

Received: 08.08.2017
Accepted: 01.12.2017
Published: 25.07.2018

Noworodkowy receptor Fc (FcRn) – nie tylko transporter matczynych IgG

Neonatal Fc receptor (FcRn) – not only transporter of maternal IgG

Joanna E. Mikulska

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Noworodkowy receptor Fc (FcRn) jest transbłonową, heterodimeryczną glikoproteiną o strukturze podobnej do cząsteczek MHC klasy I. W przeciwieństwie do antygenów MHC I, FcRn jest niezdolny do wiązania peptydów (antygenów), lecz oddziałuje z fragmentem Fc IgG i albuminą. Interakcja FcRn-IgG, jak również interakcja FcRn-albumina, zachodzi w środowisku kwaśnym (optymalnie w pH 5,0-6,5), a nie w środowisku fizjologicznym. Te dwa ligandy wiążą się do odrębnych miejsc w cząsteczce receptora, a mechanizmy ich interakcji z FcRn są odmienne. Obecnie wiadomo, że ekspresja FcRn nie jest ograniczona do miejsc zaangażowanych w transport matczynych IgG oraz że ten receptor jest nie tylko odpowiedzialny za przekazywanie biernej odporności od matki do potomstwa. FcRn ma znacznie szerszy zakres ekspresji i funkcji – przez całe życie i w wielu różnych typach komórek oraz tkanek ludzi i zwierząt. W artykule podsumowano dotychczasowe dane dotyczące ekspresji, interakcji FcRn-ligand oraz funkcji noworodkowego receptora Fc. Przedstawiono również możliwości wykorzystania obecnej wiedzy o receptorze FcRn do celów terapeutycznych.

Słowa kluczowe: FcRn · promotor · IgG · albumina · okres półtrwania · prezentacja antygeny · odporność w obrębie błon śluzowych

Summary

The neonatal Fc receptor, (FcRn) is a transmembrane, heterodimeric glycoprotein with a structure similar to MHC class I molecules. In contrast to MHC class I antigens, FcRn does not bind to peptides (antigens) but interacts with the Fc fragment of IgG and albumin. The FcRn-IgG interaction as well as the FcRn-albumin interaction occur at acidic pH (optimally at pH 5.0-6.5) but not in physiological environment. These two ligands bind to distinct binding sites on the receptor molecule and by different mechanisms. Now, it is known that the expression of FcRn is not restricted to sites involved in the transport of maternal IgG, and this receptor is not responsible only for transfer the passive immunity from mother to the offspring. But FcRn has a much broader range of expression and function, throughout life and in many different cell types and tissues of humans and animals. This review summarizes the status of our knowledge on the expression, interaction with ligands and functions of the neonatal Fc receptor. This article shows also the possibilities of utilizing a current knowledge on FcRn for therapeutic purposes.

Keywords: FcRn · promoter · IgG · albumin · half life · antigen presentation · mucosal immunity

GICID	01.3001.0012.2094
DOI:	10.5604/01.3001.0012.2094
Word count:	16505
Tables:	–
Figures:	7
References:	125

Adres autorki: dr hab. Joanna E. Mikulska, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: mikulska@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **AChR** – receptor acetylocholinowy, **BeWo** – linia komórkowa wyprowadzona z ludzkiego raka kosmówkowego; **β2m** – beta 2-mikroglobulina, **bFcRn** – bydłęcy FcRn, **CLTA-4** – antygen-4 cytotoksycznych limfocytów T, **DCs** – komórki dendrytyczne, **EE** – endosom wczesny, **ER** – siateczka śródplazmatyczna, retikulum endoplazmatyczne, **FCGRT** – gen kodujący łańcuch ciężki ludzkiego receptora FcRn, **Fc/IgG** – fragment Fc immunoglobuliny G, **FcRn** – noworodkowy receptor Fc, **FcRn KO DCs** – komórki dendrytyczne pozbawione genu dla FcRn, **FSH** – folikulotropina, **GFP** – białko zielonej fluorescencji, **hFcRn** – ludzki receptor FcRn, **hIgG** – ludzka immunoglobulina G, **IgG-IC** – kompleks immunologiczny IgG-antygen, **Inr** (initiator) – element inicjatorowy zawierający miejsce startu transkrypcji, kieruje inicjacją transkrypcji, **IL** – interleukina, **MALT** – tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi, **MLNs** – węzły chłonne krezki, **OVA** – owoalbumina; **PMA** – ester forbolu: 12-mirystynian, 13-octan forbolu, **RSV** – syncytialny wirus oddechowy, **SHIV** – małpi odpowiednik ludzkiego wirusa HIV, **siRNA** – krótki interferujący RNA, **TCS** – transportowe nośniki (pęcherzyki), **Tfs** – czynniki transkrypcyjne.

WSTĘP

Przeszło 50 lat temu F.W. Rogers Brambell (1901-1970) prognozował istnienie „ochronnego” receptora Fc (FcRp), odpowiedzialnego za kontrolę katabolizmu IgG i przekazywanie biernej odporności od matki na potomstwo. Postulował, że oba te procesy wymagają: wiązania IgG do receptora FcRp, o charakterze wysycalnym i zdolności do odwracalnego wiązania liganda oraz transportu endosomalnego cząsteczek immunoglobuliny G (związanych z FcRp) do krążenia krwi. Dzięki temu są chronione przed degradacją przez enzymy lizosomalne [18,20]. Hipoteza Brambella była oparta na badaniach jego zespołu [19,21] oraz innych grup badawczych [14,42,50]. Badania te wykazały, że tylko matczyne przeciwciała klasy IgG są przekazywane do płodu i noworodków, a ich transport jest zależny od fragmentu Fc/IgG. Inspiracją były też obserwacje, że metabolizm immunoglobuliny G różni się od metabolizmu innych klas immunoglobulin, a mianowicie: IgG mają najdłuższy okres półtrwania w krążeniu; szybkość ich katabolizmu jest wprost proporcjonalna do ich stężenia we krwi oraz zwiększa się z hiperimmunizacją [31,99]; katabolizm IgG jest w pełni zależny od fragmentu Fc/IgG [105].

W latach 70 XX w. wykazano, że zdolność ssących noworodków szczurów do pochłaniania IgG z mleka matki jest procesem zależnym od pH, który obejmuje endocytozę, transcytozę IgG przez barierę nabłonka jelita, a następnie ich uwolnienie do krwiobiegu. Wchłanianie IgG odbywa się w środowisku kwaśnym poprzez wiązanie się

fragmentu Fc/IgG, do powierzchni apikalnej nabłonka jelita cienkiego noworodków [91]. Wkrótce potem wyizolowano receptor Fc z rąbka szczoteczkowego nabłonka jelita cienkiego noworodków szczurów i zidentyfikowano jako cząsteczkę odpowiedzialną za opisane wyżej obserwacje oraz wykazano, że jest to heterodimeryczne białko składające się z dwóch podjednostek: 45-53 (p51) i 12-14 kDa [104]. Simister i Mostov [103] sklonowali podjednostkę p51 oraz wykazali strukturalne podobieństwo tego receptora Fc do antygenów MHC klasy I. Nadano mu nazwę „noworodkowy receptor Fc” (the neonatal Fc receptor), w skrócie FcRn. Sugestią do nadania tej nazwy było pierwotne miejsce jego identyfikacji – nabłonek jelita cienkiego noworodków szczurów. Nazwa „noworodkowy receptor Fc”, choć już archaiczna (obecnie wiadomo, że FcRn jest receptorem o znacznie szerszym zakresie ekspresji i funkcji, w ciągu całego życia, u ludzi i zwierząt), wciąż obowiązuje.

W 1994 r. ludzki homolog noworodkowego receptora Fc (hFcRn) sklonowano z biblioteki cDNA łożyska ludzkiego i wykazano obecność transkryptu hFcRn nie tylko w łożysku ludzkim, ale także w nerce, śledzionie i jelicie cienkim ludzkiego płodu oraz w wielu narządach dorosłych ludzi [106]. Od tego czasu rozpoczęły się okres intensywne badania nad receptorem FcRn: jego obecnością w różnych typach komórek i tkanek ludzi i zwierząt, krystalograficzną strukturą FcRn i kompleksu FcRn-ligand, mechanizmem oddziaływań FcRn-ligand oraz poznaniem biologicznych funkcji FcRn. Uzyskano bezpo-

średnie dowody, że FcRn jest receptorem postulowanym przez Brambella [18,20] w celu wyjaśnienia długiego okresu półtrwania przeciwciał klasy IgG w krwiobiegu oraz ich przekazywania przez matkę potomstwu. Rozpoczęto badania nad regulacją ekspresji FcRn na poziomie molekularnym, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patofizjologicznych. Uwaga badaczy jest też obecnie skoncentrowana na wykorzystaniu dotychczasowych wyników badań, dotyczących receptora FcRn, przy projektowaniu leków opartych na Fc/IgG ukierunkowanych na FcRn.

Albumina, choć różni się znacznie, funkcjonalnie i strukturalnie od IgG, to podobnie jak immunoglobulina G ma długi okres półtrwania w krwiobiegu (około 3 tygodnie u ludzi), który jest odwrotnie proporcjonalny do jej stężenia. Te wspólne cechy obu cząsteczek skłoniły Schultze i Hermansa do wysunięcia hipotezy w 1966 r., że istnieje receptor dla albuminy, który chroni ją przed katabolizmem poprzez mechanizm identyczny do tego, który zaproponował Brambell dla ochrony IgG przed degradacją [98]. Dopiero w 2003 r. wykazano, że FcRn, oprócz IgG, wiąże albuminę w sposób zależny od pH oraz przedstawiono dowody, że proces katabolizmu albuminy jest kontrolowany przez receptor FcRn [24].

W artykule podjęto próbę podsumowania dotychczasowych danych dotyczących ekspresji noworodkowego receptora Fc, mechanizmu interakcji FcRn-ligand oraz funkcji biologicznych FcRn. Przedstawiono również możliwości wykorzystania obecnej wiedzy o FcRn do celów terapeutycznych

WYSTĘPOWANIE FcRn

FcRn jest obecny na poziomie mRNA i białka nie tylko w narządach zaangażowanych w transport matczy-nych IgG, takich jak: jelito cienkie noworodków szczura i myszy, woreczek żółtkowy gryzoni i królików [2,18], łożysko ludzkie [7,106,107], ale także w różnych typach komórek i tkanek ludzi i zwierząt. Ekspresję FcRn stwierdzono:

- w śródbłonku naczyń włosowatych naczyńki oraz w śródbłonku naczyń siatkówki oka człowieka; śródbłonku naczyń krwionośnych siatkówki, tęczówki i rogówki oka gryzoni, jak również naczyń limfatycznych spojówki i w strukturach naczyń nerwu wzrokowego gryzoni; śródbłonku naczyń włosowatych mózgu gryzoni [84]; w śródbłonku naczyń włosowatych ludzkich płuc [114], skóry [76] oraz błony śluzowej ludzkiego nosa [43]; w śródbłonku naczyń mięśni szkieletowych i skóry myszy [3]; śródbłonku naczyń skóry i błony śluzowej dwunastnicy bydła [47]; w śródbłonku naczyń mięśni gładkich wielbłąda dwugarb-nego – baktriana [122],
- w nabłonku kosmków i krypt jelita cienkiego i okrężnicy człowieka oraz w nabłonku jelitowym ludzkiego płodu [100], nabłonku jelitowym świni, jagniąt [40];

w komórkach nabłonka śluzówki żołądka wielbłąda dwugarb-nego [122]; nabłonku śluzówki ludzkiego nosa [43], nabłonku spłotu naczyńkowego (choroid plexus) mózgu szczura i myszy [3]; w nabłonku ciała rzęskowego i w nabłonku barwnikowym siatkówki ludzkiego oka [84,111]; nabłonku rogówki i soczewki oka gryzoni [84]; w komórkach nabłonkowych żeńskich narządów płciowych ludzi i myszy [56]; w rąbku szczotczkowym nabłonka kanalika proksymalnego ludzkich nerek oraz w podocytach ludzkich i mysich nerek [4]; nabłonku oskrzeli i pęcherzyków płucnych gryzoni, bydła, makaków, ludzi [94]; w komórkach nabłonkowych przewodów i gronek gruczołu mlekowego owcy, myszy, bydła, opos-torbacza, świni, wielbłąda jednogarb-nego, bawołów wodnych [96] oraz ludzi [26].

Ponadto, ekspresję FcRn zaobserwowano w hepatocytach gryzoni, bydła, świni, owcy, wielbłąda jednogarb-nego [48] oraz w keratynocytach ludzkich [22].

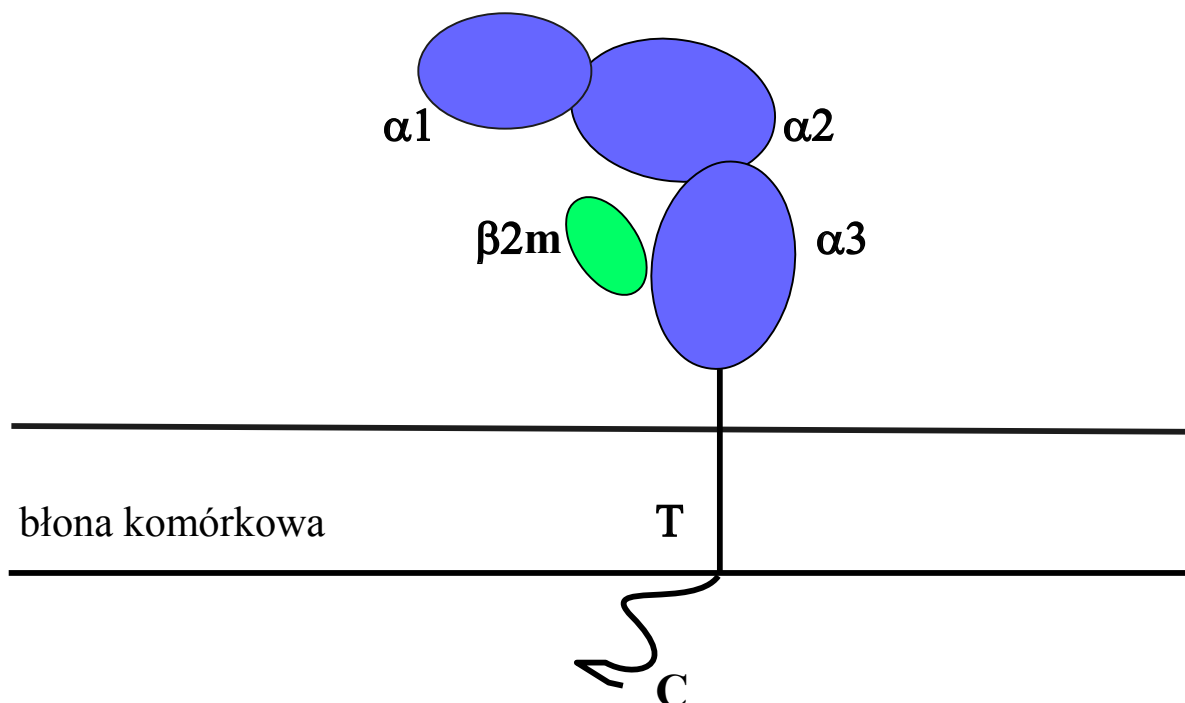
Obecność receptora FcRn wykazano również w komórkach układu immunologicznego, takich jak: ludzkie monocyty krwi obwodowej, komórki dendrytyczne i makrofagi ludzkie, mysie, bydła, wielbłąda dwugarb-nego [3,97,122,124], ludzkie i mysie neutrofile [112], komórki B mysie i bydła [79,97]. Wprawdzie FcRn wykryto na powierzchni komórek [124], to jednak jest on umiejscowiony głównie wewnątrzkomórkowo, w kwaśnych endosomach [54,109]. W ludzkich komórkach nabłonkowych FcRn przeważnie jest obecny przy bazolateralnej powierzchni komórek. Natomiast większe ilości FcRn obserwowano w apikalnych regionach: syncycjotrofoblastów, enterocytów noworodków gryzoni oraz nabłonka kanalika proksymalnego ludzkich nerek [27].

STRUKTURA FcRn I LUDZKIEGO GENU *FCGR2*

Analiza sekwencji cDNA dla FcRn myszy i szczura [2,103], ludzi [106] i bydła [49], a także badania krystalograficzne FcRn [116] i immunochemiczne [104], ujawniły strukturę podjednostkową FcRn i jego podobieństwo do antygenów klasy I głównego kompleksu zgodności tkankowej.

FcRn jest heterodimerem składającym się z dwóch różnych łańcuchów polipeptydowych: ciężkiego i lekkiego. Łańcuch ciężki α (45 kDa u ludzi i bydła, 50 kDa u gryzoni) jest integralną błonową glikoproteiną, w jego strukturze wyróżnia się rejon zewnątrzkomórkowy (domeny $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$), po którym następuje krótki rejon transbłonowy i krótki rejon cytoplazmatyczny. Łańcuch ciężki jest połączony niekowalencyjnie z łańcuchem lekkim (14 kDa), który stanowi $\beta 2$ -mikroglobulina ($\beta 2m$) (ryc.1).

Obecność $\beta 2m$ w strukturze FcRn świadczy o podobieństwie noworodkowego receptora Fc do antygenów klasy I głównego kompleksu zgodności tkankowej. Również rejon zewnątrzkomórkowy łańcucha ciężkiego FcRn jest podobny w sekwencji i domenowej organizacji do zewnątrzkomórkowych domen antygenów MHC klasy I. Badania krystalograficzne [116] wykazały, że domeny $\alpha 1$



Ryc. 1. Schemat struktury FcRn: **α1, α2, α3** – domeny części zewnątrzkomórkowej łańcucha ciężkiego (α), **T** – segment transbłonowy, **C** – domena cytoplazmatyczna, **β2m** – β2-mikroglobulina (łańcuch lekki)

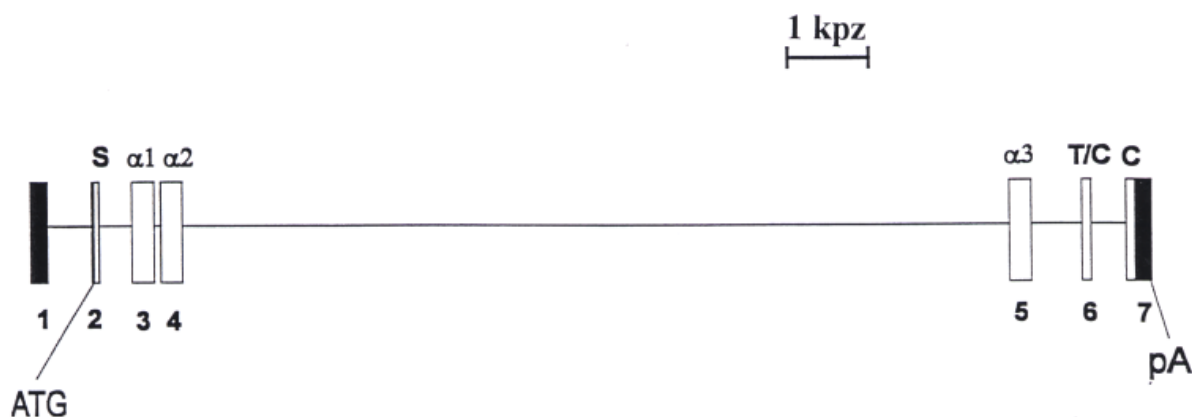
i α2 łańcucha ciężkiego obu cząsteczek, zarówno FcRn jak i antygenów MHC klasy I tworzą platformę złożoną z ośmiu przeciwrównoległych β-pasm, nakrytą przez dwie długie α-helisy. Domena α3 i β2m, zarówno w receptorach FcRn, jak i w antygenach MHC klasy I, znajdują się poniżej platformy α1-α2. Łańcuch ciężki FcRn oddziałuje z β2m poprzez reszty umiejscowione w dolnej części platformy α1-α2 i w domenie α3. W antygenach MHC I dwie α-helisy domen α1 i α2 są rozdzielone szczeliną o długości ~ 25 Å, stanowiącą miejsce wiązania peptydów. Natomiast w FcRn α-helisy są znacznie bliżej siebie, co sprawia, że receptor jest niezdolny do wiązania peptydów. Początkowo sądzono, że jest to jedynie wynikiem obecności proliny 165 w helisie α2 FcRn w miejsce waliny w cząsteczce MHC klasy I. Podstawienie waliny w pozycji 165 proliną w cząsteczce MHC klasy I nie miało jednak wpływu na prezentację peptydu komórkom T sugerując, że inne różnice w sekwencji aminokwasowej między FcRn i MHC I mogą się przyczyniać do zamknięcia szczeliny [82]. Reszty aminokwasowe Gln-73, Glu-77 i Gln-146, leżące po prawej stronie (skierowanej do wnętrza szczeliny) domen α1 i α2 receptorów FcRn, mogą uczestniczyć w wiązaniach wodorowych między helisą α1 i α2. Ponadto, obecność reszt hydrofobowych: Leu-74, Phe-75, Phe-112, Trp-129 i Trp-143 w domenach α1 i α2, umieszczonych obok siebie w zamkniętej szczelinie wskazuje, że hydrofobowe interakcje również mogą się przyczyniać do zamknięcia szczeliny.

