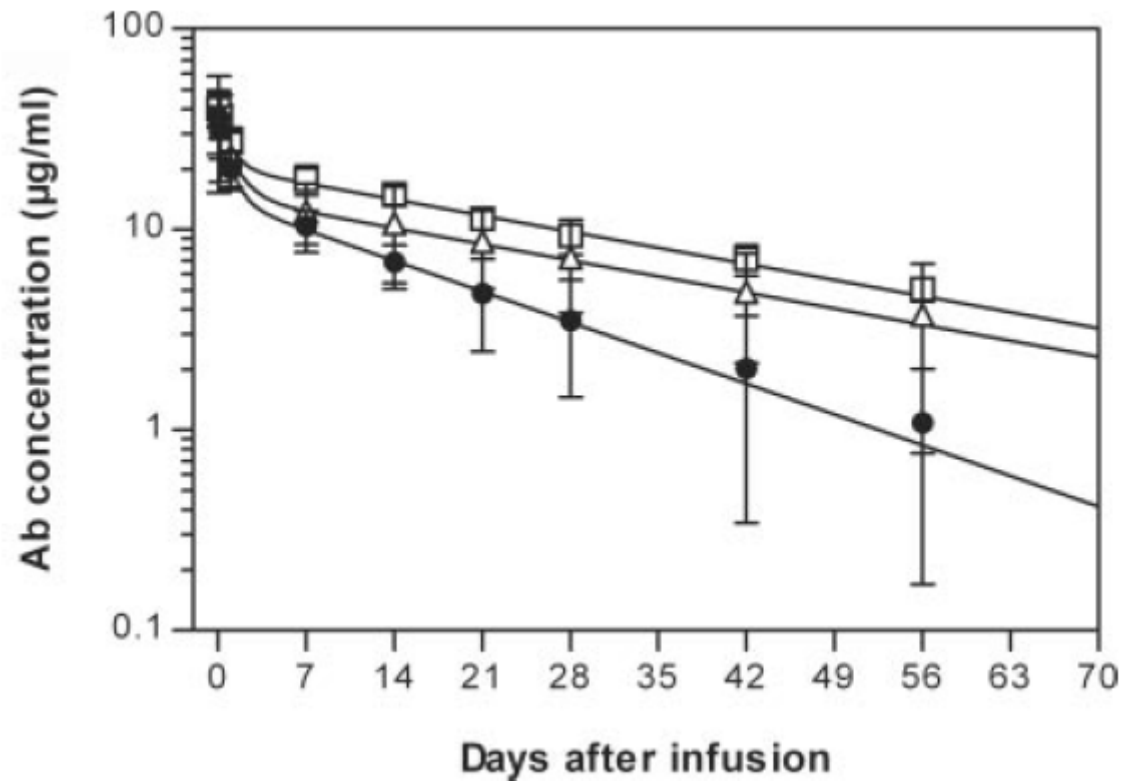
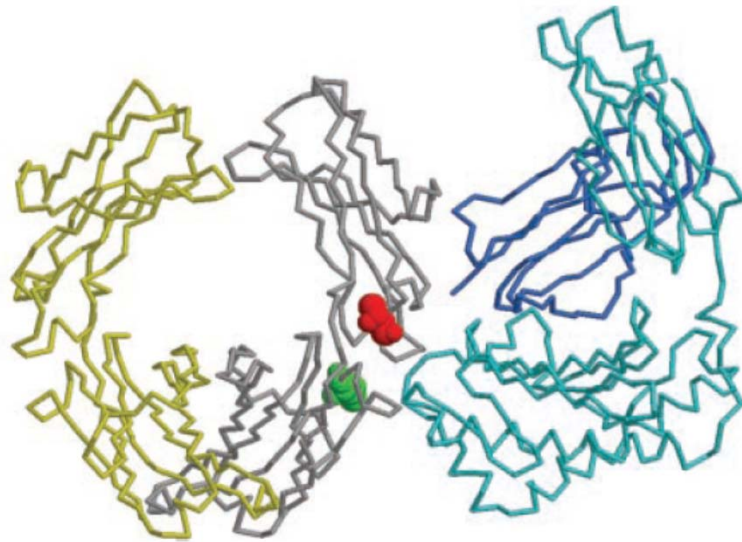
Mutated IgG binds to the FcRn much stronger even at pH 7.4 (no pH dependent dissociation)

