

GRAŻYNA MAJKOWSKA-SKROBEK i DARIA AUGUSTYNIAK

Pracownia Immunologii, Zakład Mikrobiologii Ogólnej

Instytut Genetyki i Mikrobiologii

Uniwersytet Wrocławski

Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław

E-mail: majkosia@microb.uni.wroc.pl

STRUKTURA I FUNKCJA PODKLAS IMMUNOGLOBULINY KLASY A

Konsekwencją stałego narażenia organizmu człowieka zarówno na zmienne czynniki środowiskowe, jak również na kontakt z antygenami drobnoustrojów, jest aktywacja wielu komórek układu odpornościowego, których dalsze współdziałanie prowadzi do powstania humoralnych i komórkowych mechanizmów efektorowych. W odpowiedzi typu humoralnego kluczową rolę odgrywają przeciwciała (immunoglobuliny) syntetyzowane i wydzielane przez zaktywowane limfocyty B oraz ich komórki potomne – plazmocyty. Ich charakterystyczną właściwością jest z jednej strony, zdolność do swoistego rozpoznania i związania antygeny, który wzbudził ich tworzenie, z drugiej zaś, aktywacja funkcji efektorowych, w następstwie wytworzenia kompleksu antygen-przeciwciała. Wszystkie immunoglobuliny zbu-

dowane są z czterech łańcuchów polipeptydowych: dwóch lekkich (ang. Light, L) typu κ lub λ i dwóch ciężkich (ang. Heavy, H), połączonych wiązaniami kowalencyjnymi w makromolekularny związek (H_2L_2). Na podstawie struktury części stałych łańcuchów ciężkich (μ , δ , γ , α , ϵ), immunoglobuliny zostały podzielone na pięć, różniących się właściwościami fizykochemicznymi i biologicznymi klas: IgM, IgD, IgG, IgA i IgE, które dalej dzielą się na podklasy: IgG₁, IgG₂, IgG₃ i IgG₄ oraz IgA₁ i IgA₂. Czytelnikom szczególnie zainteresowanych tematem polecamy lekturę zeszytu KOSMOSU „Zagadnienia immunologii” (1992, 4), a zwłaszcza artykułu Marii Janusz zatytułowanego „Strukturalne i funkcjonalne zróżnicowanie immunoglobulin” (1992, 4, 393–400).

CHARAKTERYSTYKA IMMUNOGLOBULIN KLASY A

Dziennie organizm ludzki wytwarza więcej immunoglobulin klasy A (~66 mg/kg wagi ciała) aniżeli wszystkich pozostałych razem wziętych (dla porównania całodobowa produkcja IgG wynosi 34 mg/kg wagi ciała; IgM – 7,9; IgD – 0,4; IgE – 0,02) (MESTECKY i MCGHEE

1987). W odróżnieniu od innych izotypów, IgA cechuje unikalna heterogenność form molekularnych, z charakterystyczną dystrybucją w różnych płynach ustrojowych (KERR 1990, HEXHAM i współaut. 1997). W surowicy ludzkiej, ponad 80% IgA pochodzących z komórek

Wykaz stosowanych skrótów: CH – domena części stałej immunoglobulin, B IgA⁺ – limfocyt B z receptorem immunoglobulinowym klasy A, Fab – fragment wiążący antygen, Fc – fragment krystalizujący, Ig – immunoglobulina (przeciwciała), MALT – tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi, pIgA – polimeryczna IgA, pIgR – receptor dla polimerycznych form immunoglobulin, SC – fragment wydzielniczy, S-IgA – wydzielnicze przeciwciała klasy A, S-IgM – wydzielnicze przeciwciała klasy M.

plazmatycznych szpiku kostnego i śledziony, występuje jako cztero-łańcuchowy monomer. Resztę stanowią formy polimeryczne mające łańcuch łączący J (ang. joining): dimery i w mniejszym stopniu trimery oraz tetramery. W płynach wydzielniczych, takich jak: łzy, pot, siala, mleko, wydzieliny gruczołów przewodu pokarmowego, dróg oddechowych i moczowo-płciowych dominują formy polimeryczne. Są one produktami dwóch typów komórek: podśluzówkowych komórek plazmatycznych syntetyzujących cząsteczki IgA i łańcuch J oraz komórek nabłonkowych błon śluzowych wytwarzających fragment wydzielniczy (ang. secretory component). Z wielu względów powstająca pula systemowej i wydzielniczej IgA stanowi dwie odrębne jednostki, z małym

udziałem surowiczej IgA w wydzielinach i *vice versa* (CONLEY i DELACROIX 1987).