Połączenie łańcucha ciężkiego (α) receptora FcRn z β2m odbywa się w retikulum endoplazmatycznym (ER) z udziałem białek światła ER: kalneksyny, ERp57

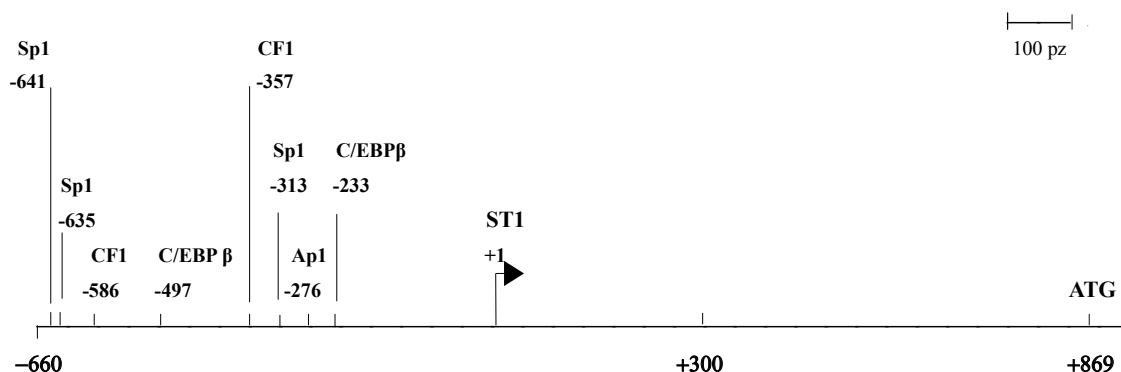
oraz karetikuliny. Utworzenie heterodimeru FcRn jest koniecznym warunkiem do wyjścia FcRn z ER i transportu na powierzchnię komórki, gdzie zachodzi internalizacja i przeniesienie FcRn do wewnątrzkomórkowych przedziałów endocytarnych. Łańcuch lekki FcRn uczestniczy także w wiązaniu i w transporcie IgG [125]. W rejonie cytoplazmatycznym łańcucha ciężkiego FcRn zidentyfikowano motywy sygnalizacyjne, takie jak: tryptofan 311, motyw dwuleucynowy Leu-322 Leu-323, regulujące endocytozę i transcytozę FcRn i jego liganda – IgG oraz motyw Arg-301 Arg-303 wiążący kalmodulinę (w sposób zależny od wapnia), kontrolujący transcytozę FcRn i IgG z udziałem FcRn w spolaryzowanych komórkach nabłonkowych [28].

Łańcuch ciężki FcRn szczura i myszy ma cztery miejsca N-glikozylacji: Asn-87 (domena α1), Asn-105 i Asn-129 (domena α2) oraz Asn-226 (domena α3) [2,103]. Łańcuch ciężki ludzkiego i bydłęcego FcRn ma tylko jedno miejsce N-glikozylacji (Asn-102, zlokalizowana w domenie α2 ludzkiego FcRn, Asn-124 w domenie α2 bydłęcego FcRn) [49,106]. Stwierdzono, że N-glikany w szczurzym FcRn (rFcRn) mają wpływ na dystrybucję rFcRn i kierunek transportu IgG prowadzony przez rFcRn w spolaryzowanych komórkach nabłonkowych [52]. Łańcuch α ludzkiego FcRn wykazuje 65% identyczności sekwencji aminokwasowej z jego szczurzym i mysim odpowiednikiem [2], 77-75% z bydłęcym, świni, psa, owcy, wielbłąda [6,48] oraz 98% orangutana i makaków [6].

Mikulska i wsp.[71] wyizolowali z biblioteki genomowej ludzki gen *FCGRT*, który koduje łańcuch ciężki ludzkiego



Ryc. 2. Schemat organizacji genu (*FCGRT*) kodującego łańcuch ciężki ludzkiego receptora FcRn. Eksony pokazano jako ponumerowane prostokąty (1-7), poziomą linią oznaczono introny, rejony niepodlegające translacji zaczerpniono. Zaznaczono miejsca kodowania: **S** – sekwencji sygnałnej; **α1**, **α2**, **α3** – domeny zewnętrznych; **T** – domeny transbłonowej; **C** – domeny cytoplazmatycznej. **ATG** – kodon inicjujący translację, **pA** – miejsce poliadenylacji



Ryc. 3. Schematyczny diagram rejonu flankującego końca 5' ludzkiego genu *FCGRT*. Główne miejsce startu transkrypcji (**ST1**) zaznaczono strzałką, lokalizację sekwencji: **Sp1**, **CF1**, **Ap1**, **C/EBPβ** w obrębie promotora, zaangażowanych w regulację transkrypcji genu *FCGRT* wskazują pionowe linie. **ATG** – kodon inicjujący translację

noworodkowego receptora Fc (hFcRn), a następnie określili jego sekwencję i organizację ekson-intron. Ludzki gen *FCGRT* znajduje się na chromosomie 19 w pozycji 19q13.3, ma długość około 14 kbp i składa się z 7 eksonów przedzielonych 6 intronami typu U2. Sekwencja kodującego rejonu genu *FCGRT* jest identyczna z sekwencją cDNA dla hFcRn, sklonowanego z ludzkiego łożyska [106]. Analiza sekwencji 7 eksonów wykazała, że eksony ludzkiego genu *FCGRT* kodują następujące rejony i domeny: ekson 1 – większą część rejonu 5'-UTR (rejon niepodlegający translacji), ekson 2 – resztę rejonu 5'-UTR oraz sygnałną sekwencję i pierwszy aminokwas domeny α1, ekson 3 – resztę domeny α1, ekson 4 – domenę α2, ekson 5 – domenę α3, ekson 6 – koduje rejon transbłonowy i 7 pierwszych aminokwasów domeny cytoplazmatycznej, ekson 7 – koduje pozostałe 36 aminokwasów rejonu cytoplazmatycznego i rejon 3'-UTR obejmujący 2 potencjalne sygnały poliadenylacyjne (ryc. 2). Duży intron (~10 kbp) między eksonami 4 i 5 jest upakowany powtarzającymi się sekwencjami typu Alu.

Za pomocą techniki wydłużania startera (primer extension) wykazano istnienie w odległości 869

i 828 par zasad powyżej kodonu ATG, dwóch głównych miejsc startu transkrypcji (ST1, ST2) [71]. Promotor hFCGRT ludzkiego genu *FCGRT* został określony w 2000 r. przez Mikulską i Simistera [72]. Jest umiejscowiony w obrębie rejonu flankującego końca 5' genu dla hFcRn, pomiędzy -660 a +300 nukleotydem (ryc. 3). Analiza sekwencji nukleotydowej promotora hFCGRT wykazała, że jest pozbawiony typowej kasety TATA (TATA-box), obecnej w większości genów transkrybowanych przez RNA polimerazę II, chociaż sekwencja TAAAA położona 18 pz w górę od miejsca startu transkrypcji – ST1 może być nietypową kasetą TATA. Element Inr swoją sekwencją nie obejmuje miejsc startu transkrypcji. Promotor hFCGRT wydaje się dlatego typem promotora TATA⁻Inr⁻ lub niekonwencjonalnym typem TATA⁺Inr⁻. Ponadto stwierdzono, że fragment -660/-233 pz promotora hFCGRT jest niezbędny do jego aktywności transkrypcyjnej: usunięcie tej sekwencji znosi prawie całkowicie aktywność promotora. Przeprowadzone w następnych latach badania [70] wykazały, że miejsca wiązania Sp w pozycjach -641, -635 i -313, elementy CF1/YY1 w pozycjach -586 i -357 oraz motyw Ap-1 w pozycji -276 w obrębie fragmentu -660/-233 promotora

hFCGRT, funkcjonalnie współpracują ze sobą w regulacji konstytutywnej transkrypcji ludzkiego genu *FCGRT* w komórkach nabłonkowych, śródbłonkowych i w zróżnicowanych do makrofagów komórkach THP-1. Jednak ich indywidualny wpływ na aktywność promotora nie jest równoważny. Miejsce wiązania Sp w pozycji -313 i Ap-1 w pozycji -276 są niezbędne do aktywności promotora hFCGRT w wyżej wymienionych komórkach, a w zróżnicowanych komórkach THP-1, także miejsce wiązania CFI/YY1 w pozycji -586 jest istotne dla aktywności transkrypcyjnej genu *FCGRT*. Mutacje tych miejsc wiązania dla czynników transkrypcyjnych radykalnie obniżają aktywność promotora hFCGRT (~ 90%). Wykazano, że funkcjonalne miejsca wiązania czynników transkrypcyjnych (TFs, transcription factors), zidentyfikowane w promotorze hFCGRT, oddziałują w sposób swoisty z ich odpowiednimi TFs: Sp1, Sp2, Sp3, c-Fos/c-Jun i YY1 [70], sugerując ich zaangażowanie w regulacji ekspresji ludzkiego genu *FCGRT*. W promotorze mysiego genu *Fcgrt* zidentyfikowano także motyw Sp1, który jest istotny w regulacji ekspresji genu receptora FcRn u myszy [108].

Badania ostatnich lat wskazują, że transkrypcję ludzkiego genu *FCGRT* regulują cytokiny: IFN- γ , IL-1 β , TNF- α oraz LPS i PMA. Wykazano, że sekwencje C/EBP β (w pozycjach -497 i -233) w obrębie promotora hFCGRT, są odpowiedzialne za zwiększoną transkrypcję genu *FCGRT* w odpowiedzi na stymulację komórek THP-1 estrem forbolu (PMA) i LPS, a motyw C/EBP β (w pozycji -497) za zwiększoną aktywność promotora hFCGRT w nabłonkowych i śródbłonkowych liniach komórkowych [70]. Dowiedziono, że cytokiny, takie jak TNF- α i IL-1 β , zwiększają transkrypcję *FCGRT* w komórkach THP-1 i Caco-2 poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (p65/p50) lub p50/p50 wiążącego się do odpowiednich miejsc wiązania umiejscowionych w intronach 2 i 4 genu *FCGRT*. Natomiast IFN- γ obniża ekspresję *FCGRT* przez aktywację ścieżki sygnałowej JAK-STAT-1 [59]. Udowodniono, że infekcja koronawirusem TGEV (z podrodziny *Coronaviridae*) zwiększa ekspresję FcRn, na poziomie mRNA i białka, w komórkach nabłonkowych jelita świni przez aktywację klasycznego szlaku sygnałowego NF- κ B. Czynnikiem NF- κ B jest zaangażowany też w regulację ekspresji bydlęcego FcRn [41].

Na ekspresję receptora hFcRn w monocytach wpływa także polimorfizm VNTR (variable number of tandem repeats) zidentyfikowany w obrębie promotora hFCGRT. Pojedynczy motyw o długości 37 pz wykazuje liczbę powtórzeń między 1 a 5 (VNTR1-5), przy czym allele zawierające 2 (VNTR2) i 3 (VNTR3) powtórzenia najczęściej występują u ludzi rasy białej. Wykazano, że monocyty pochodzące od osobników heterozygotycznych VNTR2/VNTR3 mają niższy poziom ekspresji transkryptu FcRn i zmniejszoną zdolność wiążącą IgG w porównaniu z monocytami pochodzącymi od osobników homozygotycznych VNTR3/3 [93].

Wyniki uzyskane z obecnych badań nad regulacją eks-

presji receptora FcRn na poziomie transkrypcji są podstawą do kontynuowania tych prac w celu dokładnego poznania i wyjaśnienia molekularnych mechanizmów regulacji ekspresji genu dla FcRn. Badania te, mogą się przyczynić również do lepszego zrozumienia biologicznych funkcji FcRn. Wyniki tych badań mogą mieć też istotny aspekt praktyczny – stwarzając możliwość wpływu na ekspresję FcRn i tym samym na modulowanie funkcji tego receptora.

MECHANIZM INTERAKCJI FcRn-LIGAND

Biochemiczne i krystalograficzne badania ujawniły, że FcRn przyjmuje strukturę, która pozwala na interakcję, zarówno z cząsteczką IgG, jak i albuminy [23,24]. FcRn oddziałuje z każdym z tych ligandów poprzez miejsca wiążące obecne na przeciwległych powierzchniach łańcucha ciężkiego FcRn [78]. IgG i albumina mogą jednocześnie, ale bez współzawodnictwa i kooperacji między sobą, wiązać się (*in vitro*) do FcRn [23]. Jakkolwiek nie jest wyjaśnione, czy pojedyncza cząsteczka FcRn może jednocześnie transportować oba ligandy. Wiązanie IgG do FcRn [91,104,106], jak również wiązanie albuminy [24] zależy od wartości pH. Optymalne wiązanie stwierdza się w pH 5,0-6,5, natomiast w pH \geq 7,0 wiązanie jest niewykrywalne.

Z analizy krystalograficznej kompleksu FcRn-Fc/IgG [78,116], z badań biochemicznych oraz techniką SPR (surface plasmon resonance) [1] wynika, że stechiometria interakcji FcRn-Fc/IgG jest 2:1. Dwie cząsteczki FcRn wiążą symetrycznie jedną cząsteczkę IgG poprzez jej fragment Fc [1,78]. Natomiast FcRn wiąże albuminę ze stechiometrią 1:1 [23], co sprawia, że powinowactwo wiązania albuminy do FcRn jest znacznie niższe niż interakcji FcRn-IgG.

Miejsce wiążące FcRn, obecne we fragmencie Fc/IgG oraz miejsce wiązania Fc/IgG w cząsteczce FcRn zostały wyznaczone metodami takimi jak ukierunkowana mutageniza, krystalografia oraz metodą mechaniki i dynamiki molekularnej. Reszty aminokwasowe uczestniczące w wiązaniu IgG do FcRn są umiejscowione na styku domen CH2-CH3 fragmentu Fc/IgG. Aminokwasy Ile-253, His-310, His-435 w Fc/hIgG1 są niezbędne w pH-zależnej interakcji z hFcRn. Reszty te są zachowane w obrębie różnych gatunków. W oddziaływaniach hIgG z hFcRn są też zaangażowane reszty: Ser-254 i Tyr-436 (odpowiadające treoninie i histydynie w mysim IgG1/IgG2a, odpowiednio) [101,123]. Ile-253 uczestniczy w hydrofobowych oddziaływaniach z aminokwasami: Leu-112, Phe-117 i Trp-131, obecnymi w domenie α 2 ludzkiego receptora FcRn [44]. Natomiast reszty histydyny: His-310, His-435 regulują zależność interakcji FcRn-IgG od pH. W kwaśnym środowisku ulegają protonowaniu, co umożliwia im formowanie mostków solnych z resztami aminokwasami naładowanymi ujemnie, obecnymi w domenie α 2 łańcucha ciężkiego receptora FcRn. Natomiast w środowisku fizjologicznym histydyny mają ładunek obojętny, pozwalający na oddysocjowanie liganda od

receptora [65]. Mostki solne są istotne w stabilizowaniu hydrofobowych interakcji i wiązań wodorowych między Fc/IgG i resztami aminokwasowymi w obrębie domeny $\alpha 2$ receptora FcRn [44]. Współczesne badania krystalograficzne kompleksu hFcRn-Fc/IgG wykazały, że najważniejszą resztą w pH-zależnym oddziaływaniu IgG z ludzkim FcRn jest His-310 w Fc/IgG, tworząca mostek solny z Glu-115 cząsteczki hFcRn, a His-435 oddziałuje z Asp-130 cząsteczki hFcRn [78].

W oddziaływaniach FcRn z IgG biorą udział reszty aminokwasowe umiejscowione głównie w domenie $\alpha 2$ łańcucha ciężkiego FcRn. W wiązaniu IgG jest zaangażowana również Ile-1 z N-końcowego fragmentu $\beta 2m$, najprawdopodobniej przez oddziaływanie z hydrofobową resztą w pozycji 309 Fc/IgG. Funkcjonalnie ważnymi resztami aminokwasowymi w cząsteczce hFcRn, uczestniczącymi w wiązaniu hIgG, są: Glu-115, Glu-116, Phe-117, Glu-133, Trp-131, Leu-112, Asp-130 i Leu-135 w domenie $\alpha 2$ ludzkiego receptora FcRn. Reszty te są konserwatywne (choć dokładna ich pozycja nieznacznie różni się między gatunkami), z wyjątkiem reszty Leu-135 [44]. Ta reszta jest zamieniona na Asp-137 w mysim FcRn, i na Glu-137 w szczurzym FcRn [2,103]. Wiele innych gatunków, takich jak: wielbłąd, krowa, świnia, owca zawierają w tej pozycji arginę [48].

Analiza krystalograficzna kompleksu hFcRn-HSA oraz ukierunkowana mutagenesa wskazują, że albumina wiąże się do odrębnego miejsca (naprzeciw miejsca wiążącego dla IgG) w cząsteczce FcRn, obejmującego domeny $\alpha 1$ i $\alpha 2$ łańcucha ciężkiego FcRn i szereg reszt w $\beta 2m$. Reszty aminokwasowe cząsteczki albuminy uczestniczące w oddziaływaniach z FcRn są umiejscowione głównie w domenie DIII HSA. Umiarkowany wpływ mają reszty w domenie DI, a domena DII nie bierze bezpośredniego udziału w interakcji z receptorem [95]. Wiązanie albuminy do FcRn, zależne od pH środowiska, wymaga obecności reszt histydy, zarówno w recepto-rze FcRn, jak i w cząsteczce albuminy. Konserwatywne reszty histydy: His-464, His-510, i His-535, ważne w pH-zależnej interakcji z hFcRn, są obecne w obrębie C końca domeny DIII albuminy. W domenie $\alpha 2$ ludzkiego łańcucha ciężkiego FcRn zidentyfikowano, istotną dla wiązania z albuminą, resztę His-166, w otoczeniu czterech konserwatywnych reszt hydrofobowych: Trp-51, Trp-53, Trp-59, i Trp-61, znajdujących się w domenie $\alpha 1$ w obrębie tzw. pętli WW, wrażliwej na pH [95]. His-166 odgrywa kluczową rolę regulacyjną w stabilizowaniu struktury pętli WW między Trp-51 i Trp-61, w sposób zależny od pH. W kwaśnym środowisku struktura tej pętli staje się uporządkowana, przez formowanie stabilnych wiązań wodorowych dodatnio naładowanej His-166 z resztami Glu-54 i Tyr-60 znajdującymi się w domenie $\alpha 1$. W środowisku fizjologicznym, pozbawiona ładunku His-166 traci zdolność oddziaływania z Glu-54 i Tyr-60; w konsekwencji pętla między resztami Trp-51 i Trp-61 staje się strukturalnie nieuporządkowana. Uporządkowana struktura pętli WW jest niezbędna do interakcji FcRn z albuminą. Ponadto, zależne od pH wiązanie albu-

miny z hFcRn jest wynikiem również konformacyjnych zmian zależnych od pH, w obrębie tzw. pętli HH (His-464, His-510, His-535, i Lys-500) w domenie DIII ludzkiej albuminy, umożliwiających wiele hydrofobowych interakcji z pętlą WW cząsteczki hFcRn. Reszty Trp-53 i Trp-59, wyeksponowane na powierzchni pętli WW, kontaktują się bezpośrednio z domeną DIII HSA: Trp-53 z hydrofobową platformą albuminy uformowaną przez konserwatywne reszty: Phe-509, Phe-507, Phe-551, jak również Thr-508 i Thr-527, natomiast Trp-59 oddziałuje z hydrofobowymi resztami: Thr-422, Thr-467, Val-426, Leu-460, i Leu-463 [95].

Z przeprowadzonych badań oddziaływań FcRn-ligand wynika, że interakcja FcRn-albumina jest zależna od pH środowiska i ma głównie charakter hydrofobowy. Wiązanie między albuminą i FcRn jest wynikiem konformacyjnych zmian zależnych od pH w obrębie pętli HH albuminy i pętli WW receptora FcRn, podczas gdy interakcja IgG-FcRn jest spowodowana formowaniem, zależnych od pH, mostków solnych między protonowanymi resztami histydy w Fc/IgG i kwaśnymi resztami aminokwasowymi w domenie $\alpha 2$ cząsteczki FcRn.

Zaobserwowano różnice w swoistości wiązania ludzkiego FcRn i FcRn gryzoni do ich ligandów (IgG i albuminy) z różnych gatunków. hFcRn oddziałuje z IgG ludzkimi, króliczymi i świnki morskiej. FcRn gryzoni jest zdolny do wiązania IgG różnych gatunków (wiąże IgG szczura, myszy, ludzi, bydła, owcy, konia) [77]. Chociaż hFcRn nie może wiązać IgG gryzoni, to wiąże mysia i szczurzą albuminę 100-krotnie silniejszym powinowactwem niż FcRn gryzoni. FcRn gryzoni wiąże bardzo słabo ludzką albuminę w porównaniu z silnym wiązaniem mysiej i szczurzej albuminy oraz ludzkiej immunoglobuliny G [5]. Niekonserwatywna reszta 135/137 w miejscu wiążącym dla Fc/IgG w cząsteczce receptora FcRn determinuje swoistość gatunkową jego interakcji z immunoglobuliną G [123]. Różnice w swoistości gatunkowej wiązania ludzkiego FcRn versus FcRn gryzoni do albuminy są spowodowane niekonserwatywnymi aminokwasami w obrębie domeny DIII albuminy [5].

Rygorystyczne wymogi interakcji FcRn-ligand dotyczące pH środowiska są podstawą dla różnych fizjologicznie ważnych funkcji FcRn.