Fokozza az IgG katabolizmusát

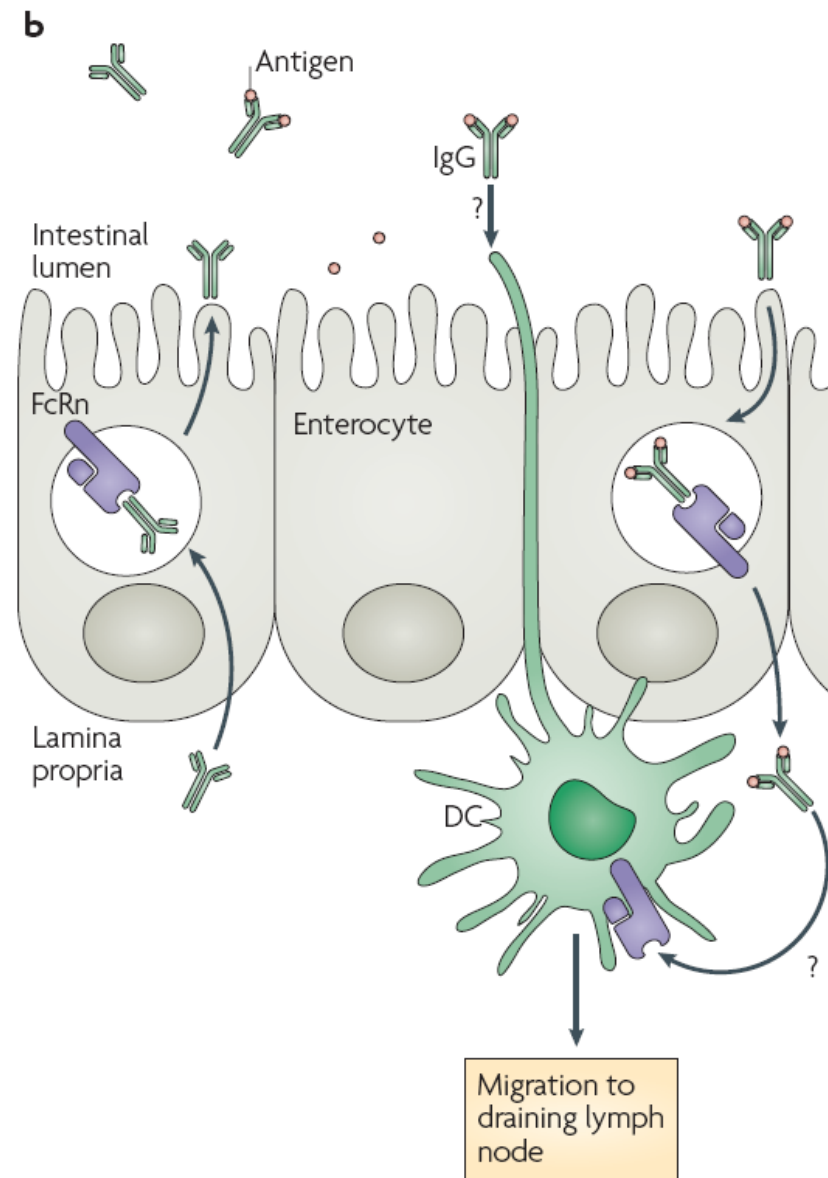


Vaccaro et al. 2005. Nat Biotech