FUNKCJE FcRn

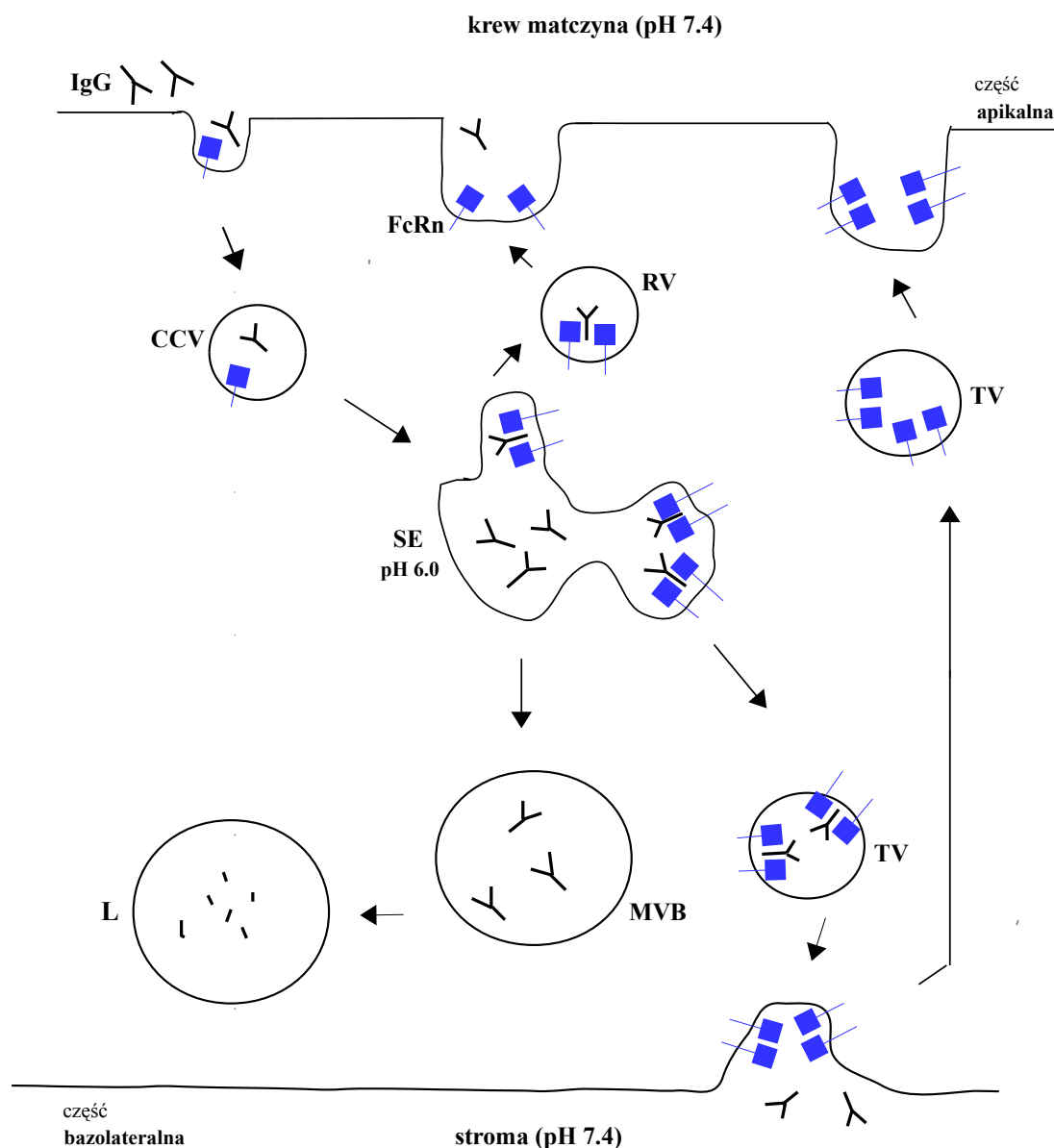
Transport matczynych IgG

Płód i noworodek zawdzięczają początkową przeciwną odporność matczynom immunoglobulinom. U gryzoni przekazanie matczynych IgG noworodkom odbywa się w wyniku transcytozy IgG, zawartych w mleku matki, przez nabłonek jelita cienkiego ssących noworodków. Drugorzędną drogą jest transport IgG z krwi ciężarnej matki do płodu poprzez woreczek żółtkowy. W obu tych procesach głównym transporterem IgG jest noworodkowy receptor Fc [66]. Cząsteczki immunoglobuliny G, zawarte

w mleku matki, wiążą się do receptorów FcRn obecnych na apikalnej powierzchni nabłonka jelita cienkiego noworodków. Powstałe kompleksy FcRn-IgG są wchłaniane w wyniku endocytozy adsorpcyjnej i doprowadzane do wczesnych endosomów. Niezwiązane IgG wędrują do lizosomów, gdzie ulegają degradacji. Natomiast IgG związane z FcRn w pęcherzykach transportujących są przemieszczane do podstawnej powierzchni enterocytów nabłonka jelita w procesie zwanym transcytozą. Następnie pęcherzyki transportujące ulegają fuzji z podstawną powierzchnią błony komórkowej enterocytów i IgG są uwalniane do krążenia noworodków przy pH 7,4 krwi. W przypadku transportu matczynych IgG przez woreczek żółtkowy cząsteczki immunoglobuliny G wnoszone są do wnętrza komórki za pośrednictwem endocytozy fazy płynnej, a wiązanie IgG do FcRn odbywa się w kwaśnym środowisku endosomów. Noworodki przeżuwalcy otrzymują przeciwciała klasy IgG od matki wyłącznie z siarą. Współczesne doniesienia sugerują, że FcRn, obecny w komórkach nabłonkowych przewodów i gronek gruczołu mlekowego karmiących matek tych zwierząt, uczestniczy w procesie powstawania siary [48,96]. U człowieka, świnki morskiej i królika przekazywanie IgG potomstwu odbywa się głównie przed urodzeniem. Narządem odpowiedzialnym za transport matczynych IgG świnki morskiej i królika do płodu jest woreczek żółtkowy [18,21,62]. Ludzkie przeciwciała klasy IgG (wszystkie podklasy) są transportowane z krwi matki (od około 24 tygodnia ciąży) do krwiobiegu płodu poprzez łożysko. Hierarchia przepływu podklas IgG jest następująca: IgG1 > IgG4 > IgG3 > IgG2 [64]. Między 12 a 24 tygodniem ciąży, kiedy transport IgG przez łożysko jest na niskim poziomie, cząsteczki immunoglobuliny G dostają się także do krążenia płodowego przez połknięcie przez płód płynu owodniowego. IgG, zawarte w płynie owodniowym, są transportowane przez nabłonek jelitowy płodu z udziałem FcRn [100]. Cząsteczki IgG, aby dostać się poprzez łożysko do krążenia płodowego, muszą przejść przez dwie warstwy komórek: syncycjotrofoblast (wielojądrowy nabłonek mający na powierzchni liczne wypustki zwane mikrokosmkami), który jest najbardziej zewnętrzną warstwą kosmków kosmówki (część płodowa łożyska) i jest w bezpośrednim kontakcie z matczyną krwią oraz przez śródbłonek naczyń płodowych. Te dwie warstwy są oddzielone przez luźną tkankę łączną – stromę (zrąb mezenchymalny). W obrębie łożyska matczyne i płodowe krwiobiegi są blisko siebie, lecz jednak fizycznie oddzielone. Matczyna krew wypełnia przestrzenie między kosmkami kosmówki, a krew płodowa krąży w obrębie kosmka. Matczyna krew wchodzi do przestrzeni międzykosmkowych przez tętnice spiralne doczesnej podstawowej, a odpływa przez żyły tej części łożyska. Krew płodowa płynie przez tętnice sznura pępowiny do kosmków łożyska, a wraca z kosmków do płodu żyłą sznura pępowiny [17].

Dotychczasowe wyniki badań wskazują na udział hFcRn w transcytozie matczynych IgG do płodu przez syncycjotrofoblast łożyska ludzkiego; wyniki badań są następujące:

- wykryto endogenne IgG i hFcRn w wewnątrzkomórkowych przedziałach endocytarnych, zlokalizowanych przy szczytowej i podstawnej powierzchni syncycjotrofoblastu [107] oraz obecność IgG w zrębie kosmkowym (*villous stroma*) [102],
 - w komórkach BeWo, receptor hFcRn i IgG stwierdzono we wczesnych endosomach (Rab5A pozytywnych) przy apikalnej powierzchni błony, w pęcherzykach ulegających „recyklingowi” i w pęcherzykach transcytotycznych blisko błony podstawnej. Transcytoza ludzkich IgG znakowanych izotocyjanianem fluoresceiny (FITC) w komórkach BeWo przebiegała od szczytowej do podstawnej powierzchni błony i była zredukowana w obecności 10-krotnego nadmiaru nieznakowanych IgG [54],
 - analiza *ex vivo* (stosując jako model ludzkie łożysko poddane perfuzji) transportu ludzkich IgG sprzężonych z peroksydazą chrzanową wykazała lokalizację IgG i FcRn w mikrokosmkach i opłaszczonych dołkach syncycjotrofoblastu łożyska po 10 min, w pęcherzykach przy powierzchni podstawnej syncycjotrofoblastu po 30 min, kaweolach płodowego śródbłonna po 60 min; analiza transportu mutantów ludzkich IgG wykazała brak ich przeniesienia z krążenia matczynego do płodowego przez łożysko. Mutacja dotyczyła reszty His-435, która jest istotna w interakcji FcRn-IgG, natomiast nie ma wpływu na wiązanie IgG do leukocytarnych receptorów Fcγ. Transport niezmutowanych ¹²⁵I-IgG był w 90% zahamowany przez nadmiar nieznakowanych IgG1 [32].
- Mechanizm transportu matczynych przeciwciał klasy IgG przez syncycjotrofoblast łożyska ludzkiego, w oparciu o hipotezę Brambella [18,20] i wyniki współczesnych badań, przedstawia się następująco (ryc. 4):
- IgG są wchłaniane do wnętrza komórki w procesie endocytozy fazy płynnej i doprowadzane do wczesnych/sortujących endosomów (SE),
 - w kwaśnym środowisku endosomów cząsteczki immunoglobuliny G są wiązane przez FcRn i dzięki temu zabezpieczone przed degradacją przez enzymy lizosomalne,
 - kompleksy FcRn-IgG w pęcherzykach transcytotycznych są następnie przemieszczane do bazolateralnej powierzchni syncycjotrofoblastu, natomiast cząsteczki IgG, które nie związały się do FcRn są kierowane na ścieżkę degradacji: przez wielopęcherzykowe późne endosomy (MVB) do lizosomów,
 - noworodkowy receptor Fc uwalnia IgG przy powierzchni bazolateralnej syncycjotrofoblastu do stromy (pH 7,4). Po oddysocjowaniu IgG, prawdopodobnie receptor FcRn powraca w pęcherzykach transcytotycznych do apikalnej powierzchni syncycjotrofoblastu,
 - IgG związane z FcRn w kwaśnym środowisku wczesnych/sortujących endosomów, mogą również prze-



Ryc. 4. Model transportu matczynej IgG przez syncycjotrofoblast ludzkiego łożyska. **CCV** – pęcherzyki opłaszczone klatryną, **RV** – pęcherzyki recyklingowe, **TV** – pęcherzyki transcytotyczne, **SE** – wczesny/sortujący endosom, **MVB** – wielopęcherzykowy późny endosom, **L** – lizosom

mieszczą się w pęcherzykach recyklingowych na powrót ku powierzchni apikalnej, a następnie być uwalniane do matczynej krwi.

Współczesne badania [30] sugerują, że transport immunoglobuliny G przez śródbłonek naczyń płodowych odbywa się także z udziałem hFcRn w oparciu o podobny mechanizm, opisany wyżej dla transcytozy IgG przez syncycjotrofoblast. Receptor noworodkowy Fc jest obecny w śródbłonku kosmków w okresie okołoporodowym (terminal villous endothelium) [30]. W komórkach HPEC, wyprowadzonych z łożyska ludzkiego, które reprezentują śródbłonek kosmków łożyska, stwierdzono hFcRn i hIgG w wewnątrzkomórkowych endosomal-

nych kompartmentach w bliskim sąsiedztwie apikalnej powierzchni komórki [7,34].

Badania transcytozy IgG w komórkach HPEC wykazały, że:

- IgG wiążą się na powierzchni komórek HPEC przez fragment Fc cząsteczki IgG i wiązanie jest większe na podstawnej powierzchni niż na apikalnej powierzchni komórki [34],
- transcytoza w komórkach HPEC przebiega głównie od podstawnej do apikalnej powierzchni błony, wymaga środowiska kwaśnego w pęcherzykach endosomalnych i była zahamowana przez swoisty inhibitor (białko A) wiązania hIgG do hFcRn [7,34],

- natywna immunoglobulina G była chroniona i uwalniana z komórek HPEC, podczas gdy cząsteczki IgG i Fc/IgG po traktowaniu dwuetylopirowęglanem – DEPC (reagentem blokującym His-435) gromadziły się w lizosomalnych przedziałach [88]. Natywne i zmodyfikowane cząsteczki IgG były internalizowane, lecz ich wewnątrzkomórkowy los był zależny od integralności domeny IgG rozpoznającej FcRn.

Badania transcytozy IgG w komórkach HPEC wskazują, że transport IgG przez śródbłonek łożyska przebiega od podstawnej do szczytowej powierzchni komórki. Najprawdopodobniej cząsteczki IgG są wchłaniane do wnętrza śródbłonka w procesie endocytozy adsorpcyjnej z udziałem niezidentyfikowanego receptora Fcy i doprowadzane do wczesnych endosomów, gdzie w środowisku kwaśnym IgG są uwalniane od receptora Fcy i wiązane do hFcRn. Noworodkowy receptor Fc jest odpowiedzialny za selektywny i kontrolowany transport immunoglobulin IgG przez śródbłonek.

Współczesne badania sugerują, że receptor leukocytarny FcyRIIb2 może być receptorem, który uczestniczy w wiązaniu i internalizacji IgG przy podstawnej powierzchni śródbłonka łożyska ludzkiego. Tę izoformę leukocytarnego receptora FcyRII i IgG zidentyfikowano w nowych kompartmentach, nazwanych FCGR2B2 podobnych do pęcherzyków, w śródbłonku kosmków łożyska w trzecim trymestrze ciąży. Ekspresja FcyRIIb2 zmniejsza się w dół drzewa kosmkowego i w sznurze pępowinowym jest już nieobecny. Stwierdzono, że białko Rab3D odgrywa rolę w formowaniu kompartmentów FCGR2B2 [46]. Dalsze badania są potrzebne do wyjaśnienia szczegółowego mechanizmu transportu matczynych IgG przez śródbłonek ludzkiego łożyska. Warto zbadać, czy FcRn współuczestniczy z FcyRIIb2 w transporcie IgG przez barierę śródbłonka łożyska. Transport przez ludzkie łożysko matczynych IgG3 o allotypie G3m16⁻ (charakteryzującym się występowaniem argininy w pozycji 435) był na znacznie niższym poziomie w porównaniu z transportem allotypu G3m16⁺ (cząsteczki IgG3 zawierające histydynę w pozycji 435, kontaktową resztę w interakcji z FcRn), wskazując, że hFcRn jest głównym transporterem matczynych IgG do płodu [29].

Poznanie dokładnego mechanizmu transportu matczynych IgG i roli receptorów Fcy w tym procesie może mieć w przyszłości duże znaczenie kliniczne, pozwoli manipulować tym mechanizmem, aby uchronić płód przed transportem przeciwciał klasy IgG szkodliwych dla płodu. Na przykład, w przypadku konfliktu płytkowego, jeśli pojawią się w krwiobiegu kobiet ciężarnych przeciwciała anty-HPA-1a i przenikną przez łożysko do płodu, opłaszczają krwinki płodu i doprowadzają do tzw. alloimmunologicznej małopłytkowości płodów i noworodków (fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia). Matczyne przeciwciała anty-Rh, wytwarzane w sytuacji konfliktu serologicznego, mogą doprowadzić do uszkodzenia, a nawet śmierci płodu. U kobiet ciężarnych cierpiących na choroby

autoimmunologiczne, autoprzeciwciała Ro/SSA i/lub La/SSB skierowane przeciwko jądrowym antygenom przechodzą z krwi matki, poprzez barierę łożyska, do płodu w następstwie tego dochodzi do zaburzeń funkcji wielu narządów płodu. Do najczęstszych należą: toczeń rumieniowaty (neonatal lupus erythematosus) oraz wrodzony blok serca płodu (congenital heart block). Autoprzeciwciała matki przeciwko płytkom krwi mogą powodować autoimmunologiczną trombocytopenię (autoimmune thrombocytopenia) płodu lub noworodków, a przeciwciała antyfosfolipidowe wywołać zespół antyfosfolipidowy (antiphospholipid syndrome) [30].

Katabolizm i homeostaza

IgG i albumina stanowią około 80% całkowitej puli białek osocza (przy średniej zawartości 10 i 40 mg/ml). W odróżnieniu od innych białek, IgG i albumina mają najdłuższy okres półtrwania w krążeniu (około 20 dni u ludzi), co jest główną przyczyną ich dużej zawartości w surowicy. Odwrotny związek między stężeniem obu tych białek w surowicy, a ich okresem półtrwania sugeruje, że mogą być chronione przed katabolizmem za pomocą podobnego mechanizmu [24].

Obecnie istnieją przekonywujące dowody, że receptor noworodkowy (FcRn) jest receptorem regulującym katabolizm IgG (i albuminy), tym samym jest regulatorem stężenia tych białek w surowicy. Wykazano, że:

- te same reszty aminokwasowe: Ile-253, His-310, His-435 umiejscowione na styku domen CH2-CH3 fragmentu Fc/IgG, które są zaangażowane w kontrolę *in vivo* okresu półtrwania Fc/IgG, uczestniczą również w wiązaniu IgG do FcRn [68]. Mutacje tych reszt aminokwasowych prowadzą do zahamowania interakcji Fc/IgG-FcRn oraz zwiększenia katabolizmu IgG,
- rekombinowany mysz fragment Fc/IgG1 z wyższym powinowactwem do FcRn w kwaśnym zakresie pH, ale z bardzo niskim powinowactwem w środowisku neutralnym (poprzez zmutowanie reszty treoniny w pozycjach 252, 254, 256), miał *in vivo* znacznie dłuższy okres półtrwania niż dziki typ fragmentu Fc/IgG [37],
- u myszy transgenicznej z nokautem genu (*Fcgrt*) kodującego łańcuch ciężki cząsteczki FcRn bądź genu kodującego $\beta 2m$ [92], obserwowano znaczny spadek stężenia endogennych IgG w surowicy krwi (ostra hipogammaglobulinemia), w wyniku wzrostu katabolizmu IgG, bez zmiany ich syntezy oraz obniżenie okresu półtrwania IgG i Fc/IgG. Okres półtrwania IgA i zmutowanego fragmentu Fc/IgG (które nie miały zdolności wiązania się z FcRn) był taki sam u myszy typu dzikiego (WT) i z nokautem *Fcgrt*. Wszystkie mysie izotypy IgG były chronione przed szybkim katabolizmem u myszy WT, a ludzkie IgG u myszy transgenicznej z ekspresją hFcRn, a pozbawionej mysiego FcRn [92],

- u myszy genetycznie zmodyfikowanej w kierunku braku ekspresji FcRn, poziomy albuminy w osoczu były 2-3-krotnie niższe niż stwierdzone w surowicy myszy WT [24],
- pacjenci z brakiem ekspresji $\beta 2m$ (naturalnie występujący nokaut genu kodującego łańcuch lekki receptora hFcRn) mieli rażąco niskie poziomy IgG i albuminy w surowicy [113].

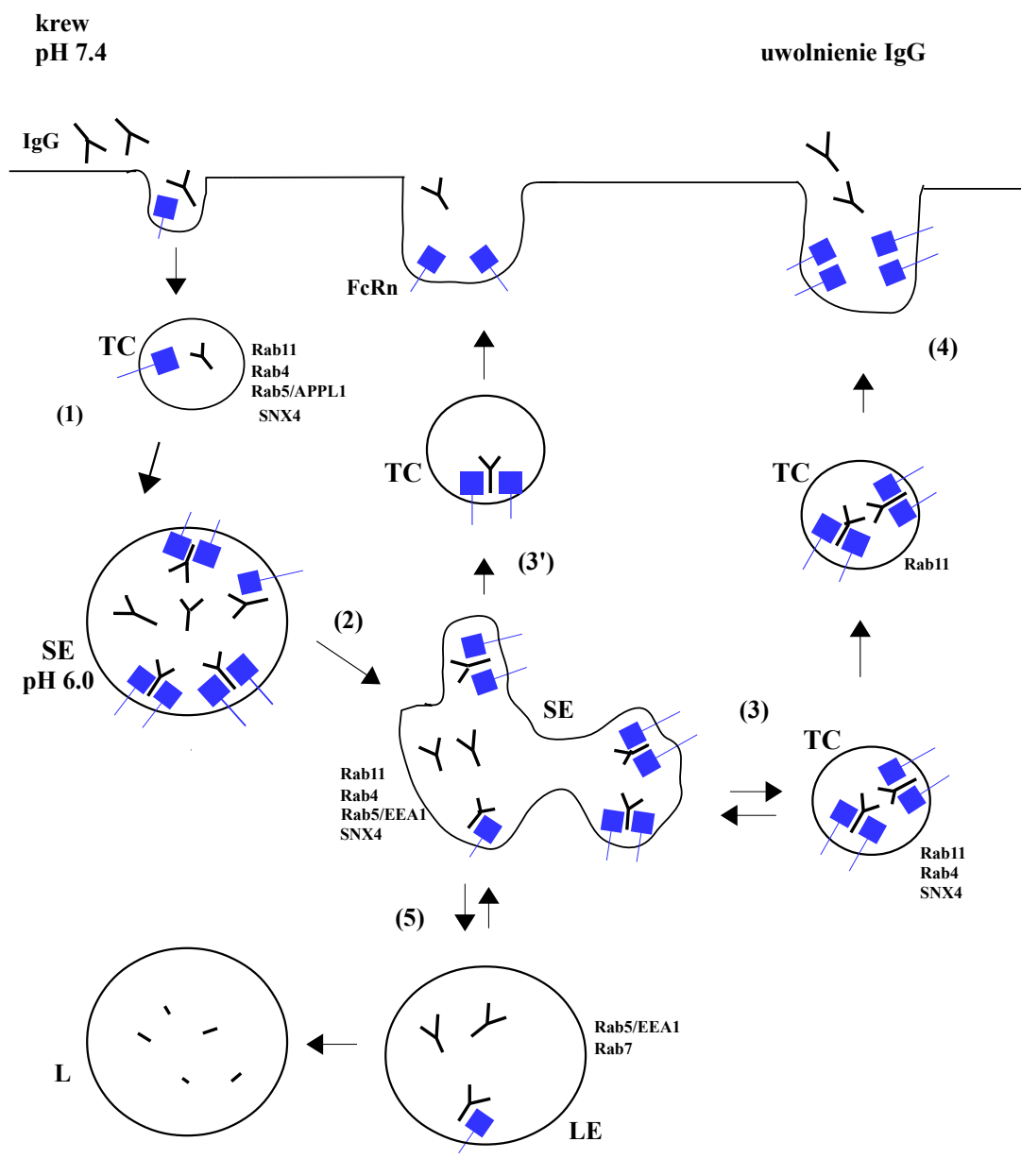
FcRn jest ekspresjonowany w wielu różnych typach komórek, a jego wszechobecność nasuwa pytanie, które typy komórek/narządów są najbardziej istotne w regulacji poziomów IgG (i albuminy) *in vivo*. Badania dystrybucji cząsteczek IgG z różnymi właściwościami do wiązania się z FcRn sugerowały, że śródbłonek naczyń w skórze i mięśni, w mniejszym stopniu w wątrobie i tkance tłuszczowej, przyczynia się do homeostazy IgG. W późniejszych doświadczeniach wykorzystano technologię Cre/lox do uzyskania myszy transgenicznych z nokautem receptora FcRn tylko w wybranych typach komórek. Analiza okresu półtrwania IgG u tych myszy i poziomów IgG i albuminy w surowicy, ujawniła, że komórki śródbłonek naczyń i komórki hematopoetyczne są głównymi miejscami odpowiedzialnymi za utrzymanie homeostazy IgG (i albuminy) za pośrednictwem FcRn [79].