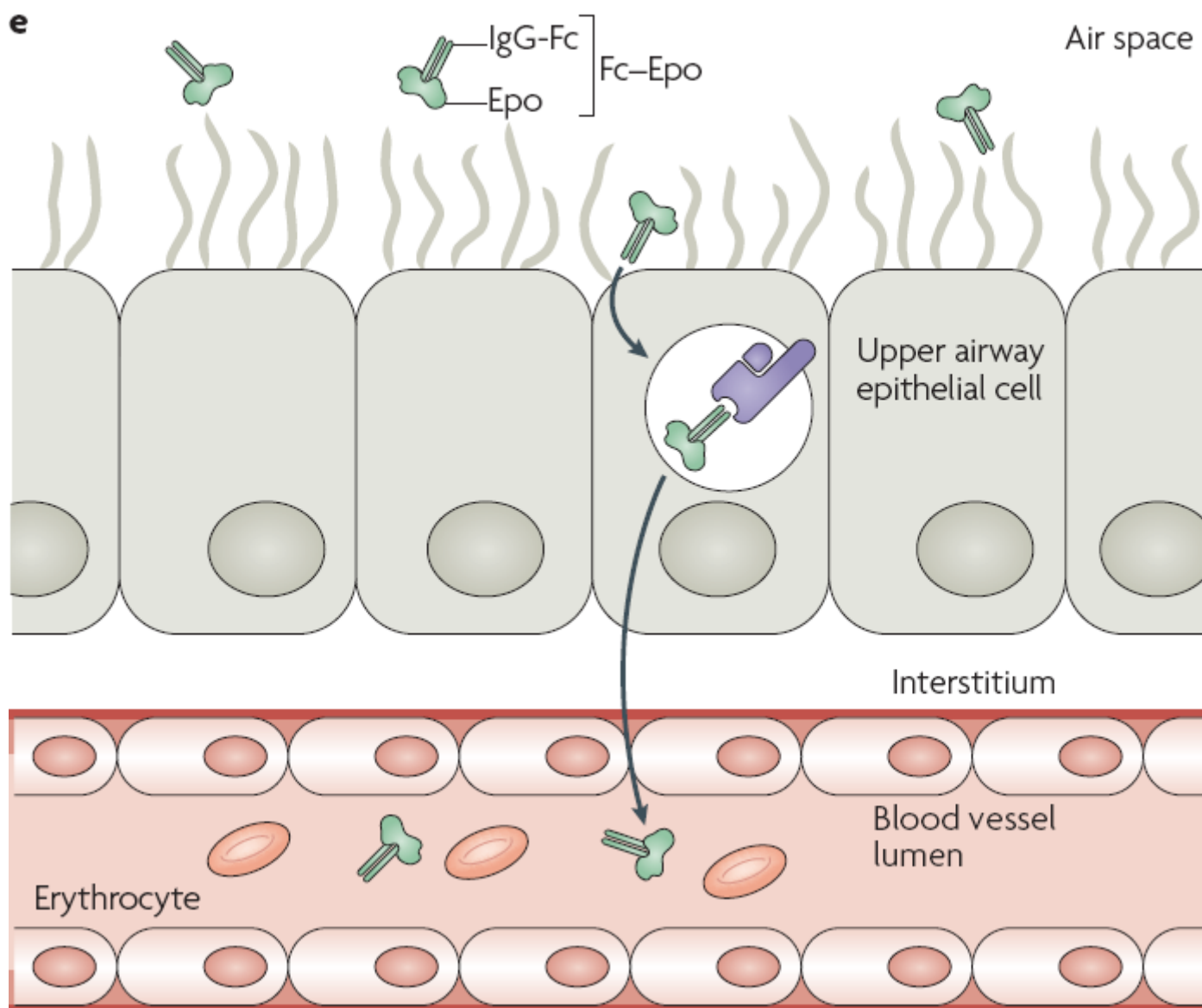
Engineered antibodies with longer half-lives (e.g. monoclonal tumor therapy with humanized monoclonals)