Względny udział różnych typów komórek w homeostazie IgG (i albuminy) zależy od wielu czynników, w tym m.in. od liczby komórek z ekspresją FcRn, poziomu ekspresji noworodkowego receptora Fc, pinocytarnej/endocytarnej aktywności komórek i stężenia IgG w odpowiednim mikrośrodowisku. Również względny udział komórek może się zmieniać w stanach zapalnych, ponieważ cytokiny i LPS mają wpływ na transkrypcję ludzkiego genu *FCGRT* w komórkach śródbłonek, w makrofagach/monocytach [70]. Na ekspresję receptora FcRn w monocytach wpływa także polimorfizm VNTR w obrębie promotora ludzkiego genu *FCGRT* [93]. Wobec powyższego, interesujące byłoby przeprowadzenie badań odnośnie związku między ekspresją FcRn a homeostazą IgG (i albuminy), aby zrozumieć jak FcRn determinuje poziomy obu ligandów w krążeniu, zarówno w zdrowiu, jak i w chorobie oraz czy homeostaza IgG (i albuminy) jest inna u osobników heterozygotycznych VNTR2/VNTR3, mających niższy poziom ekspresji FcRn w monocytach niż homozygoty VNTR3/3.

Wprawdzie wiadomo, że noworodkowy receptor Fc jest głównym regulatorem homeostazy IgG i albuminy, to wiedza o komórkowych i molekularnych procesach, które regulują poziomy tych białek w surowicy jest wciąż niepełna. Postęp w zrozumieniu roli FcRn jako regulatora stężenia IgG nastąpił dzięki opracowaniu nowych technik mikroskopii fluorescencyjnej. Nowoczesne metody mikroskopowe, jak również dostępność różnorodnych znaczników fluorescencyjnych umożliwiły obserwację w czasie rzeczywistym lokalizacji cząsteczek FcRn i IgG, ich oddziaływania oraz przemieszczania w żywych

komórkach śródbłonkowych. Uzyskane informacje doświadczalnie potwierdziły istnienie mechanizmu odpowiedzialnego za katabolizm IgG, zaproponowanego przez Brambilla i wsp. [18,20]. Cząsteczki IgG są wchłaniane do wnętrza komórek z przestrzeni pozakomórkowej, najprawdopodobniej poprzez endocytozę fazy płynnej i doprowadzane do wczesnych endosomów. Wysokie stężenie immunoglobuliny G w surowicy (10-12 mg/ml) umożliwia internalizację IgG tą ścieżką [25]. Ponadto, za wnikaniem IgG w procesie endocytozy fazy płynnej przemawia bardzo niska ekspresja FcRn na powierzchni komórek oraz zewnątrzkomórkowe pH niepozwalające na wiązanie się z FcRn [7]. W miarę, jak endosom wczesny/sortujący dojrzewa, następuje spadek wartości jego pH luminalnego (w wyniku aktywności V-ATPazy), co umożliwia interakcję receptora FcRn z cząsteczkami IgG. Kompleksy IgG-FcRn, ze stechiometrią wiązania 1:2, gromadzą się w strukturach tubularnych endosomu sortującego i opuszczają endosom w małych, ruchliwych pęcherzykach zwanych nośnikami transportu – TCs (transport carriers) przemieszczając się ponownie ku powierzchni błony komórkowej – ścieżka recyklingu. Końcowym etapem na ścieżce recyklingu jest uwolnienie IgG (proces egzocytozy) z komórki do przestrzeni pozakomórkowej (pH 7,4). Natomiast cząsteczki IgG, które nie związały się do FcRn oraz IgG związane w stosunku 1:1 w kompleks z FcRn akumulują się w centralnej wielopęcherzykowej części endosomu i są kierowane na ścieżkę degradacji, która kończy się w lizosomach [75,76,85]. Los immunoglobuliny G, która uległa endocytozie, zmienia się zależnie od jej stężenia w endosomach, które jest wprost proporcjonalne do stężenia w surowicy. Przy wyższych stężeniach immunoglobuliny G jest obserwowany zarówno wzrost transportu cząsteczek IgG do lizosomów, jak również ich akumulacji w kompartmentach ścieżki degradacyjnej. To wskazuje, że poziom IgG w surowicy jest określony przez „wysycalny” (saturable) charakter wewnątrzkomórkowej interakcji FcRn-IgG [114].

Jak cząsteczki IgG związane z FcRn są uwalniane z komórek podczas egzocytozy badano stosując mikroskopię fluorescencyjną całkowitego wewnętrznego odbicia – TIRFM (total internal reflection fluorescence microscope) w połączeniu z obrazowaniem pojedynczej cząsteczki w ludzkich komórkach śródbłonkowych, transfekowanych konstruktem fuzyjnym FcRn-GFP [75]. Ta metoda pozwoliła na jednoczesną wizualizację FcRn-GFP i IgG w pobliżu błony komórkowej. Badania wykazały, że egzocytoza IgG z udziałem FcRn przebiega co najmniej dwoma sposobami: jako egzocytoza klasyczna tzw. „wszystko albo nic” (all or nothing pathway): pęcherzyk, zawierający FcRn-IgG, łączy się całkowicie z błoną komórkową i otwiera się, wydalaając szybko IgG w duży bolusie. Drugi sposób nazwany „wydłużonym uwalnianiem” (prolonged release) polega na częściowej fuzji pęcherzyka zawierającego kompleks FcRn-IgG i charakteryzuje się cyklicznym, stopniowym uwolnieniem IgG trwającym do kilku minut. Całkowitą fuzję częściowo obserwowano niż wydarzenia „wydłużonego uwalniania”. W obu typach egzocytozy obserwo-



Ryc. 5. Model regulacji katabolizmu IgG w komórkach śródbłonna naczyniowego z udziałem FcRn. **TC** – pęcherzyk/nośnik transportu, **SE** – endosom wczesny/sortujący, **LE** – endosom późny, **L** – lizosom. Zaznaczono białka **Rab** (Rab GTPazy), zidentyfikowane w błonach TC, SE i LE oraz białko **SNX4** (sortująca neksyna 4), zidentyfikowane w SE oraz w błonie TC uczestniczącego w transporcie IgG z powierzchni komórki do SE, jak też w TC pośredniej ścieżki recyklicacji. **APPL1**, **EEA1** – białka efektorowe GTPazy Rab5. (1) Internalizacja IgG surowicy krwi do TC i doprowadzenie do SE. (2) Wiązanie IgG do FcRn w kwaśnym środowisku SE. (3, 3') Proces recyklicacji IgG związanych w stosunku 1:2 w kompleksie z FcRn (szlak pośredni – 3; bezpośredni – 3'). (4) Proces egzocytozy. (5) Ścieżka degradacji

wano przedostawanie się FcRn do błony komórkowej, wskazując, że receptor FcRn jest bezpośrednio zaangażowany w egzocytozę immunoglobuliny G. Po wydostaniu się z miejsca egzocytozy, cząsteczki FcRn mogą również migrować z powrotem do epicentrum miejsca uwolnienia. Taki wsteczny ruch może być mechanizmem odzyskiwania FcRn.

Technika obrazowania metodą MUM (multifocal plane microscopy) – połączenie TIRFM z mikroskopią epi-flu-

orescencyjną, umożliwiła wgląd w wewnątrzkomórkowe wydarzenia, które poprzedzają proces egzocytozy i śledzić dostarczenie zinternalizowanych cząsteczek IgG do endosomu sortującego [35,85]. Badania metodą MUM doprowadziły do identyfikacji różnych wewnątrzkomórkowych procesów z udziałem TCs zawierających FcRn. Te wewnątrzkomórkowe wydarzenia można ogólnie podzielić na procesy bezpośrednie i pośrednie. Komórki internalizują cząsteczki IgG do TCs, które poruszają się szybko w kierunku endosomu sortującego (SE)

i ulegają procesowi fuzji z SE. Zaobserwowano też TCs podejmujące bardziej okrzężne szlaki przed fuzją z endosomem sortującym. W błonach pęcherzyków TCs uczestniczących w transporcie IgG z powierzchni komórki do endosomów sortujących zidentyfikowano białka regulatorowe: APPL1-białko efektorowe GTPazy Rab5; SNX4 (białko z rodziny neksyn); Rab4 i/lub Rab11.

Kompleksy FcRn-IgG, przeznaczone do recyklingu, opuszczają endosom sortujący w pęcherzykach TCs, które wchodzi na ścieżki bezpośrednich i pośrednich procesów recyklicacji. Bezpośredni szlak wymaga miejsc egzocytozy w błonie komórkowej w pobliżu endosomu sortującego, natomiast szlak pośredni wymaga miejsc bardziej odległych. Dlatego TCs ścieżki pośredniej muszą pokonać dłuższą drogę w obrębie komórki przed procesem egzocytozy. Te pęcherzyki, po dotarciu do miejsc egzocytozy, akumulują się w tzw. strefach przetrzymywania w pobliżu błony komórkowej (holding zones), a następnie kolejno ulegając egzocytozie. Przetrzymywanie TCs w „holding zones” sugeruje, że potrzebny jest impuls, aby pobudzić kolejny proces egzocytozy. Na ścieżkach procesów recyklicacji zaobserwowano: TCs (Rab11⁺Rab4⁺SNX4⁺APPL1⁻), opuszczające sortujący endosom i wracające to tego samego endosomu; TCs (SNX4⁺Rab4⁺APPL1⁻), migrujące między endosomami sortującymi: TCs (Rab11⁺Rab4⁺SNX4⁺APPL1⁻), które uczestniczą bezpośrednio w procesie egzocytozy. Przypuszcza się, że TCs (Rab11⁺Rab4⁺SNX4⁺APPL1⁻) mogą zawierać też wolny receptor FcRn, dlatego wracają do endosomu sortującego, aby umożliwić oddziaływanie FcRn z IgG. Sugeruje się, że są one zaangażowane w pośrednich procesach recyklicacji. Najprawdopodobniej w tych kompartmentach odbywa się segregacja białek regulatorowych do odmiennych domen, które odłączają się tworząc TCs (Rab11⁺Rab4⁺SNX4⁺APPL1⁻) biorące udział w egzocytozie i TCs (SNX4⁺Rab4⁺APPL1⁻), migrujące między endosomami sortującymi. Schemat procesów w komórkach śródbłonna naczyńowego, zaangażowanych w regulację stężenia IgG we krwi pokazano na ryc. 5.

Dane uzyskane z badań za pomocą zaawansowanych metod mikroskopowych wskazują na złożoność mechanizmu, poprzez który receptor FcRn utrzymuje homeostazę IgG. Wiele istotnych kwestii pozostaje bez odpowiedzi, między innymi: co decyduje o wyborze pośrednich i bezpośrednich ścieżek recyklingu kompleksów FcRn-IgG, jak są regulowane; jakie jest ich fizjologiczne znaczenie; czy FcRn chroni IgG i albuminę przed degradacją za pomocą takiego samego mechanizmu (badania procesów komórkowych, które regulują ich poziomy w surowicy przeprowadzono głównie stosując IgG). Wciąż słabo poznana jest ścieżka degradacji, która jest istotna do utrzymania homeostazy. Z badań przeprowadzonych przez Gana i wsp. [36] wiadomo, że materiał przeznaczony do degradacji przenoszony jest z endosomów późnych do lizosomów poprzez przejściowe fuzje obu kompartmentów (tzw. proces „kiss and linger”). GTPaza Rab7 jest niezbędna w oddziaływaniach późnych endosomów z lizosomami. Endosom wczesny/sortujący

ulegając przekształceniu w endosom późny nabywa białko Rab7, ale nie traci białka Rab5. GTPaza Rab5 koncentruje się w odrębnych domenach błony endosomów późnych, które mogą się odłączyć i jako tubularne pęcherzyki wejść na ścieżkę recyklingu; zatem późne endosomy są funkcjonalnie plastyczne. Dotychczasowe badania stworzyły podstawę do dalszej precyzyjnej analizy wewnątrzkomórkowych procesów związanych z regulacją poziomów IgG (i albuminy) z udziałem FcRn. Dokładne poznanie tych procesów stworzy możliwość ich modulowania, co może być wykorzystane w opracowaniu leków opartych na IgG (lub albuminie) i ich skutecznym dostarczaniu.

Rola FcRn w prezentacji antygeny

Koordinacja reakcji immunologicznych ma kluczowe znaczenie w utrzymaniu homeostazy w układzie odpornościowym wielokomórkowych organizmów. Podstawą tego procesu jest prezentacja antygenów, która umożliwia integrację różnych gałęzi systemu immunologicznego, które współpracują aby zapewnić maksymalną ochronną odporność organizmu. Antygeny endogenne przeważnie są przeznaczane do degradacji proteasomalnej i prezentowane komórkom T-CD8⁺ za pomocą cząsteczek MHC klasy I, a antygeny egzogenne są przetwarzane w lizosomach i prezentowane limfocytom T-CD4⁺ z udziałem cząsteczek MHC klasy II [73]. W pewnych sytuacjach antygeny pochodzenia egzogenne są przetwarzane za pośrednictwem proteasomów (ścieżka przetwarzania zwana fagosom – cytosol) lub w obrębie fagosomów (szlak wakuolarny), w sposób niezależny od proteasomów, i prezentowane limfocytom T-CD8⁺ z udziałem cząsteczek MHC klasy I. Jest to tzw. prezentacja krzyżowa (cross-presentation lub cross-priming). Jest ona najważniejszym mechanizmem utrzymującym nadzór immunologiczny w tkankach. Jednym z elementów tego nadzoru jest wykrywanie obecności obcych lub zmutowanych antygenów na komórkach zarażonych wirusami, bakteriami oraz na komórkach nowotworowych [9,90].

Profesjonalne komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells – APC): komórki dendrytyczne (DCs), makrofagi, zarówno u ludzi jak i u zwierząt [3,97,122,124] oraz limfocyty B myszy i bydła [79,97], wykazują ekspresję receptora FcRn. Na profesjonalnych APC, z wyjątkiem limfocytów B, występują też aktywujące Fcy receptory (FcyRs), które umożliwiają wychwytywanie i internalizację antygenów (w postaci kompleksów immunologicznych zawierających przeciwciała klasy IgG: IgG-ICs) przez makrofagi i komórki dendrytyczne przyczyniając się do efektywnej prezentacji antygenów komórkom T [39]. Wiązanie FcyRs do IgG odbywa się w środowisku fizjologicznym. Dlatego FcyRs są niezdolne do transportu IgG-ICs przez labirynt kwaśnych endocytarnych przedziałów komórkowych.

Ekspresja FcRn w profesjonalnych komórkach prezentujących antygen i jego umiejscowienie w endosomal-

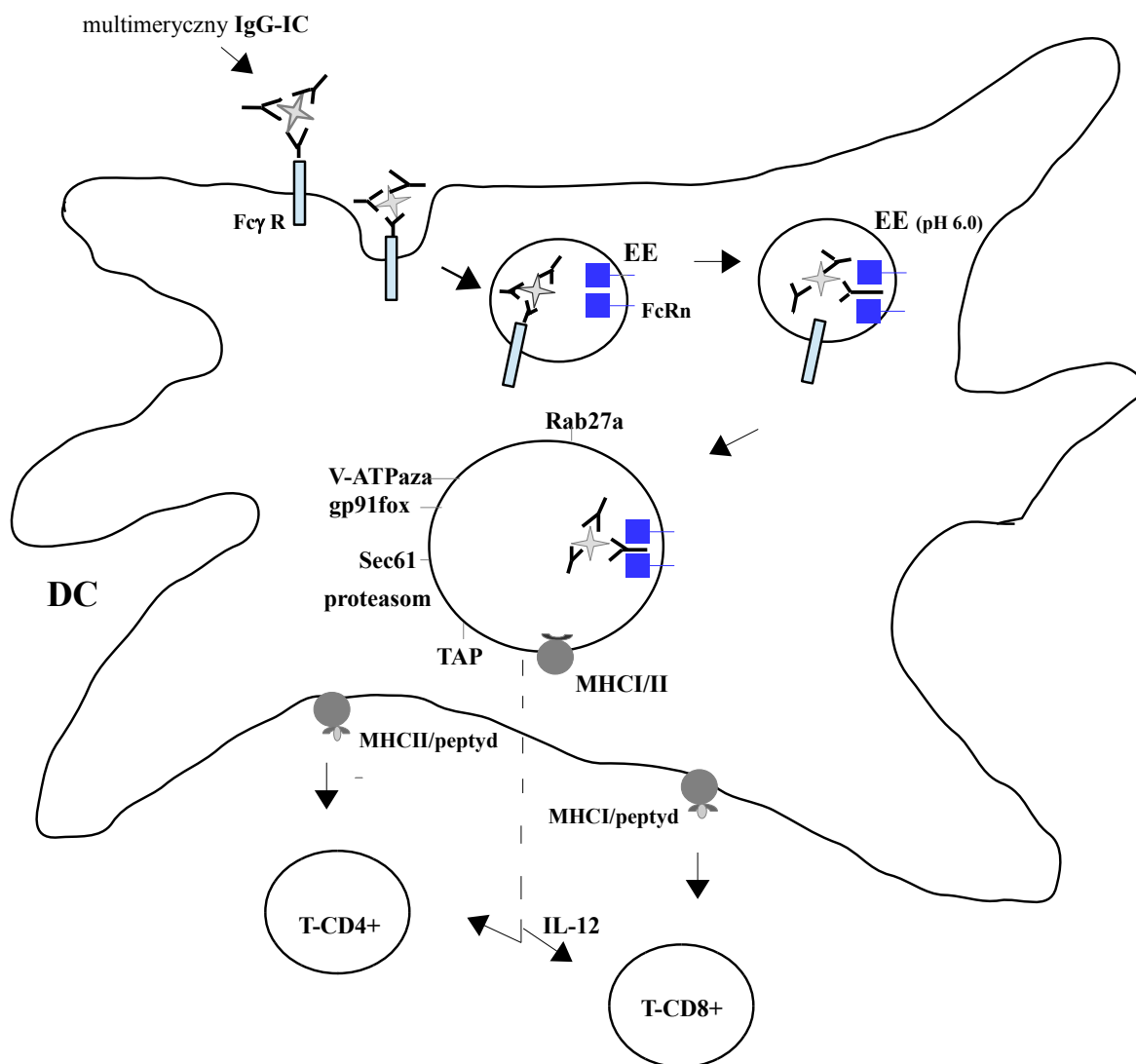
nym układzie, jak również zdolność swoistego wiązania się z IgG tylko w kwaśnym pH, sugerowały, że ten receptor mógłby odgrywać rolę w prezentacji antygenów: w transportowaniu IgG-ICs, po internalizacji przez FcγRs, w kierunku kompartmentów przetwarzających antygen. Badania przeprowadzone zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, mające na celu wyjaśnienie czy FcRn bierze udział w prezentacji antygenów udowodniły, że FcRn ekspresjonowany w mysich i ludzkich makrofagach i komórkach dendrytycznych, oprócz istotnej roli w ochronie IgG przed katabolizmem, uczestniczy w prezentacji antygenów (w postaci IgG-ICs) przez komórki APC limfocytom T-CD4⁺ z udziałem cząsteczek MHC klasy II [58,87]. Receptor FcRn w komórkach dendrytycznych odgrywa również doniosłą rolę w prezentacji IgG-ICs komórkom T-CD8⁺ z udziałem cząsteczek MHC klasy I [11,13].

W badaniach wykorzystano modelowe antygeny, takie jak: owoalbumina (OVA) i gliadyna, w kompleksie z niezmutowanymi cząsteczkami IgG oraz z cząsteczkami IgG ze zmutowanym miejscem wiążącym dla FcRn. Wykazano, że komórki dendrytyczne (DCs) z ekspresją FcRn, uzyskane od myszy typu dzikiego (WT), po preinkubacji z IgG-ICs, indukowały *in vitro* proliferację swoistych antygenowo komórek T-CD4⁺. Natomiast DCs od myszy z nokautem genu dla FcRn (FcRn KO DCs) lub komórki dendrytyczne od myszy WT, które preinkubowano z kompleksami immunologicznymi zawierającymi zmutowane cząsteczki IgG (mutacja reszt Ile-253/Ala, His-310/Ala, His-435/Ala, ważnych w interakcji z FcRn, lecz bez wpływu na wiązanie IgG do FcγRs) utraciły zdolność aktywacji limfocytów T-CD4⁺ [87]. Podobne obserwacje poczyniono, kiedy testy proliferacji *in vitro* limfocytów T-CD4⁺ prowadzono w obecności ludzkich komórek DCs i kiedy mysie komórki dendrytyczne typu dzikiego lub FcRn KO DCs, po stymulacji kompleksami IgG-ICs (zawierającymi niezmutowane lub zmutowane cząsteczki IgG), zostały wstrzyknięte do myszy WT [87]. W innym doświadczeniu mysie komórki DCs (CD8⁻ CD11b⁺), pobudzone antygenem (OVA) (skompleksowanym z immunoglobulinami G opisanymi powyżej), podano myszy WT, która również otrzymała OVA-swoiste limfocyty T-CD8⁺. Okazało się, że kilkakrotnie była wyższa proliferacja komórek T-CD8⁺ w przypadku zastosowania kompleksu IgG-IC zawierającego niezmutowane cząsteczki IgG w porównaniu z proliferacją obserwowaną z IgG-ICs ze zmutowanymi immunoglobulinami G. W naszym modelu zapalenia jelita (indukowanego przez siarczan dekstranu sodu - DSS), subpopulacja komórek dendrytycznych o fenotypie CD8⁻ CD11b⁺ CD11c⁺, u myszy WT, a nie z nokautem genu dla FcRn była zdolna do skutecznej aktywacji komórek T-CD8⁺. Ponadto, prezentacja IgG-ICs przez DCs (CD8⁻ CD11b⁺ CD11c⁺) była połączona z wytwarzaniem dużej ilości IFN-γ przez zaktywowane komórki T-CD8⁺. W przypadku niezdolności IgG-ICs do interakcji z FcRn, komórki dendrytyczne (CD8⁻ CD11b⁺ CD11c⁺) nie mogły dokonać krzyżowej prezentacji antygenów [11]. Przytoczone przykładowo eksperymenty świadczą o roli receptora FcRn w klasycznej i krzyżowej prezentacji antygenów.

Mutacja Asn-297/Ala w Fc/IgG, blokująca wiązanie FcγRs z IgG-ICs, uniemożliwia prezentację IgG-ICs za pośrednictwem FcRn, wskazując, że funkcje FcRn w prezentacji antygenów są zależne od zainicjowanej przez receptory FcγRs internalizacji IgG-ICs. Natomiast gdy brak jest FcRn, internalizacja IgG-ICs z udziałem FcγRs nie może zapoczątkować procesu prezentacji antygenów. Zatem oba te receptory funkcjonują łącznie i współpracują ze sobą w prezentacji IgG-ICs komórkom T [11].

Należy podkreślić, że FcRn, jak wykazały badania, uczestniczy w prezentacji antygenów przez komórki APC tylko wtedy, gdy antygeny są dostarczone w postaci multimerycznych kompleksów (utworzone przez wiązanie wielu cząsteczek IgG do białkowego antygenów), przez skierowanie ich, po internalizacji przez FcγR, do kompartmentów degradacyjnych komórek APC, gdzie odbywa się ich przetwarzanie i łączenie powstałych peptydów antygenowych z cząsteczkami MHC. Monomeryczne IgG-ICs: utworzone przez wiązanie pojedynczej cząsteczki IgG do antygenów, podobnie jak IgG niezwiązane z antygenem, są chronione przed degradacją przez receptor FcRn, który kieruje je na ścieżkę recyklingu [11,87]. Nieznany jest mechanizm, według którego FcRn odróżnia i w związku z tym zarządza zróżnicowanym transportem multimerycznych vs. monomerycznych IgG-ICs. Być może posieciowanie FcRn, dzięki obecności wielu miejsc wiążących dla FcRn na multimerycznych IgG-ICs, może uruchomić sygnały za pośrednictwem jeszcze nieznanymi cząsteczek, które doprowadzają ostatecznie do kierowanego przez FcRn transportu multimerycznych IgG-ICs do miejsc degradacji. Stwierdzono, że w makrofagach, w komórkach dendrytycznych i nabłonkowych, transport FcRn do późnego endosomu i lizosomu jest całkowicie zależny od jego koekspresji z łańcuchem niezmiennym (Ii). Interakcja między FcRn i łańcuchem Ii jest zapoczątkowana w siateczce śródplazmatycznej i utrzymuje się w całym systemie endosomalnym [117], co sugeruje, że w komórkach APC łańcuch niezmienny może brać udział w kierowaniu do lizosomów kompleksów IgG-ICs związanych z receptorem FcRn.

Zaobserwowano, że receptor FcRn uczestniczył w prezentacji antygenów przez makrofagi i komórki dendrytyczne z udziałem cząsteczek MHC klasy II wtedy, kiedy antygen w postaci IgG-ICs był wchłonięty do komórki w procesie endocytozy. W przypadku internalizacji IgG-ICs przez fagocytozę ten efekt był obserwowany tylko w makrofagach [58]. Rozbieżność jest spowodowana tym, że w endosomach i fagosomach makrofagów środowisko jest kwaśne (wytwarzanie niewielkiej ilości reaktywnych form tlenu i zwiększona aktywność V-ATPazy), co umożliwia wiązanie IgG do FcRn, natomiast neutralny zakres pH w fagosomach komórek dendrytycznych blokuje interakcję FcRn-IgG-ICs. Analiza subpopulacji APC zaangażowanych w krzyżową prezentację antygenów w postaci IgG-ICs wykazała, że FcRn umożliwia krzyżową prezentację antygenów subpopulacji komórek dendrytycznych tylko o fenotypie CD8⁻ CD11b⁺. Ta subpopulacja komórek dendrytycznych, w przeciwieństwie



Ryc. 6. Schematyczne przedstawienie zależnej od FcRn prezentacji IgG-ICs przez komórki dendrytyczne (DC) limfocytom T (wg [13], zmodyfikowano)

do CD8⁺ CD11b⁻ DCs, ma kwaśne endocytarne kompartmenty sprzyjające wiązaniu IgG-ICs do FcRn [11]. Powyższe obserwacje wskazują, że dostateczne zakwaszenie środowiska endosomów oraz fagosomów jest istotnym elementem udziału FcRn w prezentacji IgG-ICs przez komórki APC poprzez cząsteczki MHC klasy II i klasy I.

Na ryc. 6 przedstawiono zależną od FcRn prezentację IgG-ICs przez komórki dendrytyczne limfocytom T-CD8⁺ z udziałem cząsteczek MHC klasy I (prezentacja krzyżowa), w oparciu o badania Bakera i wsp. [11,13]. Komórki DCs są zdolne również do FcRn-zależnej prezentacji IgG-ICs limfocytom T-CD4⁺ w kontekście cząsteczek MHC klasy II [58,87].

Kompleksy immunologiczne typu IgG-IC, powstałe z połączenia antygenów (bakterii patogennych, wiru-

sów, nowotworów) ze swoistymi dla nich przeciwciałami klasy IgG, wiążą się do receptora FcγR na powierzchni DCs. To inicjuje internalizację IgG-ICs do wnętrza komórki i ich dostarczenie do endosomów wczesnych (EE), gdzie jest umiejscowiony FcRn. W miarę dojrzewania EE, w wyniku werbunku wakuolarniej ATPazy (V-ATPazy), ich środowisko staje się bardziej kwaśne. W środowisku kwaśnym, IgG-ICs odłączają się od FcγRs, a następnie wiążą się do FcRn. Posieciowany FcRn przez IgG-ICs reguluje wewnątrzkomórkowe sortowanie IgG-ICs na ścieżki przetwarzania antygenów, które prowadzą do generowania epitopów odpowiednich do połączenia się z cząsteczkami MHC klasy I i klasy II. Kompleksy IgG-IC przeznaczone do prezentacji limfocytom T-CD8⁺ są transportowane (przez nieznaną mechanizm zależny od FcRn) do wewnątrzkomórkowego kompartmentu, do którego są werbowane białka maszy-

nerii krzyżowej prezentacji szlakiem fagosom-cytosol: Sec61, TAP, proteasom oraz białka do optymalizacji pH degradacji: V-ATPaza, gp91-fox (NOX2), GTPaza Rab27a (odpowiedzialna za mobilizację gp91-fox). Nie wiadomo czy FcRn kieruje do tego samego kompartmentu IgG-ICs przeznaczone do prezentacji limfocytom T-CD4⁺.

Krzyżowa prezentacja IgG-ICs z udziałem FcRn była zahamowana przez inhibitory proteasomu (MG 132, laktacystynę) oraz eksotoksynę A – inhibitor białka Sec61, wskazując, że przetwarzanie IgG-ICs do prezentacji limfocytom T-CD8⁺ odbywa się za pośrednictwem proteasomów. Udział wakuolarniej ścieżki został wykluczony też z powodu braku aminopeptydazy IRAP (insulin-regulated aminopeptidase) w kompartmentcie degradacyjnym oraz niezdolności inhibitorów katepsyny S i katepsyny B do zniesienia krzyżowej prezentacji IgG-ICs.

Peptydy powstałe w wyniku proteolizy IgG-ICs wiążą się do cząsteczek MHC I/MHC II. Immunogeny peptyd-MHC-I/peptyd-MHC-II zostaje przetransportowany do błony komórkowej, a następnie podlega prezentacji limfocytom T-CD8⁺/T-CD4⁺ powodując ich aktywację. Ponadto, posiedziowanie FcRn przez IgG-ICs wywołuje kaskadę sygnalizacyjną prowadzącą do zwiększonej sekrecji IL-12 przez komórki DCs. Wydzielona IL-12 steruje polaryzacją zaktywowanych limfocytów T-CD4⁺ w stronę Th1 oraz wzmacnia aktywację i cytotoksyczność komórek T-CD8⁺ [11,12,13]. IL-12 jest też potencjalnym induktorem odporności humoralnej [69].

Dotychczasowe badania świadczą zatem o istotnej roli FcRn w prezentacji IgG-ICs zarówno w sposób klasyczny jak i krzyżowy. Receptor FcRn zarządza transportem zinternalizowanych IgG-ICs do kompartmentów degradacyjnych komórek APC, gdzie odbywa się przetwarzanie IgG-ICs i łączenie peptydów z cząsteczkami MHC oraz chroni IgG-ICs przed nadmierną degradacją, która mogłaby zniszczyć generowanie antygenowych peptydów dostępnych dla komórek T. Ponadto, kontroluje werbunek do kompartmentu degradacyjnego białek koniecznych do krzyżowej prezentacji IgG-ICs przez komórki dendrytyczne (CD8⁺CD11b⁺) oraz białek do optymalizacji pH degradacji.

Rola FcRn w odporności związanej z błonami śluzowymi

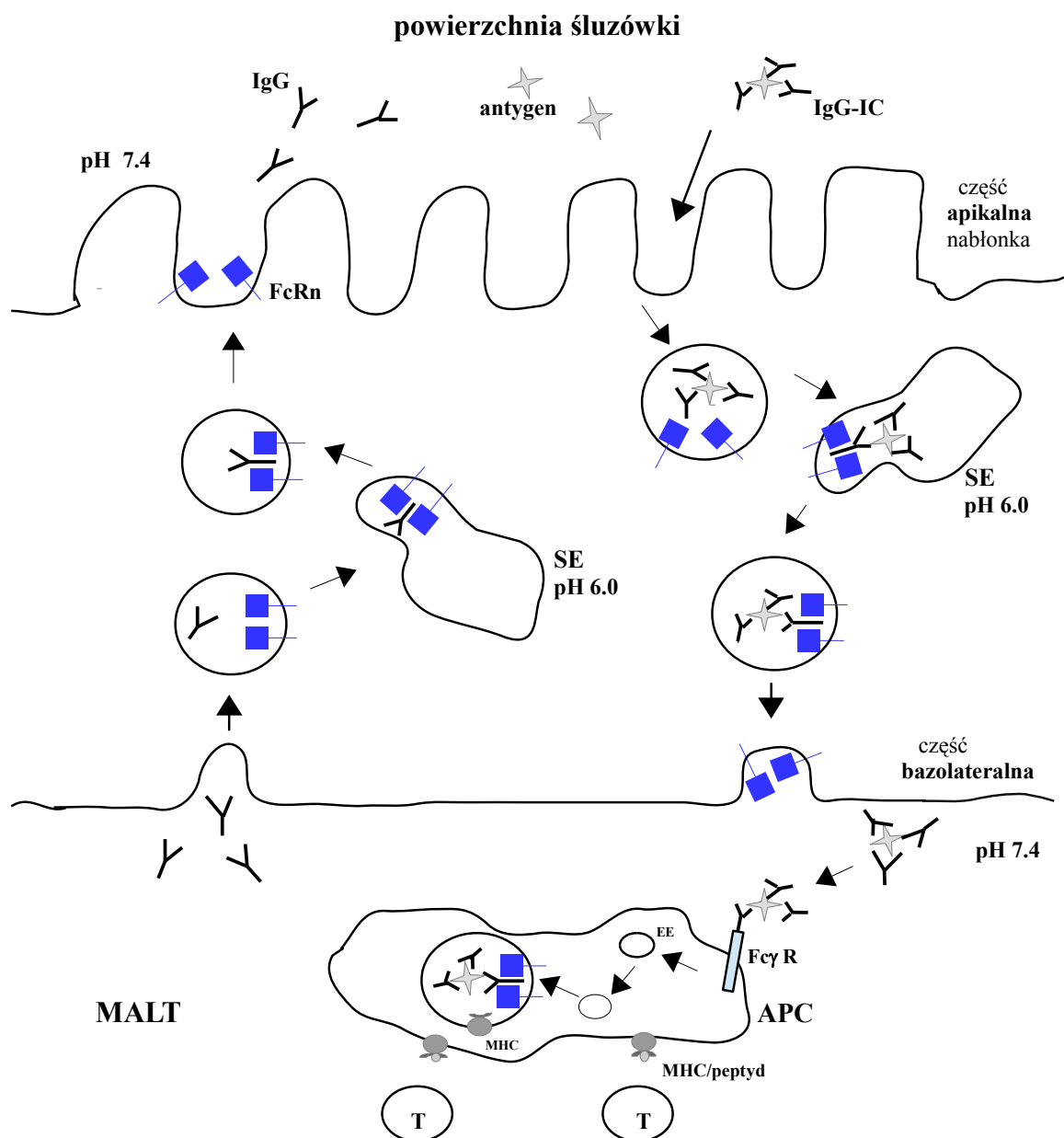
U ludzi i zwierząt, FcRn jest ekspresjonowany w wielu spolaryzowanych komórkach nabłonkowych, m.in.: w nabłonku kosmków i krypt jelita cienkiego i okrężnicy, oskrzeli i pęcherzyków płucnych, nerek, żeńskich narządów rodnych. Analiza transportu immunoglobuliny G przez nabłonki zarówno *in vitro* [4,7,27] jak i *in vivo* [56] wykazała, że FcRn może transportować IgG dwukierunkowo: od apikalnej do bazolateralnej powierzchni nabłonka i odwrotnie – poprzez transcytozę. IgG są prawdopodobnie internalizowane przez endocytozę fazy płynnej do komórek nabłonkowych i dostarczane do wczesnych/sortujących endosomów.

Środowisko kwaśne endosomów pozwala cząsteczkom IgG wiązać się z FcRn w tych kompartmentach, umożliwiając aktywny transport IgG za pośrednictwem FcRn przez komórkę i uwolnienie IgG na opozycyjnej stronie, wyeksponowanej na neutralne zewnątrzkomórkowe pH. Informacje o wewnątrzkomórkowych mechanizmach, które określają kierunek transcytozy od apikalnej do bazolateralnej powierzchni komórki bądź odwrotnie, są dość ograniczone. W domenie cytoplazmatycznej FcRn zidentyfikowano sygnalizacyjne motywy: Arg-301 Arg-302, wiążący kalmodulinę [28]; Trp-311; dwuleucynowy Leu-322 Leu-323, regulujące transport IgG prowadzony przez FcRn od apikalnej do bazolateralnej powierzchni komórki. Leu-314 jest wymagana dla funkcji sygnalizacyjnej motywu tryptofanu, natomiast Asp-317 i Asp-318 dla sygnału dwuleucynowego. Biochemiczne badania wykazały, że motyw tryptofanu bezpośrednio oddziałuje z podjednostką μ białka adaptorowego AP-2, a motyw dwuleucynowy wchodzi w interakcję z podjednostkami σ i γ białka AP2 [115]. Wskazano też, że miozyna Vb (MyoVb) i Rab25 regulują transcytozę IgG za pośrednictwem FcRn w obu kierunkach [109].

Zdolność FcRn do dwukierunkowego transportowania IgG przez nabłonki, jak również jego bardzo ważna rola w prezentacji IgG-ICs przez komórki APC, determinują jego doniosłe funkcje w odporności związanej z błonami śluzowymi.

Błony śluzowe są głównymi miejscami, gdzie wielokomórkowy organizm, taki jak ssaków z człowiekiem włącznie, oddziałuje ze środowiskiem. Powierzchnie śluzowe są zatem narażone na ciągły kontakt z różnego rodzaju antygenami, w tym patogennymi bakteriami, wirusami. Będąc najważniejszymi wrotami zakażenia są wyposażone w skuteczne mechanizmy obronne przed patogenami oraz szkodliwymi czynnikami [67], takie jak:

- spolaryzowaną barierę nabłonkową, wyściełającą błony śluzowe,
- wydzieliny (gruczołów i komórek nabłonka zawierające bakterio-, wiruso- i grzybobójcze substancje; IgA, IgG, IgM i IgD) uwalniane na powierzchnię apikalną warstwy komórek nabłonkowych. IgG jest dominującą klasą immunoglobulin w żeńskich narządach rodnych, jest obecna także w wydzielinach błon śluzowych jamy ustnej, jelita cienkiego i grubego, pęcherza moczowego i płuc. Immunoglobulina G obecna w wydzielinach śluzówki jest wytwarzana miejscowo w tkance limfatycznej błon śluzowych przez komórki plazmatyczne lub pochodzi z krążenia systemowego [56],
- tkankę limfatyczną związaną z błonami śluzowymi – MALT (mucosal associated lymphoid tissue) lub układ odpornościowy błon śluzowych – MIS (mucosal immune system). W MALT/MIS wyodrębnia się m.in. tkankę limfatyczną związaną z jelitami GALT (gut associated lymphoid tissue), z oskrzelami BALT (bronchus associated lymphoid tissue), z nosem i gardłem NALT (nasopharynx associated lymphoid tissue).



Ryc. 7. Rola FcRn w odporności związanej z błonami śluzowymi. Swoiste przeciwciała klasy IgG z krążenia systemowego (lub wytwarzane lokalnie) są wchłaniane do wnętrza komórek nabłonkowych śluzówki w procesie endocytozy fazy płynnej i dostarczane do wczesnych/sortujących endosomów (SE). W kwaśnym środowisku endosomów wiążą się z FcRn i w ten sposób są transportowane przez barierę nabłonka. Przetransportowane cząsteczki IgG wiążą i neutralizują antygeny (patogeny) na powierzchni błon śluzowych. Utworzone kompleksy immunologiczne typu IgG-IC mogą być, z udziałem FcRn, transportowane w kierunku bazolateralnej powierzchni nabłonka do odpowiedniego MALT. W MALT (pH 7,4), uwolnione IgG-ICs są internalizowane przez receptory Fc γ R obecne na powierzchni komórek APC; komórki te następnie migrują do węzłów chłonnych, aby inicjować swoistą antygenową odpowiedź limfocytów T. W prezentacji antygeny (w postaci IgG-ICs) przez komórki APC istotną rolę odgrywa FcRn (objaśnienie w tekście)

ryn/nose associated lymphoid tissue), tkankę limfocytową związaną z układem moczowo-płciowym – GUALT (genitourinary associated lymphoid tissue) i układem rozrodczym VALT (vulvovaginal associated lymphoid tissue).

MALT/MIS położony jest pod nabłonkiem i jest złożony głównie z komórek wrodzonej i nabytej odporności.

Układ odpornościowy błon śluzowych jest czynnościowo zintegrowany, co umożliwia: migrację uczulonych w określonym obszarze limfocytów do wielu innych obszarów tego układu; interakcje z obwodowym, poza śluzówkowym układem odpornościowym.

Funkcje FcRn w odporności związanej z błonami śluzowymi przedstawiono na modelu transgenicznego

myszki z ekspresją hFcRn, lecz pozbawionej ekspresji endogennego mysiego FcRn. Poziom ekspresji hFcRn w nabłonku jelitowym humanizowanej myszy był zbliżony do poziomu obserwowanego w jelicie cienkim dorosłych ludzi. U tej transgenicznej myszy, przeciwciała klasy IgG skierowane przeciwko owoalbuminie (OVA), po dożylnym podaniu, dotarły do płynu luminalnego jelita cienkiego w ciągu kilku godzin. Transport swoistych przeciwciał anty-OVA klasy IgG do światła jelitowego myszy z nokautem genu dla FcRn był znacząco mniejszy. Kompleksy IgG-OVA, podane dożołądkowo, również zostały przetransportowane do blaszki właściwej humanizowanej myszy, a następnie komórki dendrytyczne (CD11c⁺) ze zinternalizowaną owoalbuminą wykryto w węzłach chłonnych krezki – MLNs (mesenteric lymph nodes). Wykazano też, że dożylne podanie przeciwciał IgG anty-OVA i jednocześnie doustne podanie owoalbuminy do transgenicznej myszy z ekspresją hFcRn prowadzi do: uformowania kompleksów IgG-OVA w świetle jelita, przetransportowania ich do blaszki właściwej przez FcRn i ekspansji OVA-swoistych komórek T-CD4⁺ w MLNs. Podobne procesy, za pośrednictwem FcRn, zachodziły w błonie śluzowej górnych dróg oddechowych humanizowanej myszy – z ekspresją hFcRn, po podaniu donosowo owoalbuminy i dożylniej iniekcji przeciwciał anty-OVA klasy IgG [119]. Te obserwacje dowiodły, że FcRn: przyczynia się do swoistej odporności typu humoralnego błon śluzowych dzięki zdolności transportowania przeciwciał klasy IgG z bazolateralnej powierzchni bariery nabłonkowej do wydzielin śluzówkowych po stronie apikalnej (miejsce napotkania czynnika chorobotwórczego); może również kierować dostarczenie antygeny (w postaci IgG-ICs) z powierzchni śluzówki do odpowiedniego MALT, gdzie IgG-ICs są internalizowane przez komórki prezentujące antygen (na ogół przez komórki dendrytyczne – DCs), które wędrują do węzłów chłonnych i inicjują odpowiedź limfocytów T (ryc.7). W prezentacji IgG-ICs przez komórki APC za pomocą cząsteczek MHC klasy I i II, istotną rolę odgrywa FcRn (zob. wyżej).