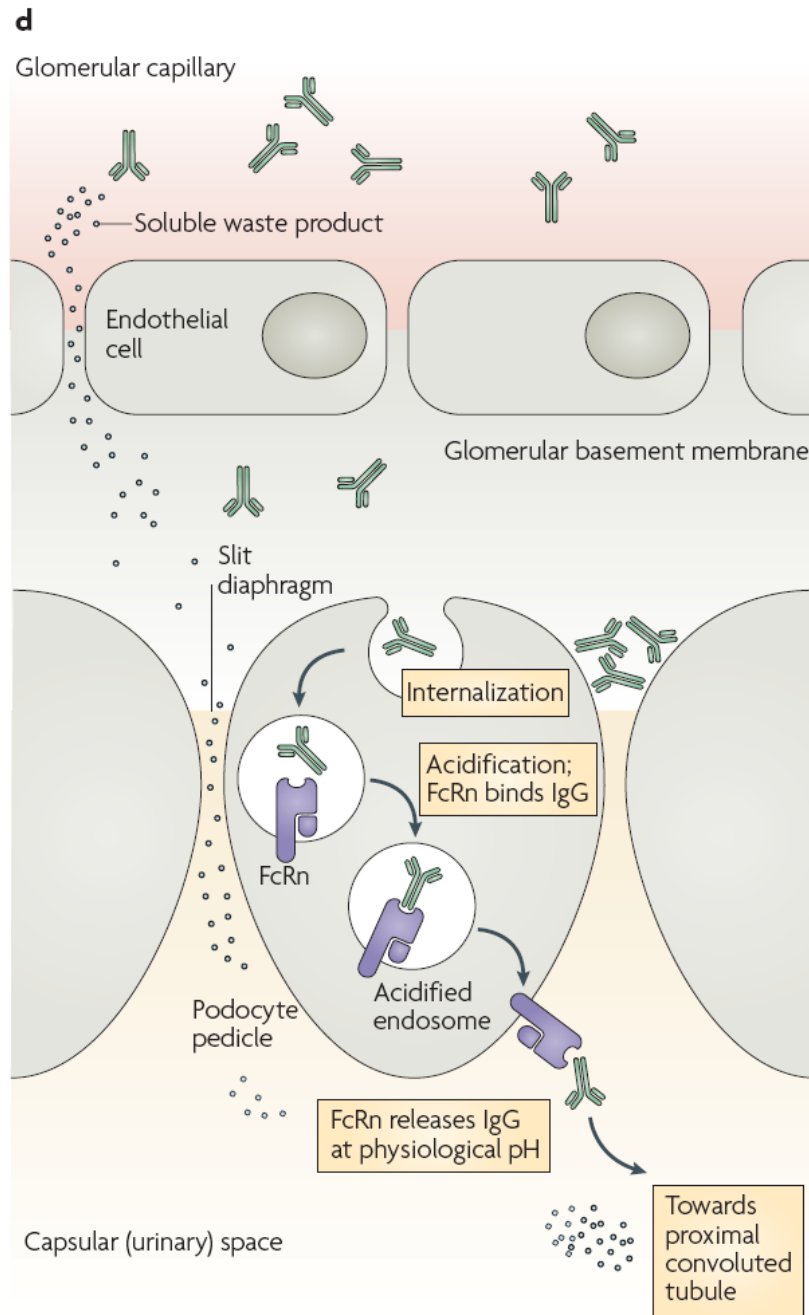
Az FcRn mediált immunfelismerés – vékonybél enterociták



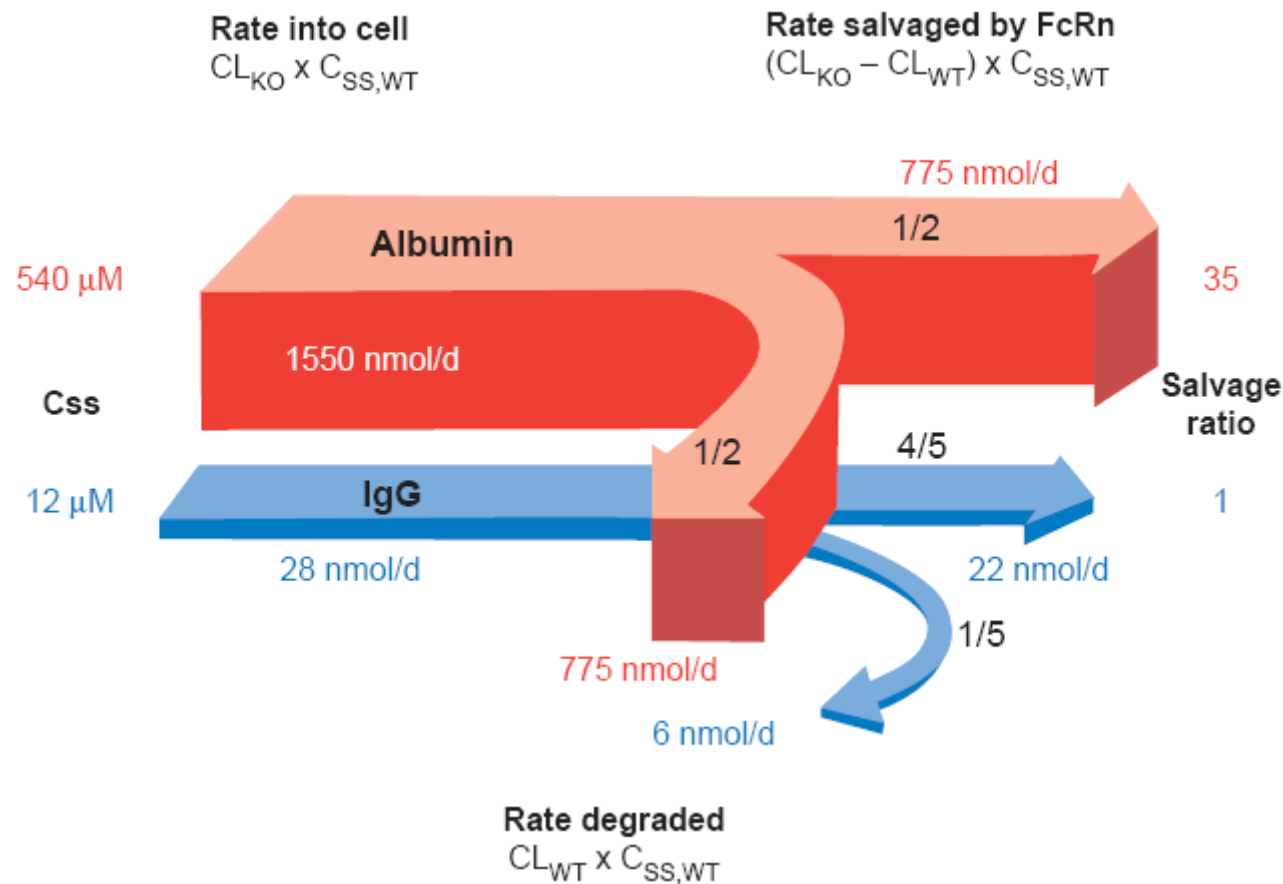
Az FcRn mediált IgG, IgG-Fc-Epo felvétel a légutakban



Az FcRn mediált IgG felvétel a vesében



Az FcRn lényegesen több albumint véd meg a lebomlástól, mint amennyi IgG molekulát



FcRn szabályozza az IgG és az albumin katabolizmusát

Jövő heti program...

Az ellenanyagokra épülő immunválasz
(komplement aktiváció, opszonizáció,
ADCC, neutralizáció)

Varga Lilian