Obecnie istnieją bezpośrednie dowody wskazujące na udział FcRn w odporności związanej z błonami śluzowymi. W badaniach z wykorzystaniem mysich modeli zakażonych patogennymi bakteriami [8,15,120] wykazano, że stan zapalny wywołany przez nie został zredukowany przez swoiste dla danej bakterii przeciwciała tylko u myszy z ekspresją FcRn. FcRn w komórkach nabłonkowych błon śluzowych zakażonych myszy był konieczny do: transcytozy antybakteryjnych przeciwciał klasy IgG z krążenia systemowego, poprzez barierę nabłonka, do światła przewodu żołądkowo-jelitowego; przetransportowania uformowanych IgG-ICs (antygen bakteryjny-antybakteryjne przeciwciała IgG) do MALT oraz do aktywacji swoistych antygenowo limfocytów T-CD4⁺ w miejscowych węzłach chłonnych. Kompleksy składające się z monoklonalnego przeciwciała IgG2a anty-*F. tularensis* i z inaktywowanej bakterii *Francisella tularensis*, podane donosowo, chroniły myszy z ekspresją FcRn, przed infekcją wewnątrzkomórkową

bakterią *F. tularensis*. Immunizacja samą z inaktywowaną bakterią nie zapewniła ochronnej odporności. Ochronna odporność przeciwko *F. tularensis* wywołana aktywacją limfocytów T-CD4⁺ i T-CD8⁺, była zależna od transportu, za pośrednictwem FcRn, immunogenu – *F. tularensis* do tkanki limfatycznej NALT w obecności monoklonalnego przeciwciała anty-*F. tularensis*. Zaobserwowano również zwiększoną internalizację, zależną od FcγR, *F. tularensis* w kompleksie z monoklonalnym przeciwciałem anty-*F. tularensis* przez komórki APC w obrębie NALT [45].

Receptor FcRn umożliwia ochronę błon śluzowych nie tylko przed zakażeniami bakteriami, ale także wirusami. Analiza infekcji wirusem opryszczki pospolitej (HSV-2) wykazała, że swoiste przeciwciała HSV-2 klasy IgG o właściwościach neutralizujących były transportowane drogą transcytozy z krążenia systemowego do światła narządów rodnych myszy typu dzikiego (WT), lecz nie myszy pozbawionej FcRn, i zapewniły ochronę śluzówki narządów rodnych myszy (WT) przed infekcją wirusową wywołaną doświadczalnie podaniem myszom dopochwowo wirusa HSV-2 szczepu 186 [56]. Podobne działanie ochronne zaobserwowano u myszy z ekspresją FcRn, po podaniu w iniekcji dootrzewnowej monoklonalnych przeciwciał skierowanych przeciwko hemaglutyninie wirusa grypy, a następnie zakażonych wirusem grypy PR8. Przeciwciała te, o zdolności neutralizującej tylko w środowisku kwaśnym, przetransportowane przez FcRn do endosomów komórek nabłonkowych śluzówki płuc, neutralizowały infekcję wirusową w endosomach przez blokowanie fuzji otoczki wirusowej z błonami endosomów, zapobiegając replikacji wirusa [10]. Wykazano też, że przeciwciała VRCO1 skierowane przeciwko fragmentowi glikoproteiny gp120 otoczki wirusa HIV-1, zmodyfikowane metodą ukierunkowanej mutagenyzy (aby zwiększyć powinowactwo ich wiązania do FcRn), podane dożylnie makakom, zapewniły lepszą ochronę ich śluzówki odbytu przed zakażeniem wirusem SHIV, podanym doodbytniczo, niż niezmodyfikowane przeciwciała VRCO1 [51]. Genetyczna modyfikacja monoklonalnych przeciwciał VRCO1 zwiększyła ich transport za pośrednictwem FcRn przez barierę nabłonka, akumulację w błonie śluzowej odbytu (skutecznie blokując wnikanie wirusa) oraz okres półtrwania w surowicy, a w konsekwencji wpłynęła na poprawę skuteczności przeciwciał VRCO1 w zapobieganiu zakażeniom wirusem. Można zatem przypuszczać, że modyfikacja interakcji swoiste przeciwciała klasy IgG – receptor FcRn, prowadząca do polepszenia funkcji FcRn, mogłaby potencjalnie: zwiększyć siłę i trwałość strategii biernej odporności, aby zapobiec infekcjom wirusowym błon śluzowych oraz obniżyć ilość i częstość podawania zmodyfikowanych przeciwciał przeciwko patogenom błon śluzowych.

Badania na myszach wykazały, że FcRn zaangażowany jest również w procesy swoistej odporności czynnej typu humoralnego dzięki zdolności: do efektywnego transportu antygeny związanego z fragmentem Fc/IgG przez barierę nabłonka śluzówki do tkanki limfatycznej błon śluzowych, gdzie jest przechwytywany i prezentowany

przez komórki DCs; do ochrony antygeny w kompleksie z Fc/IgG i swoistych przeciwciał klasy IgG przed degradacją, tym samym wpływając na zwiększenie utrzymywania się ich w krążeniu. Immunizacja donosowa, konstruktem fuzyjnym: glikoproteina gD wirusa HSV typu 2 i fragment Fc/IgG2a, w obecności adiuwanta CpG, chroniła myszy typu dzikiego, lecz nie z nokautem FcRn, przed zakażeniem wirusem HSV-2. Taki sposób immunizacji stymulował ogólnoustrojową i lokalną odpowiedź humoralną (wytwarzanie swoistych przeciwciał klasy IgG o silnej aktywności neutralizującej) i odpowiedź komórkową w obrębie błon śluzowych układu oddechowego i rozrodzowego (aktywację limfocytów T-CD8⁺ i T-CD4⁺ produkujących IFN- γ i IL-2) oraz powstawanie komórek pamięci immunologicznej [118]. Podobnie u myszy, które donosowo zaszczepiono fuzyjnym białkiem złożonym z białka Gag (p24) wirusa HIV-1 i Fc fragmentu mysiej immunoglobuliny G2a, razem z adiuwantem CpG, rozwijała się swoista humoralna (lokalna i ogólnoustrojowa) i komórkowa odpowiedź immunologiczna, włączając limfocyty B i T pamięci immunologicznej [61]. Gag-swoista odporność była wystarczająco silna, aby chronić myszy przed zakażeniem białkiem Gag wirusa HIV-1, które wprowadzono dopochwowo myszom [61]. Myszy niemające FcRn oraz te, które immunizowano samym antygenem, a także antygenem połączonym z Fc/IgG zablokowanym miejscem wiążącym dla FcRn, nie były chronione przed infekcją HSV-2 i HIV-1, co wskazuje na istotną rolę FcRn w czynnej odporności humoralnej i odporności komórkowej błon śluzowych [61,118].

Analiza fizjologicznego znaczenia zależnej od FcRn krzyżowej prezentacji antygenów (w postaci IgG-ICs) przez komórki DCs w błonach śluzowych wykazała, że brak ekspresji FcRn w obrębie komórek DCs (CD8⁺CD11b⁺) u doświadczalnych myszy spowodował brak stymulacji odpowiedzi komórkowej ze strony limfocytów T-CD8⁺ wobec komórek nowotworowych w błonach śluzowych jelita grubego i płuc. Podanie komórek DCs (z ekspresją FcRn) od myszy WT myszom z nokautem *Fcgrt* indukowało tę odpowiedź: FcRn w DCs umożliwił aktywację swoistych antygenowo limfocytów T-CD8⁺ i sekrecję cytokin (IFN- γ , IL-12) [12]. Ponadto, u ludzi z nowotworem złośliwym jelita grubego (CRC) stwierdzono, że komórki DCs (FcRn⁺CD11c⁺) umiejscawiają się wokół guzów nowotworowych w bliskim sąsiedztwie limfocytów T-CD8⁺, co koreluje z infiltracją limfocytów T-CD8⁺ do tkanek guza. Pacjenci z większą liczbą komórek DCs (FcRn⁺CD11c⁺), przy lub w okolicy guzów, mieli znacznie dłuższy czas przeżycia niż pacjenci z mniejszą ich liczbą [12]. Te obserwacje świadczą o roli FcRn w indukcji swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej w błonach śluzowych poprzez udział w krzyżowej prezentacji antygenów przez komórki DCs i regulację profilu cytokin wytwarzanych przez aktywowane limfocyty T-CD8⁺.

Przedstawione wyniki badań nad rolą FcRn w układzie odpornościowym związanym ze śluzówkami ujawniły fizjologiczne znaczenie funkcji FcRn w odporności związanej z błonami śluzowymi, jak również możliwość ich

modulowania. Mogą potencjalnie być wykorzystane przy opracowywaniu nowych metod terapii ukierunkowanych na walkę z nowotworami błon śluzowych i zwalczanie wewnątrzkomórkowych zakażeń wirusowych oraz bakteryjnych.

IMPLIKACJE TERAPEUTYCZNE BIOLOGICZNYCH FUNKCJI FcRn

Biologiczne funkcje receptora FcRn, w połączeniu z wiedzą na poziomie molekularnym o strukturze FcRn i mechanizmie jego oddziaływań z IgG, są wykorzystywane do opracowywania nowych, bardziej skutecznych leków. Ogólnie można je podzielić na dwie różne grupy: pierwszą grupę stanowią monoklonalne przeciwciała o wydłużonym okresie półtrwania; białka fuzyjne zawierające fragment Fc/IgG; nanocząsteczki (pokryte fragmentem Fc immunoglobuliny G) z ładunkiem leku. Mogą one mieć zastosowanie w leczeniu różnego rodzaju chorób, takich jak nowotwory, choroby układu krążenia, zakaźne. Druga grupa to preparaty obniżające poziomy endogennych przeciwciał, do zastosowania w stanach chorobowych zależnych od przeciwciał klasy IgG.

W ostatnim dziesięcioleciu skupiono się na projektowaniu różnych mutantów IgG w celu wzmocnienia skuteczności terapii opartych na IgG, zredukowania dawki oraz czasu trwania leczenia. Chodziło też o polepszenie komfortu pacjenta, zmniejszenie działań niepożądanych oraz kosztów leczenia, przy zachowaniu efektów terapeutycznych. Mutacje dotyczyły miejsca wiązania FcRn we fragmencie Fc/IgG, które miały istotny wpływ na interakcje IgG z FcRn, a w rezultacie na okres półtrwania przeciwciał IgG w krążeniu. Pierwsze doniesienie o tym, że można projektować za pomocą metod inżynierii genetycznej, fragment Fc/IgG w celu uzyskania immunoglobuliny G o zwiększonym *in vivo* okresie półtrwania, pochodzi z badania, w którym, po zastosowaniu losowej mutagenyzy i „phage display”, uzyskano zmutowany fragment Fc mysiej IgG1 (Thr-252Leu/Thr-254 Ser/Thr-256Phe). Ten zmutowany fragment Fc miał zwiększone powinowactwo wiązania do mysiego FcRn w środowisku kwaśnym (mutacja nie miała wpływu na wiązanie w środowisku fizjologicznym), a w rezultacie zwiększony okres półtrwania u myszy w porównaniu z dzikim typem fragmentu Fc/IgG1 [37]. W późniejszym okresie zaprojektowano wiele ludzkich monoklonalnych immunoglobulin G ze zwiększonym *in vivo* okresem półtrwania, co sprawdzono u zwierząt z rzędu naczelnych. Wśród tych mutantów, mutant humanizowanego przeciwciała IgG1 (MEDI-524-YTE), skierowanego przeciwko stałemu epitopowi antygeny A białka F wirusa RSV, z poprawionym powinowactwem przy pH 6,0 (przez potrójną mutację (Met-252Tyr/Ser-254 Thr/Thr-256Glu), wykazywał 4-krotny wzrost okresu półtrwania w surowicy, w porównaniu z niezmodyfikowanym przeciwciałem (motavizumab, MEDI-524). MEDI-524-YTE, w badaniach u ludzi okazał się też bardziej skuteczny niż MEDI-524 [89]. Inny mutant, HN (mutacja dwóch reszt w ludzkich IgG1: His-433Lys/Asn-434Phe) ze zwiększonym wiązaniem do hFcRn w środowisku kwaśnym, był

bardziej aktywnie transportowany, za pośrednictwem FcRn, przez łożysko niż ludzka immunoglobulina G1 typu dzikiego [110]. Wykazano również, że dwa podstawienia (Met-428Leu/Asn-434Ser) we fragmencie Fc/IgG leku bewacizumab, powodują 4-krotny wzrost jego okresu półtrwania i zwiększoną aktywność antynowotworową, w porównaniu z niezmodyfikowanym lekiem, u transgenicznej myszy (z ekspresją hFcRn) po ksenogenicznych przeszczepach guzów [121]. Bewacizumab (Avastin) jest rekombinowanym, humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym IgG1. Działa przez wiązanie się z czynnikami wzrostu naczyń śródbłonka (VEGF), hamując ich wiązanie z receptorami na powierzchni komórek śródbłonka. Zmniejszając unaczynienia nowotworów litych prowadzi do hamowania ich wzrostu. Działanie przeciwnowotworowe stwierdzono m.in. w raku okrężnicy, sutka, trzustki, nerki. Stosowany jest także w zwyrodnieniu plamki żółtej, retinopatii cukrzycowej.

Liczne badania wykazały, że opierając się na interakcji IgG-FcRn można manipulować farmakokinetyką monoklonalnych przeciwciał klasy IgG. Wzrost powinowactwa IgG do FcRn w kwaśnym, a nie w neutralnym pH może poprawić okres półtrwania w surowicy terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych. Retencja niewielkiego powinowactwa w środowisku fizjologicznym zapewnia skuteczną recykлизację IgG: pozwala na uwolnienie zinternalizowanych przeciwciał, związanych z FcRn w endosomach (w celu ich ochrony przed degradacją), z powrotem do krążenia. Natomiast mutacje w regionie Fc/IgG monoklonalnych przeciwciał, które zwiększają ich powinowactwo wiązania do FcRn przy pH 7,4 i 6,0, mogą przyspieszać katabolizm tych przeciwciał IgG zamiast wydłużyć ich okres półtrwania [16].

W polaryzowanych komórkach, takich jak nabłonek, FcRn transportuje IgG dwukierunkowo poprzez transcytozę. Pierwsze badania wskazujące, że FcRn może być wykorzystany do transportu terapeutycznych białek i jednocześnie zwiększać okres półtrwania tych cząsteczek w krążeniu, przeprowadzono na myszach z białkiem fuzyjnym zawierającym mysią erytropoetynę (EPO) i fragment Fc mysiej immunoglobuliny IgG1. Zaobserwowano, że połączenie EPO z Fc/IgG umożliwia transport tego białka fuzyjnego (EPO-Fc) przez nabłonek dróg oddechowych, w następstwie wiązania z receptorem FcRn. W dalszych badaniach wykazano, że dzięki temu mechanizmowi rekombinowane białko fuzyjne: ludzka erytropoetyna – fragment Fc ludzkiej IgG1 może być podawane małpom cynomolgus i ludziom drogą wziewną. Badania kliniczne pierwszej fazy wykazały zależne od dawki zwiększenie stężenia w surowicy białka fuzyjnego EPO-Fc z jednoczesnym wzrostem odsetka retikulocytów we krwi ochotników otrzymujących ten preparat. Sprawdzone też dostarczanie drogą doustną i wziewną innych typów fuzyjnych białek: IFN- β -Fc, FSH-Fc, faktor IX-Fc oraz nanocząsteczek (pokrytych fragmentem Fc/IgG) z ładunkiem insuliny [80,86]. Te badania udowodniły, że FcRn-zależne dostarczanie leku przez powierzchnię śluzówki może być nową nieinwazyjną metodą leczenia, która jest skuteczna i klinicznie

wykonalna. Koniugacja z Fc/IgG również zwiększa okres półtrwania fuzyjnego partnera, co pozwala na podawanie leku w dłuższych odstępach czasowych oraz ograniczenie ryzyka wystąpienia działań niepożądanych. Białkami fuzyjnymi (ukierunkowanymi na receptor FcRn), wprowadzonymi do praktyki klinicznej, są m.in.:

Etanercept (Enbrel) to rekombinowane ludzkie białko fuzyjne składające się z pozakomórkowej domeny receptora 2 ludzkiego TNF- α (TNFR2/p75) połączonej z fragmentem Fc ludzkiej IgG1. Jest wytwarzane metodą rekombinacji genetycznej z wykorzystaniem systemu ekspresji genu ssaków w komórkach jajnika chomika chińskiego. Obecność fragmentu Fc powoduje, że lek ma dłuższy okres półtrwania. Etanercept łączy się z TNF- α (wiąże także TNF- β) przeciwdziałając jego skutkom. Jest lekiem stosowanym w terapii reumatoidalnego zapalenia stawów i przewlekłej łuszczycy plackowatej [38].

Romiplostym (Nplate) Już w latach 90 ub.w. podjęto próby leczenia małopłytkowości za pomocą trombopoetyny. Trombopoetyna (TPO) jest podstawowym fizjologicznym regulatorem wytwarzania płytek krwi. Działa poprzez swoisty receptor dla TPO (TPO-R) zwany również receptorem cMpl. Sklonowanie receptora cMpl pozwoliło na zsyntetyzowanie cząsteczek wiążących i aktywujących ten receptor. Romiplostym jest pierwszym agonistą receptora trombopoetyny, który zarejestrowano do zwalczania pierwotnej małopłytkowości immunologicznej. Przez naśladowanie działania trombopoetyny romiplostym pobudza wytwarzanie płytek krwi i zwiększa ich liczbę. Jest białkiem fuzyjnym, składa się z fragmentu Fc ludzkiej immunoglobuliny klasy IgG1 połączonego kowalencyjnie z dwoma łańcuchami peptydowymi, na których znajdują się 4 miejsca wiążące receptor cMpl. Domena Fc jest odpowiedzialna za wydłużony okres półtrwania leku w krwiobiegu, umożliwiając odwracalne wiązanie białka z receptorem FcRn, a następnie ponowne uwolnienie do krążenia [53].

Abatacept (Orencia) – rekombinowane białko fuzyjne (otrzymywane metodą rekombinacji DNA w komórkach jajnika chomika chińskiego), składające się z zewnątrzkomórkowej domeny ludzkiego antygenu CLTA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) połączonej ze zmodyfikowanym fragmentem Fc immunoglobuliny ludzkiej IgG1. Preparat został zarejestrowany do stosowania w reumatoidalnym zapaleniu stawów i młodzieńszym idiopatycznym zapaleniu stawów [63].

Alprolix, lek opracowany do leczenia i profilaktyki krwawień u pacjentów z hemofilią typu B (wrodzonym niedoborem czynnika IX). Jest białkiem fuzyjnym składającym się ze zrekombinowanego ludzkiego czynnika krzepnięcia IX kowalencyjnie związanego z fragmentem Fc ludzkiej immunoglobuliny G1. Jest otrzymywany w technologii rekombinacji DNA w linii embrionalnych komórek nerki ludzkiej (HEK, Human Embryonic Kidney) bez dodatku jakichkolwiek egzogennych białek pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego [83].

W przypadku zaburzenia procesów autotolerancji układ odpornościowy atakuje tkanki własnego ciała i niszczy je w procesie autoimmunizacji, czyli nieprawidłowo przebiegającej odpowiedzi immunologicznej. Zaburzenia te mogą prowadzić do powstawania tzw. chorób autoimmunizacyjnych. W rozwoju chorób autoimmunizacyjnych odgrywają rolę dwa główne patomechanizmy odpowiedzialne za uszkodzenie komórek i tkanek: komórkowy i humoralny. Do chorób z dominującą odpowiedzią humoralną, w których patogenną rolę pełnią przede wszystkim przeciwciała i kompleksy przeciwciał z antygenami, należą m.in. pęcherzyca, toczeń rumieniowaty, miastenia gravis, immunologiczna płamica małopłytkowa, choroba Gravesa-Basedowa. Obecnie zatwierdzone metody leczenia, w celu usunięcia patogennych autoprzeciwciał w chorobach autoimmunizacyjnych to: plazmafereza i wlewy dożylnie immunoglobulin G (IVIg). Są one bardzo kosztowne, wymagają skomplikowanych procedur i mogą towarzyszyć im niepożądane reakcje i powikłania [74]. Dlatego też podejmowane są działania w celu opracowania alternatywnych strategii terapeutycznych. Wyniki badań, uzyskane w USA [55] wskazały, że terapie ukierunkowane na FcRn mogą być korzystne w leczeniu chorób, w których odgrywają rolę patogenne autoprzeciwciała klasy IgG. Wykazano całkowitą zależność skuteczności stosowania dożylnych preparatów immunoglobulin (IVIg) w leczeniu chorób autoimmunizacyjnych związanych z obecnością patogennych przeciwciał klasy IgG od noworodkowego receptora Fc (FcRn). Przez zablokowanie FcRn wysokimi dawkami IVIg, patogenne autoprzeciwciała nie były chronione przez receptor FcRn przed katabolizmem i tym samym szybciej ulegały degradacji. Zatem blokowanie interakcji FcRn-IgG jest racjonalnym podejściem zmierzającym do redukcji poziomów patogennych autoprzeciwciał w chorobach autoimmunizacyjnych. Hamowanie interakcji FcRn-IgG można osiągnąć przez: przeciwciała monoklonalne ze swoistością względem FcRn; IgG (opracowane metodą inżynierii genetycznej) o wysokim powinowactwie wiązania do FcRn, zarówno w środowisku kwaśnym jak i w fizjologicznym; peptydowe blokery receptora FcRn; regulację ekspresji FcRn.

Terapeutyczne działanie monoklonalnych przeciwciał anty-FcRn badano stosując szczurze modele miastenia gravis. Jest to choroba autoimmunizacyjna, wywołana autoprzeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom złączy nerwowo-mięśniowych, najczęściej przeciwko receptorom acetylocholininy. Eksperymentalna miastenia gravis (MG) była indukowana przez podanie szczurom monoklonalnego przeciwciała ze swoistością dla receptora acetylocholinowego (AChR) bądź przez immunizację z użyciem receptora AChR. Leczenie monoklonalnymi przeciwciałami IG3, rozpoznającymi FcRn ze zwiększonym powinowactwem, zarówno w kwaśnym jak i w neutralnym zakresie pH, znacznie zredukowało ostrość symptomów choroby, jak również poziomy patogennych przeciwciał IgG anty-AChR w surowicy w porównaniu do nietraktowanych zwierząt [57]. Za pomocą inżynierii genetycznej skonstruowano prze-

ciwciała klasy IgG o wyższym powinowactwie wiązania do FcRn w zakresie pH 6,0-7,4 (nazwane przeciwciałami Abdegs), które zwiększają degradację patogennych IgG. W mysim modelu choroby zwyrodnieniowej stawów przeciwciała Abdegs mogły redukować obrzęk i stan zapalny [81,110]. Przeciwciała Abdegs mają krótki okres półtrwania i dlatego redukcja poziomów patogennych autoprzeciwciał w surowicy przez Abdegs trwa tylko przez kilka dni [110]. Wykorzystując fagową bibliotekę przeciwciał utworzoną metodą „phage display”, zidentyfikowano ludzkie monoklonalne przeciwciała przeciwko FcRn o wysokim powinowactwie wiązania z receptorem FcRn zarówno w pH 6,4 jak i w pH 7,0. Przeciwciała te u transgenicznym myszy z ekspresją hFcRn powodowały zwiększony katabolizm egzogennie wprowadzonych ludzkich IgG. U zwierząt z rzędu naczelnych obserwowano obniżenie poziomów endogennych krążących IgG (powyżej 60%) bez zmiany poziomu IgA oraz IgM. Zidentyfikowane przeciwciała anty-FcRn, choć miały krótki okres półtrwania (z powodu wysokiego powinowactwa do FcRn w neutralnym zakresie pH) powodowały trwałą i wydłużoną redukcję poziomów IgG [74].

Wpływ syntetycznych peptydów, hamujących wiązanie IgG do FcRn, na poziom endogennych IgG badano u małp cynomolgus (*Macaca fascicularis*). Rodzinę peptydów, zdolnych do wiązania się z hFcRn i blokowania interakcji hFcR-hIgG, wykryto dzięki peptydowej bibliotece „phage display”. Podanie homodimeru (o nazwie SYN1436) jednego z tych peptydów małpom spowodowało redukcję endogennych IgG aż o 80%. U transgenicznej myszy z ekspresją hFcRn, po podaniu SYN 1436, obserwowano wzrost szybkości katabolizmu egzogennych hIgG w sposób zależny od dawki [60]. Powyższe badania reprezentują dowód, że blokery receptora FcRn mogą być skutecznym sposobem zwalczania chorób autoimmunizacyjnych zależnych od przeciwciał klasy IgG.

Modulacja ekspresji FcRn stwarza dodatkowe możliwości kontroli poziomów autoprzeciwciał IgG. Dlatego też badania nad regulacją ekspresji genu dla hFcRn są doniosłe i mają bardzo istotny wymiar praktyczny. Oprócz siRNA i/lub antysensownych nukleotydów, zastosowanie czynników modelujących aktywność: prozapalnych cytokin, czynników transkrypcyjnych istotnych dla aktywności promotora hFCGRT oraz ich cząsteczek sygnałowych/ścieżek, może być uwzględniane przy opracowywaniu nowych metod leczenia chorób spowodowanych patogennymi przeciwciałami klasy IgG.

W ciągu ostatnich lat są prowadzone intensywne badania, aby nowe szczepionki były podawane w miejsca, przez które najczęściej dochodzi do zakażenia. Większość ludzkich patogenów (jak na przykład, HIV, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* i wiele innych) wnika do organizmu poprzez powierzchnie błon śluzowych układu pokarmowego, oddechowego, moczowo-płciowego. Szczepionki podawane przez błony śluzowe (doustnie, doodbytniczo, donosowo, dopochwowo), tzw.

szczepionki śluzówkowe mają istotne zalety w porównaniu ze szczepionkami podawanymi w postaci zastrzyku. Indukują humoralną i komórkową (zarówno ogólnoustrojową jak i śluzówkową) odpowiedź immunologiczną, tym samym mogą zapewnić skuteczniejszą ochronę przed zakażeniem przez patogeny śluzówkowe; są najprostsze i najkorzystniejsze z ekonomicznego punktu widzenia drogą aplikacji szczepionek; są nieinwazyjne i bezigłowe, to sprawia, że są dogodniejsze dla pacjenta oraz znikają problemy z zakażeniem przenoszonym przez krew (np. HIV/AIDS, wirusowe zapalenie wątroby), czy z odczynem zapalnym.

Badania w kierunku opracowania szczepionek, wprowadzanych do organizmu przez błony śluzowe, są skoncentrowane m.in. na strategii dostarczania antygenów szczepionkowych do komórek prezentujących antygen w tkance limfatycznej błon śluzowych. Wyniki z badań nad rolą biologiczną FcRn wskazały, że funkcję noworodkowego receptora Fc w odporności związanej z błonami śluzowymi można wykorzystać do opracowywania szczepionek śluzówkowych. Wykazano, że antygen patogenny skoniugowany z Fc/IgG jest transportowany, w nienaruszonej postaci przez barierę nabłonkową błon śluzowych do odpowiedniego MALT, dzięki zdolności fragmentu Fc/IgG do interakcji z FcRn. Ponadto, donosowa szczepionka składająca się z antygeny wirusowego (białka gD wirusa opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2) lub z białka Gag(p24) wirusa HIV) i z fragmentu Fc immunoglobuliny G (z niezablokowanym miejscem wiążącym dla FcRn) oraz zawierająca adiuwant CpG, indukowała swoistą i ochronną odpowiedź immunologiczną włączając limfocyty B i T pamięci immunologicznej. Była to odpowiedź humoralna i komórkowa, zarówno ogólnoustrojowa jak i śluzówkowa wobec antygeny szczepionkowego [61,118]. Zaobserwowano też, że mutacje w domenie Fc/IgG, które zwiększają wiązanie fragmentu Fc do FcRn w środowisku kwaśnym, jak również polimeryzacja fragmentu Fc/IgG mogą poprawić skuteczność szczepionek śluzówkowych ukierunkowanych na FcRn [33].

FcRn, dzięki zdolności dwukierunkowego transportu IgG poprzez nabłonek wyściełający błony śluzowe układu pokarmowego, moczowo-płciowego, oddechowego, może zapewnić również bierną ochronę przed wirusowymi i bakteryjnymi zakażeniami w miejscu wejścia patogenu [10,15,56]. Jak pokazano na zwierzęcych układach modelowych, neutralizujące przeciwciała dostarczone przed infekcją do krążenia są transportowane za pośrednictwem FcRn z bazolateralnej powierzchni nabłonka śluzówki w kierunku apikalnej powierzchni [119,120]. Modyfikacja miejsca wiązania FcRn we fragmencie Fc/IgG ochronnych przeciwciał, powodująca wzrost ich powinowactwa do FcRn w środowisku kwaśnym, nie tylko wydłuża okres półtrwania tych przeciwciał w surowicy, ale również zwiększa akumulację w błonach śluzowych [51].

Dokładne poznanie funkcji FcRn w różnych narządach i tkankach pozwoli nie tylko lepiej zrozumieć rolę FcRn

i IgG w zdrowiu i w chorobie, lecz prawdopodobnie również zwiększyć zakres terapeutycznych aplikacji leków ukierunkowanych na FcRn.

PODSUMOWANIE

Noworodkowy receptor Fc (FcRn) jest wyjątkowym receptorem o powinowactwie do dwóch niespokrewnionych białek osocza krwi: immunoglobuliny G i albuminy. Oba ligandy wiążą receptor FcRn w niezwykle podobny, pH-zależny sposób: wiązanie zachodzi w kwaśnym zakresie pH (optymalnie w pH 5,0-6,5), natomiast w pH \geq 7,0 wiązanie jest niewykrywalne. FcRn występuje nie tylko w narządach zaangażowanych w transport matczynych IgG, ale także w wielu różnych typach komórek i tkanek ludzi i zwierząt. Zależność interakcji FcRn-ligand od pH jest podstawą wszechstronnych funkcji FcRn w procesach zarówno immunologicznych, jak i nieimmunologicznych. FcRn jest odpowiedzialny za przekazywanie biernej odporności od matki na potomstwo. U ludzi i zwierząt, chroni IgG i albuminę przed degradacją, zapewniając tym cząsteczkom, o ważnych funkcjach w organizmie, długi okres półtrwania we krwi (około 21 dni). FcRn ekspresjonowany w profesjonalnych komórkach APC zarządza transportem zinternalizowanych IgG-ICs do kompartmentów degradacyjnych, gdzie odbywa się ich przetwarzanie oraz łączenie powstałych peptydów antygenowych z cząsteczkami MHC. Ponadto, kontroluje werbunek do kompartmentu degradacyjnego białek koniecznych do krzyżowej prezentacji IgG-ICs przez komórki dendrytyczne (CD8⁺CD11b⁺). Konsekwencją jest silniejsza aktywacja komórek T-CD4⁺ i T-CD8⁺ i zwiększona ochrona zarówno przed bakteryjnymi, jak i wirusowymi czynnikami chorobotwórczymi. Istnieje wiele dowodów wskazujących na udział FcRn w odporności (humoralnej i komórkowej) związanej z błonami śluzowymi, dzięki zdolności FcRn do dwukierunkowego transportu IgG przez spolaryzowane nabłonki wyściełające błony śluzowe jelit, układu oddechowego, moczowo-płciowego oraz bardzo ważnej roli w prezentacji antygenów (w postaci IgG-ICs) przez komórki APC. Są obserwacje świadczące o funkcji FcRn w indukcji swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej w błonach śluzowych przez udział w krzyżowej prezentacji antygenów przez komórki dendrytyczne i regulację profilu cytokin wytwarzanych przez aktywowane limfocyty T-CD8⁺.

Rola FcRn w transporcie IgG przez bariery nabłonków, regulacja recyklingu monomerycznych IgG, albuminy, chroniąca je przed degradacyjnym losem w lizosomach i przedłużająca ich okres półtrwania w osoczu krwi oraz kierowanie IgG-ICs do „maszyny” prezentacji antygeny, stanowią duży potencjał terapeutyczny. W ostatnim dziesięcioleciu skupiono się na projektowaniu różnych wariantów swoistych terapeutycznych przeciwciał IgG, aby wydłużyć ich okres półtrwania przez zmutowanie reszt we fragmencie Fc/IgG, istotnych w oddziaływaniach z FcRn i tym samym zwiększyć skuteczność terapii. W konsekwencji też zredukować dawki, czas trwania i koszty leczenia.

Podejmowano działania zastosowania fragmentu Fc/IgG lub IgG ze zmodyfikowaną domeną Fc jako nośnika do transportu terapeutycznych cząsteczek i zwiększenia ich okresu półtrwania w krążeniu. Efektem badań nad opracowaniem nowych metod terapii, ukierunkowanych na receptor FcRn, było wprowadzenie do praktyki klinicznej wielu leków m.in. takich jak: Enbrel, Romiplo-stym, Abatacept, Alprolix.

Rozpoczęto badania nad regulacją ekspresji receptora FcRn na poziomie transkrypcji. Dokładne poznanie molekularnych mechanizmów regulacji ekspresji genu dla FcRn stworzy możliwość wpływania na jego ekspresję, a tym samym na modulowanie funkcji noworodkowego receptora Fc. Może to znaleźć w przyszłości zastosowanie np. w terapii chorób zależnych od przeciwciał klasy IgG.

Obecnie uwaga badaczy jest też skoncentrowana nad wykorzystaniem funkcji FcRn w odporności związanej z błonami śluzowymi do opracowywania szczepionek śluzówkowych. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że donosowa immunizacja konstruktem fuzyjnym: antygen patogenny fuzji z Fc/IgG stymuluje ogólnoustrojową i lokalną odpowiedź humoralną i odpowiedź komórkową

oraz powstawanie komórek pamięci immunologicznej B i T. Zaobserwowano też, że można wpływać na skuteczność szczepionek śluzówkowych, ukierunkowanych na FcRn przez zwiększenie powinowactwa wiązania Fc/IgG do FcRn w kwaśnym zakresie pH, jak również przez polimeryzację fragmentu Fc immunoglobuliny G.

Potrzebne są dalsze badania, aby uzyskać pełniejsze zrozumienie roli FcRn w różnych narządach. Wyjaśnienie molekularnych mechanizmów fizjologicznych funkcji FcRn oraz regulacji ekspresji FcRn stworzy możliwość rozwoju badań w celu: opracowania bardziej skutecznych leków opartych na IgG i albuminie, ukierunkowanych na FcRn, które zagwarantują skuteczne leczenie m.in. chorób infekcyjnych, nowotworowych, autoimmunizacyjnych; opracowania nowej generacji szczepionek śluzówkowych, ukierunkowanych na FcRn.

PODZIĘKOWANIA

Dziękuję prof. dr. hab. Hubertowi Krotkiewskiemu za wnikliwe przeczytanie manuskryptu i krytyczne uwagi.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abdiche Y.N., Yeung Y.A., Chaparro-Riggers J., Barman I., Strop P., Chin S.M., Pham A., Bolton G., McDonough D., Lindquist K., Pons J., Rajpal A.: The neonatal Fc receptor (FcRn) binds independently to both sites of the IgG homodimer with identical affinity. *MABs*, 2015; 7: 331-343
- [2] Ahouse J.J., Hagerman C.L., Mittall P., Gilbert D.J., Copeland N.G., Jenkins N.A., Simister N.E.: Mouse MHC class I-like Fc receptor encoded outside the MHC. *J. Immunol.*, 1993; 151: 6076-6088
- [3] Akilesh S., Christianson G.J., Roopenian D.C., Shaw A.S.: Neonatal FcR expression in bone marrow-derived cells functions to protect serum IgG from catabolism. *J. Immunol.*, 2007; 179: 4580-4588
- [4] Akilesh S., Huber T.B., Wu H., Wang G., Hartleben B., Kopp J.B., Miner J.H., Roopenian D.C., Unanue E.R., Shaw A.S.: Podocytes use FcRn to clear IgG from the glomerular basement membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 967-972
- [5] Andersen J.T., Cameron J., Plumridge A., Evans L., Sleep D., Sandlie I.: Single-chain variable fragment albumin fusions bind the neonatal Fc receptor (FcRn) in a species-dependent manner. Implications for *in vivo* half-life evaluation of albumin fusion therapeutics. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 24277-24285
- [6] Andersen J.T., Qian J.D., Sandlie I.: The conserved histidine 166 residue of the human neonatal Fc receptor heavy chain is critical for the pH-dependent binding to albumin. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 3044-3051
- [7] Antohe F., Rădulescu L., Gafencu A., Ghetie V., Simionescu M.: Expression of functionally active FcRn and the differentiated bidirectional transport of IgG in human placental endothelial cells. *Hum. Immunol.*, 2001; 62: 93-105
- [8] Armitage C.W., O'Meara C.P., Harvie M.C., Timms P., Blumberg R.S., Beagley K.W.: Divergent outcomes following transcytosis of IgG targeting intracellular and extracellular chlamydial antigens. *Immunol. Cell Biol.*, 2014; 92: 417-426
- [9] Asano K., Nabeyama A., Miyake Y., Qiu C.H., Kurita A., Tomura M., Kanagawa O., Fujii S., Tanaka M.: CD169-positive macrophages dominate antitumor immunity by crosspresenting dead cell-associated antigens. *Immunity*, 2011; 34: 85-95
- [10] Bai Y., Ye L., Tesar D.B., Song H., Zhao D., Björkman P.J., Roopenian D.C., Zhu X.: Intracellular neutralization of viral infection in polarized epithelial cells by neonatal Fc receptor (FcRn)-mediated IgG transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 18406-18411
- [11] Baker K., Qiao S.W., Kuo T.T., Aveson V.G., Platzer B., Andersen J.T., Sandlie I., Chen Z., de Haar C., Lencer W.I., Fiebiger E., Blumberg R.S.: Neonatal Fc receptor for IgG (FcRn) regulates cross-presentation of IgG immune complexes by CD8⁺CD11b⁺ dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 9927-9932
- [12] Baker K., Rath T., Flak M.B., Arthur J.C., Chen Z., Glickman J.N., Zlobec I., Karamitopoulou E., Stachler M.D., Odze R.D., Lencer W.I., Jobin C., Blumberg R.S.: Neonatal Fc receptor expression in dendritic cells mediates protective immunity against colorectal cancer. *Immunity*, 2013; 39: 1095-1107
- [13] Baker K., Rath T., Lencer W.I., Fiebiger E., Blumberg R.S.: Cross-presentation of IgG-containing immune complexes. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2013; 70: 1319-1334
- [14] Bamford D.R.: Studies *in vitro* of the passage of serum proteins across the intestinal wall of young rats. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 1966; 166: 30-45
- [15] Ben Suleiman Y., Yoshida M., Nishiumi S., Tanaka H., Mimura T., Nobutani K., Yamamoto K., Takenaka M., Aoganghua A., Miki I., Ota H., Takahashi S., Matsui H., Nakamura M., Blumberg R.S., Azuma T.: Neonatal Fc receptor for IgG (FcRn) expressed in the gastric epithelium regulates bacterial infection in mice. *Mucosal Immunol.*, 2012; 5: 87-98
- [16] Borrok M.J., Wu Y., Beyaz N., Yu X.Q., Oganessian V., Dall'Acqua W.F., Tsui P.: pH-dependent binding engineering reveals an FcRn

- affinity threshold that governs IgG recycling. *J. Biol. Chem.*, 2015; 290: 4282-4290
- [17] Boyd J.D., Hamilton W.J. (red.): *The human placenta*. MacMillan Press Ltd, 1975
- [18] Brambell F.W.: The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. *Lancet*, 1966; 2: 1087-1093
- [19] Brambell F.W., Halliday R., Morris I.G.: Interference by human and bovine serum and serum protein fractions with the absorption of antibodies by suckling rats and mice. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 1958; 149: 1-11
- [20] Brambell F.W., Hemmings W.A., Morris I.G.: A theoretical model of γ -globulin catabolism. *Nature*, 1964; 203: 1352-1354
- [21] Brambell F.W., Hemmings W.A., Oakley C.L., Porter R.R.: The relative transmission of the fractions of papain hydrolyzed homologous γ -globulin from the uterine cavity to the foetal circulation in the rabbit. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 1960; 151: 478-482
- [22] Cauza K., Hinterhuber G., Dingelmaier-Hovorka R., Brugger K., Klosner G., Horvat R., Wolff K., Foedinger D.: Expression of FcRn, the MHC class I-related receptor for IgG, in human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2005; 124: 132-139
- [23] Chaudhury C., Brooks C.L., Carter D.C., Robinson J.M., Anderson C.L.: Albumin binding to FcRn: distinct from the FcRn-IgG interaction. *Biochemistry*, 2006; 45: 4983-4990
- [24] Chaudhury C., Mehnaz S., Robinson J.M., Hayton W.L., Pearl D.K., Roopenian D.C., Anderson C.L.: The major histocompatibility complex-related Fc receptor for IgG (FcRn) binds albumin and prolongs its lifespan. *J. Exp. Med.*, 2003; 197: 315-322
- [25] Chen Y., Balthasar J.P.: Evaluation of a catenary PBPK model for predicting the *in vivo* disposition of mAbs engineered for high-affinity binding to FcRn. *AAPS J.*, 2012; 14: 850-859
- [26] Cianga P., Cianga C., Cozma L., Ward E.S., Carasevici E.: The MHC class I related Fc receptor, FcRn, is expressed in the epithelial cells of the human mammary gland. *Hum. Immunol.*, 2003; 64: 1152-1159
- [27] Claypool S.M., Dickinson B.L., Wagner J.S., Johansen F.E., Venu N., Borawski J.A., Lencer W.I., Blumberg R.S.: Bidirectional transepithelial IgG transport by a strongly polarized basolateral membrane Fc γ -receptor. *Mol. Biol. Cell*, 2004; 15: 1746-1759
- [28] Dickinson B.L., Claypool S.M., D'Angelo J.A., Aiken M.L., Venu N., Yen E.H., Wagner J.S., Borawski J.A., Pierce A.T., Hershberg R., Blumberg R.S., Lencer W.I.: Ca²⁺-dependent calmodulin binding to FcRn affects immunoglobulin G transport in the transcytotic pathway. *Mol. Biol. Cell*, 2008; 19: 414-423
- [29] Einarsdottir H., Ji Y., Visser R., Mo C., Luo G., Scherjon S., van der Schoot C.E., Vidarsson G.: H435-containing immunoglobulin G3 allotypes are transported efficiently across the human placenta: implications for alloantibody-mediated diseases of the newborn. *Transfusion*, 2014; 54: 665-671
- [30] Ellinger I., Fuchs R.: hFcRn-mediated transplacental immunoglobulin G transport. Protection of and threat to the human fetus and newborn. *Wien. Med. Wochenschr.*, 2012; 162: 207-213
- [31] Fahey J.L., Robinson A.G.: Factors controlling serum γ -globulin concentration. *J. Exp. Med.*, 1963; 118: 845-868
- [32] Firan M., Bawdon R., Radu C., Ober R.J., Eaken D., Antohe F., Ghetie V., Ward E.S.: The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of γ -globulin in humans. *Int. Immunol.*, 2001; 13: 993-1002
- [33] Foss S., Grevys A., Sand K.M., Bern M., Blundell P., Michaelsen T.E., Pleass R.J., Sandlie I., Andersen J.T.: Enhanced FcRn-dependent transepithelial delivery of IgG by Fc-engineering and polymerization. *J. Control. Release*, 2016; 223: 42-52
- [34] Gafencu A., Heltianu C., Burlacu A., Hunziker W., Simionescu M.: Investigation of IgG receptors expressed on the surface of human placental endothelial cells. *Placenta*, 2003; 24: 664-676
- [35] Gan Z., Ram S., Ober R.J., Ward E.S.: Using multifocal plane microscopy to reveal novel trafficking processes in the recycling pathway. *J. Cell Sci.*, 2013; 126: 1176-1188
- [36] Gan Z., Ram S., Vaccaro C., Ober R.J., Ward E.S.: Analyses of the recycling receptor, FcRn, in live cells reveal novel pathways for lysosomal delivery. *Traffic*, 2009; 10: 600-614
- [37] Ghetie V., Popov S., Borvak J., Radu C., Matesoi D., Medesan C., Ober R.J., Ward E.S.: Increasing the serum persistence of an IgG fragment by random mutagenesis. *Nat. Biotechnol.*, 1997; 15: 637-640
- [38] Goldenberg M.M.: Etanercept, a novel drug for the treatment of patients with severe, active rheumatoid arthritis. *Clin. Ther.*, 1999; 21: 75-87
- [39] Guilliams M., Bruhns P., Saeys Y., Hammad H., Lambrecht B.N.: The function of Fc γ receptors in dendritic cells and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.*, 2014; 14: 94-108
- [40] Guo J., Li F., He Q., Jin H., Liu M., Li S., Hu S., Xiao Y., Bi D., Li Z.: Neonatal Fc receptor-mediated IgG transport across porcine intestinal epithelial cells: potentially provide the mucosal protection. *DNA Cell Biol.*, 2016; 35: 301-309
- [41] Guo J., Li F., Qian S., Bi D., He Q., Jin H., Luo R., Li S., Meng X., Li Z.: TGEV infection up-regulates FcRn expression via activation of NF- κ B signaling. *Sci. Rep.*, 2016; 6: 32154
- [42] Halliday R.: Prenatal and postnatal transmission of passive immunity to young rats. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 1955; 144: 427-430
- [43] Heidl S., Ellinger I., Niederberger V., Waltl E.E., Fuchs R.: Localization of the human neonatal Fc receptor (FcRn) in human nasal epithelium. *Protoplasma*, 2016; 253: 1557-1564
- [44] Huang X., Zheng F., Zhan C.G.: Binding structures and energies of the human neonatal Fc receptor with human Fc and its mutants by molecular modeling and dynamics simulations. *Mol. Biosyst.*, 2013; 9: 3047-3058
- [45] Iglesias B.V., Bitsaktsis C., Pham G., Drake J.R., Hazlett K.R., Porter K., Gosselin E.J.: Multiple mechanisms mediate enhanced immunity generated by mAb-inactivated *F. tularensis* immunogen. *Immunol. Cell Biol.*, 2013; 91: 139-148
- [46] Ishikawa T., Takizawa T., Iwaki J., Mishima T., Ui-Tei K., Takeshita T., Matsubara S., Takizawa T.: Fc gamma receptor IIb participates in maternal IgG trafficking of human placental endothelial cells. *Int. J. Mol. Med.*, 2015; 35: 1273-1289
- [47] Kacs Kovics I., Kis Z., Mayer B., West A.P.Jr., Tiangco N.E., Tilahun M., Cervenak L., Bjorkman P.J., Goldsby R.A., Szenci O., Hammarström L.: FcRn mediates elongated serum half-life of human IgG in cattle. *Int. Immunol.*, 2006; 18: 525-536
- [48] Kacs Kovics I., Mayer B., Kis Z., Frenyó L.V., Zhao Y., Muylldermans S., Hammarström L.: Cloning and characterization of the dromedary (*Camelus dromedarius*) neonatal Fc receptor (drFcRn). *Dev. Comp. Immunol.*, 2006; 30: 1203-1215
- [49] Kacs Kovics I., Wu Z., Simister N.E., Frenyó L.V., Hammarström L.: Cloning and characterization of the bovine MHC class I-like Fc receptor. *J. Immunol.*, 2000; 164: 1889-1897
- [50] Kaplan K.C., Catsoulis E.A., Franklin E.C.: Maternal-foetal transfer of human immune globulins and fragments in rabbits. *Immunology*, 1965; 8: 354-359
- [51] Ko S.Y., Pegu A., Rudicell R.S., Yang Z.Y., Joyce M.G., Chen X., Wang K., Bao S., Kraemer T.D., Rath T., Zeng M., Schmidt S.D., Todd J.P., Penzak S.R., Saunders K.O. i wsp.: Enhanced neonatal Fc receptor function improves protection against primate SHIV infection. *Nature*, 2014; 514: 642-645
- [52] Kuo T.T., de Muinck E.J., Claypool S.M., Yoshida M., Nagaishi T., Aveson V.G., Lencer W.I., Blumberg R.S.: N-glycan moieties in neo-

- natal Fc receptor determine steady-state membrane distribution and directional transport of IgG. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 8292-8300
- [53] Kuter D.J.: Biology and chemistry of thrombopoietic agents. *Semin. Hematol.*, 2010; 47: 243-248
- [54] Leitner K., Ellinger I., Grill M., Brabec M., Fuchs R.: Efficient apical IgG recycling and apical-to-basolateral transcytosis in polarized BeWo cells overexpressing hFcRn. *Placenta*, 2006; 27: 799-811
- [55] Li N., Zhao M., Hilario-Vargas J., Prisayanh P., Warren S., Diaz L.A., Roopenian D.C., Liu X.: Complete FcRn dependence for intravenous Ig therapy in autoimmune skin blistering diseases. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 3440-3450
- [56] Li Z., Palaniyandi S., Zeng R., Tuo W., Roopenian D.C., Zhu X.: Transfer of IgG in the female genital tract by MHC class I-related neonatal Fc receptor (FcRn) confers protective immunity to vaginal infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 4388-4393
- [57] Liu L., Garcia A.M., Santoro H., Zhang Y., McDonnell K., Dumont J., Bitonti A.: Amelioration of experimental autoimmune myasthenia gravis in rats by neonatal FcR blockade. *J. Immunol.*, 2007; 178: 5390-5398
- [58] Liu X., Lu L., Yang Z., Palaniyandi S., Zeng R., Gao L.Y., Mosser D.M., Roopenian D.C., Zhu X.: The neonatal FcR-mediated presentation of immune-complexed antigen is associated with endosomal and phagosomal pH and antigen stability in macrophages and dendritic cells. *J. Immunol.*, 2011; 186: 4674-4686
- [59] Liu X., Ye L., Bai Y., Mojidi H., Simister N.E., Zhu X.: Activation of the JAK/STAT-1 signaling pathway by IFN- γ can down-regulate functional expression of the MHC class I-related neonatal Fc receptor for IgG. *J. Immunol.*, 2008; 181: 449-463
- [60] Low S.C., Mezo A.R.: Inhibitors of the FcRn:IgG protein-protein interaction. *AAPS J.*, 2009; 11: 432-434
- [61] Lu L., Palaniyandi S., Zeng R., Bai Y., Liu X., Wang Y., Pauza C.D., Roopenian D.C., Zhu X.: A neonatal Fc receptor-targeted mucosal vaccine strategy effectively induces HIV-1 antigen-specific immunity to genital infection. *J. Virol.*, 2011; 85: 10542-10553
- [62] Lu W., Zhao Z., Zhao Y., Yu S., Zhao Y., Fan B., Kacsokovics I., Hammarström L., Li N.: Over-expression of the bovine FcRn in the mammary gland results in increased IgG levels in both milk and serum of transgenic mice. *Immunology*, 2007; 122: 401-408
- [63] Lundquist L.M.: Abatacept: a novel treatment for rheumatoid arthritis. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2007; 8: 2371-2379
- [64] Malek A.: Ex vivo human placenta models: transport of immunoglobulin G and its subclasses. *Vaccine*, 2003; 21: 3362-3364
- [65] Martin W.L., West A.P.Jr., Gan L., Bjorkman P.J.: Crystal structure at 2.8 Å of an FcRn/heterodimeric Fc complex: mechanism of pH-dependent binding. *Mol. Cell*, 2001; 7: 867-877
- [66] McCarthy K.M., Yoong Y., Simister N.E.: Bidirectional transcytosis of IgG by the rat neonatal Fc receptor expressed in a rat kidney cell line: a system to study protein transport across epithelia. *J. Cell Sci.*, 2000; 113: 1277-1285
- [67] McGhee J.R., Fujihashi K.: Inside the mucosal immune system. *PLoS Biol.*, 2012; 10: e1001397
- [68] Medesan C., Matesoi D., Radu C., Ghetie V., Ward E.S.: Delineation of the amino acid residues involved in transcytosis and catabolism of mouse IgG1. *J. Immunol.*, 1997; 158: 2211-2217
- [69] Metzger D.W.: Interleukin-12 as an adjuvant for induction of protective antibody responses. *Cytokine*, 2010; 52: 102-107
- [70] Mikulska J.E.: Analysis of response elements involved in the regulation of the human neonatal Fc receptor gene (*FCGRT*). *PLoS One*, 2015; 10: e0135141
- [71] Mikulska J.E., Pablo L., Canel J., Simister N.E.: Cloning and analysis of the gene encoding the human neonatal Fc receptor. *Eur. J. Immunogenet.*, 2000; 27: 231-240
- [72] Mikulska J.E., Simister N.E.: Analysis of the promoter region of the human FcRn gene. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000; 1492: 180-184
- [73] Neefjes J., Jongma M.L., Paul P., Bakke O.: Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011; 11: 823-836
- [74] Nixon A.E., Chen J., Sexton D.J., Muruganandam A., Bitonti A.J., Dumont J., Viswanathan M., Martik D., Wassaf D., Mezo A., Wood C.R., Biedenkapp J.C., TenHoor C.: Fully human monoclonal antibody inhibitors of the neonatal Fc receptor reduce circulating IgG in non-human primates. *Front. Immunol.*, 2015; 6: 176
- [75] Ober R.J., Martinez C., Lai X., Zhou J., Ward E.S.: Exocytosis of IgG as mediated by the receptor, FcRn: An analysis at the single-molecule level. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 11076-11081
- [76] Ober R.J., Martinez C., Vaccaro C., Zhou J., Ward E.S.: Visualizing the site and dynamics of IgG salvage by the MHC class I-related receptor, FcRn. *J. Immunol.*, 2004; 172: 2021-2029
- [77] Ober R.J., Radu C.G., Ghetie V., Ward E.S.: Differences in promiscuity for antibody-FcRn interactions across species: implications for therapeutic antibodies. *Int. Immunol.*, 2001; 13: 1551-1559
- [78] Oganessian V., Damschroder M.M., Cook K.E., Li Q., Gao C., Wu H., Dall'Acqua W.F.: Structural insights into neonatal Fc receptor-based recycling mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 2014; 289: 7812-7824
- [79] Perez-Montoyo H., Vaccaro C., Hafner M., Ober R.J., Mueller W., Ward E.S.: Conditional deletion of the MHC class I-related receptor FcRn reveals the sites of IgG homeostasis in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 2788-2793
- [80] Peters R.T., Toby G., Lu Q., Liu T., Kulman J.D., Low S.C., Bitonti A.J., Pierce G.F.: Biochemical and functional characterization of a recombinant monomeric factor VIII-Fc fusion protein. *J. Thromb. Haemost.*, 2013; 11: 132-141
- [81] Petkova S.B., Akilesh S., Sproule T.J., Christianson G.J., Al Khabbaz H., Brown A.C., Presta L.G., Meng Y.G., Roopenian D.C.: Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model: potential application in humorally mediated autoimmune disease. *Int. Immunol.*, 2006; 18: 1759-1769
- [82] Plakins D., Polakova K., Mage M.G., Margulies D.H.: Rigidification of the $\alpha 2$ helix of an MHC class I molecule by a valine to proline mutation in position 165 does not prevent peptide-specific antigen presentation. *J. Immunol.*, 1997; 159: 4408-4414
- [83] Powell J.S., Pasi K.J., Ragni M.V., Ozelo M.C., Valentino L.A., Mahlangu J.N., Josephson N.C., Perry D., Manco-Johnson M.J., Apte S., Baker R.I., Chan G.C., Novitzky N., Wong R.S., Krassova S. i wsp.: Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 369: 2313-2323
- [84] Powner M.B., McKenzie J.A., Christianson G.J., Roopenian D.C., Fruttiger M.: Expression of neonatal Fc receptor in the eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2014; 55: 1607-1615
- [85] Prabhat P., Gan Z., Chao J., Ram S., Vaccaro C., Gibbons S., Ober R.J., Ward E.S.: Elucidation of intracellular recycling pathways leading to exocytosis of the Fc receptor, FcRn, by using multifocal plane microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 5889-5894
- [86] Pridgen E.M., Alexis F., Kuo T.T., Levy-Nissenbaum E., Karnik R., Blumberg R.S., Langer R., Farokhzad O.C.: Transepithelial transport of Fc-targeted nanoparticles by the neonatal Fc receptor for oral delivery. *Sci. Transl. Med.*, 2013; 5: 213ra167
- [87] Qiao S.W., Kobayashi K., Johansen F.E., Sollid L.M., Andersen J.T., Milford E., Roopenian D.C., Lencer W.I., Blumberg R.S.: Dependence of antibody-mediated presentation of antigen on FcRn. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 9337-9342
- [88] Radulescu L., Antohe F., Jinga V., Ghetie V., Simionescu M.: Neonatal Fc receptors discriminates and monitors the pathway of native and modified immunoglobulin G in placental endothelial cells. *Hum. Immunol.*, 2004; 65: 578-585

- [89] Robbie G.J., Criste R., Dall'Acqua W.F., Jensen K., Patel N.K., Lososky G.A., Griffin M.P.: A novel investigational Fc-modified humanized monoclonal antibody, motavizumab-YTE, has an extended half-life in healthy adults. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2013; 57: 6147-6153
- [90] Rock K.L., Shen L.: Cross-presentation: underlying mechanisms and role in immune surveillance. *Immunol. Rev.*, 2005; 207: 166-183
- [91] Rodewald R.: pH-dependent binding of immunoglobulins to intestinal cells of the neonatal rat. *J. Cell Biol.*, 1976; 71: 666-670
- [92] Roopenian D.C., Christianson G.J., Sproule T.J., Brown A.C., Akilesh S., Jung N., Petkova S., Avanesian L., Choi E.Y., Shaffer D.J., Eden P.A., Anderson C.L.: The MHC class I-like IgG receptor controls perinatal IgG transport, IgG homeostasis, and fate of IgG-Fc-coupled drugs. *J. Immunol.*, 2003; 170: 3528-3533
- [93] Sachs U.J., Socher I., Braeunlich C.G., Kröll H., Bein G., Santos S.: A variable number of tandem repeats polymorphism influences the transcriptional activity of the neonatal Fc receptor α -chain promoter. *Immunology*, 2006; 119: 83-89
- [94] Sakagami M., Omid Y., Campbell L., Kandalaf L.E., Morris C.J., Barar J., Gumbleton M.: Expression and transport functionality of FcRn within rat alveolar epithelium: a study in primary cell culture and in the isolated perfused lung. *Pharm. Res.*, 2006; 23: 270-279
- [95] Sand K.M., Bern M., Nilsen J., Noordzij H.T., Sandlie I., Andersen J.T.: Unraveling the interaction between FcRn and albumin: opportunities for design of albumin-based therapeutics. *Front. Immunol.*, 2015; 5: 682
- [96] Sayed-Ahmed A., Kassab M., Abd-Elmaksoud A., Elnasharty M., El-Kirdasy A.: Expression and immunohistochemical localization of the neonatal Fc receptor (FcRn) in the mammary glands of the Egyptian water buffalo. *Acta Histochem.*, 2010; 112: 383-391
- [97] Schneider Z., Jani P.K., Szikora B., Végh A., Kövesdi D., Iliás A., Cervenak J., Balogh P., Kurucz I., Kacsokovics I.: Overexpression of bovine FcRn in mice enhances T-dependent immune responses by amplifying T helper cell frequency and germinal center enlargement in the spleen. *Front. Immunol.*, 2015; 6: 357
- [98] Schultze H.E., Heremans J.F.: Molecular biology of human proteins with special reference to plasma proteins. W: Nature and Metabolism of Extracellular Proteins, t.1, Elsevier, Amsterdam 1966
- [99] Sell S.: Evidence for species' differences in the effect of serum γ -globulin concentration on γ -globulin catabolism. *J. Exp. Med.*, 1964; 120: 967-986
- [100] Shah U., Dickinson B.L., Blumberg R.S., Simister N.E., Lencer W.I., Walker W.A.: Distribution of the IgG Fc receptor, FcRn, in the human fetal intestine. *Pediatr. Res.*, 2003; 53: 295-301
- [101] Shields R.L., Namenuk A.K., Hong K., Meng Y.G., Rae J., Briggs J., Xie D., Lai J., Stadlen A., Li B., Fox J.A., Presta L.G.: High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to Fc γ R. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 6591-6604
- [102] Simister N.E.: Human placental Fc receptors and the trapping of immune complexes. *Vaccine*, 1998; 16: 1451-1455
- [103] Simister N.E., Mostov K.E.: An Fc receptor structurally related to MHC class I antigens. *Nature*, 1989; 337: 184-187
- [104] Simister N.E., Rees A.R.: Isolation and characterization of an Fc receptor from neonatal rat small intestine. *Eur. J. Immunol.*, 1985; 15: 733-738
- [105] Spiegelberg H.L., Weigle W.O.: The catabolism of homologous and heterologous 7S gamma globulin fragments. *J. Exp. Med.*, 1965; 121: 323-338
- [106] Story C.M., Mikulska J. E., Simister N.E.: A major histocompatibility complex class I-like Fc receptor cloned from human placenta: Possible role in transfer of immunoglobulin G from mother to fetus. *J. Exp. Med.*, 1994; 180: 2377-2381
- [107] Szlauer R., Ellinger I., Haider S., Saleh L., Busch B.L., Knöfler M., Fuchs R.: Functional expression of the human neonatal Fc-receptor, hFcRn, in isolated cultured human syncytiotrophoblasts. *Placenta*, 2009; 30: 507-515
- [108] Tiwari B., Junghans R.P.: Functional analysis of the mouse Fc-grt 5' proximal promoter. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1681: 88-98
- [109] Tzaban S., Massol R.H., Yen E., Hamman W., Frank S.R., Lapiere L.A., Hansen S.H., Goldenring J.R., Blumberg R.S., Lencer W.I.: The recycling and transcytotic pathways for IgG transport by FcRn are distinct and display an inherent polarity. *J. Cell Biol.*, 2009; 185: 673-684
- [110] Vaccaro C., Bawdon R., Wanjie S., Ober R.J., Ward E.S.: Divergent activities of an engineered antibody in murine and human systems have implications for therapeutic antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 18709-18714
- [111] van Bilsen K., van Hagen P.M., Bastiaans J., van Meurs J.C., Misotten T., Kuijpers R.W., Hooijkaas H., Dingjan G.M., Baarsma G.S., Dik W.A.: The neonatal Fc receptor is expressed by human retinal pigment epithelial cells and is downregulated by tumour necrosis factor-alpha. *Br. J. Ophthalmol.*, 2011; 95: 864-868
- [112] Vidarsson G., Stemerding A.M., Stapleton N.M., Spliethoff S.E., Janssen H., Rebers F.E., de Haas M., van de Winkel J.G.: FcRn: an IgG receptor on phagocytes with a novel role in phagocytosis. *Blood*, 2006; 108: 3573-3579
- [113] Wani M.A., Haynes L.D., Kim J., Bronson C.L., Chaudhury C., Mohanty S., Waldmann T.A., Robinson J.M., Anderson C.L.: Familial hypercatabolic hypoproteinemia caused by deficiency of the neonatal Fc receptor, FcRn, due to a mutant β_2 -microglobulin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 5084-5089
- [114] Ward E.S., Zhou J., Ghetie V., Ober R.J.: Evidence to support the cellular mechanism involved in serum IgG homeostasis in humans. *Int. Immunol.*, 2003; 15: 187-195
- [115] Wernick N.L., Haucke V., Simister N.E.: Recognition of the tryptophan-based endocytosis signal in the neonatal Fc receptor by the μ subunit of adaptor protein-2. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 7309-7316
- [116] West A.P.Jr., Bjorkman P.J.: Crystal structure and immunoglobulin G binding properties of the human major histocompatibility complex-related Fc receptor. *Biochemistry*, 2000; 39: 9698-9708
- [117] Ye L., Liu X., Rout S.N., Li Z., Yan Y., Lu L., Kamala T., Nanda N.K., Song W., Samal S.K., Zhu X.: The MHC class II-associated invariant chain interacts with the neonatal Fc γ receptor and modulates its trafficking to endosomal/lysosomal compartments. *J. Immunol.*, 2008; 181: 2572-2585
- [118] Ye L., Zeng R., Bai Y., Roopenian D.C., Zhu X.: Efficient mucosal delivery of vaccine using the FcRn-mediated IgG transfer pathway. *Nat. Biotechnol.*, 2011; 29: 158-163
- [119] Yoshida M., Claypool S.M., Wagner J.S., Mizoguchi E., Mizoguchi A., Roopenian D.C., Lencer W.I., Blumberg R.S.: Human neonatal Fc receptor mediates transport of IgG into luminal secretions for delivery of antigens to mucosal dendritic cells. *Immunity*, 2004; 20: 769-783
- [120] Yoshida M., Kobayashi K., Kuo T.T., Bry L., Glickman J.N., Claypool S.M., Kaser A., Nagaishi T., Higgins D.E., Mizoguchi E., Wakatsuki Y., Roopenian D.C., Mizoguchi A., Lencer W.I., Blumberg R.S.: Neonatal Fc receptor for IgG regulates mucosal immune responses to luminal bacteria. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 2142-2151
- [121] Zalevsky J., Chamberlain A.K., Horton H.M., Karki S., Leung I.W., Sproule T.J., Lazar G.A., Roopenian D.C., Desjarlais J.R.: Enhanced antibody half-life improves *in vivo* activity. *Nat. Biotechnol.*, 2010; 28: 157-159
- [122] Zhang W.D., Wang W.H., Li S.X., Jia S., Zhang X.F., Cao T.T.: Localization of neonatal Fc receptor for IgG in aggregated lymphoid nodules area in abomasum of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) of different ages. *BMC Vet. Res.*, 2016; 12: 237
- [123] Zhou J., Johnson J.E., Ghetie V., Ober R.J., Ward E.S.: Generation of mutated variants of the human form of the MHC class I-related re-

ceptor, FcRn, with increased affinity for mouse immunoglobulin G. *J. Mol. Biol.*, 2003; 332: 901-913

[124] Zhu X., Meng G., Dickinson B.L., Li X., Mizoguchi E., Miao L., Wang Y., Robert C., Wu B., Smith P.D., Lencer W.I., Blumberg R.S.: MHC class I-related neonatal Fc receptor for IgG is functionally expressed in monocytes, intestinal macrophages, and dendritic cells. *J. Immunol.*, 2001; 166: 3266-3276

[125] Zhu X., Peng J., Chen D., Liu X., Ye L., Iijima H., Kadavil K., Lencer W.I., Blumberg R.S.: Calnexin and ERp57 facilitate the assembly of the neonatal Fc receptor for IgG with β 2-microglobulin in the endoplasmic reticulum. *J. Immunol.*, 2005; 175: 967-976

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.