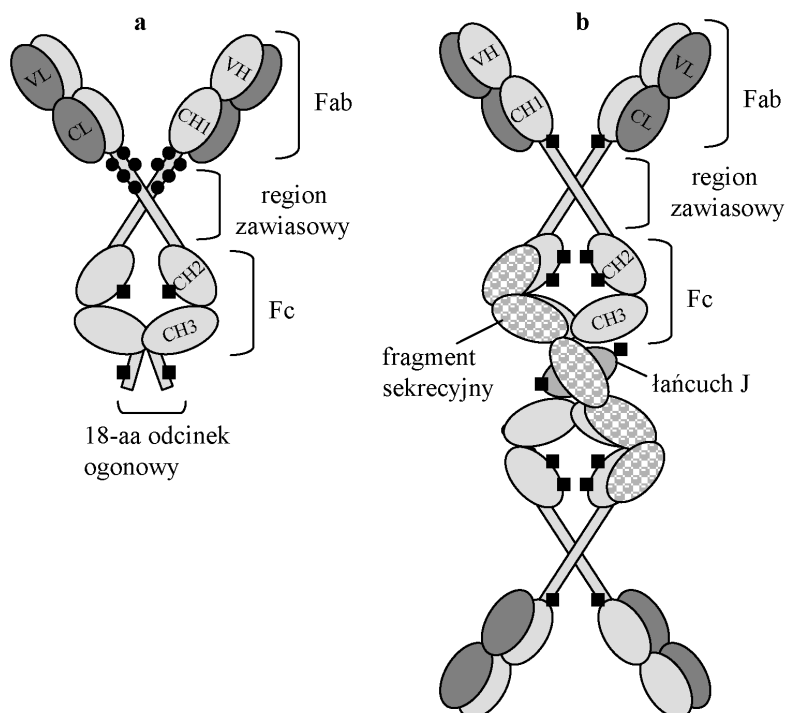
Na podstawie różnic budowy strukturalnej łańcuchów ciężkich α wyodrębniono dwie, kodowane przez odrębne geny podklasy: IgA₁ i IgA₂ (MESTECKY i MCGHEE 1987, KERR 1990, HEXHAM i współaut. 1997). IgA₁ jest podklasą dominującą w surowicy, podczas gdy udział IgA₂ jest relatywnie większy w wydzielinach. W obrębie izotypu IgA₂ opisano dwie odmiany allotypowe: A2m(1) i A2m(2) (LOGHEM VAN i BIEWENGA 1983). Badania ostatniej dekady zwracają uwagę na możliwość istnienia trzeciego allotypu A2(n) (CHINTALACHARUVU i współaut. 1994). Każda z tych form występuje w różnym stopniu polimeryzacji.

ŁAŃCUCHY $\alpha 1$ I $\alpha 2$

W obu łańcuchach α , analogicznie jak w γ i δ , można wyróżnić leżącą w odcinku N-końcowym część zmienną oraz obejmującą odcinek C-końcowy część stałą, zorganizowaną w trzy domeny: CH₁, CH₂, CH₃ i region zawiasowy (Ryc. 1). Cechą wspólną z łańcuchem μ jest obecność zlokalizowanego przy C-końcu, dodatkowego 18-aminokwasowego peptydu.

W peptydzie tym zwanym odcinkiem ogonowym (ang. tail piece), przedostatnia reszta cysteiny (Cys⁴⁹⁵ w łańcuchach α oraz Cys⁵⁷⁵ w łańcuchu μ) jest zdolna do kowalencyjnego wiązania łańcucha J i tworzenia polimerów (YOO i współaut. 1999).

Zmienność izotypową w obrębie łańcuchów α determinuje długość regionu zawiaso-



Ryc. 1. Schemat struktury: a) monomerycznej IgA₁ i b) wydzielniczej IgA₂m(1).

Kółkami zaznaczono lokalizację potencjalnych miejsc O-glikozylacji, zaś kwadratami miejsca N-glikozylacji.

wego oraz 22 substytucje aminokwasowe w domenach części stałych (Ryc. 2) (MESTECKY i MCGHEE 1987, KERR 1990, HEXHAM i współaut. 1997). Podstawową różnicą między łańcuchami $\alpha 1$ a $\alpha 2$, jest delecja 13 aminokwasów w regionie zawiasowym cząsteczki przeciwciała w IgA₂. Charakterystycznie wydłużony, bogaty w prolinę, serynę i treoninę region zawiasowy łańcucha $\alpha 1$, zawiera ponadto 9 potencjalnych miejsc O-glikozylacji (18 miejsc O-glikozylacji na cząsteczkę) (MATTU i współaut. 1998), które najprawdopodobniej determinują T-kształtną strukturę cząsteczki IgA₁ (BOEHM i współaut. 1999). Do tej pory kształt monomerycznych immunoglobulin klasy A wnioskowano na podstawie przypominającego literę Y, modelu IgG (KERR 1990). Odmienną strukturę podklasy IgA₁ potwierdził BOEHM i współaut. (1999) w oparciu o analizę rozproszenia neutronów i promieni X w monomerycznej cząsteczce IgA₁. Wymienieni autorzy wykazali, że odległość pomiędzy dwoma powierzchniami wiążącymi antygen, które znajdują się w końcach ramion Fab cząsteczki immunoglobuliny, jest znacznie większa w IgA₁ (23 nm) aniżeli w IgG (13–16 nm).

Skrócony region zawiasowy cechuje wszystkie odmiany allotypowe łańcucha $\alpha 2$, będące efektem rekombinacji lub genowej konwersji pomiędzy dwoma nieallelicznymi genami *Ca* (FLANAGAN i współaut. 1984) lub jak w przypadku allotypu A2(n), obu alleli *Ca2* (CHINTALACHARUVU i współaut. 1994). Allotypy różnią się między sobą sześcioma substytucjami aminokwasowymi, z których dwie zlokalizowane są w domenie CH₁ (reszty: 212 i 221), zaś cztery w domenie CH₃ (reszty: 411, 428, 458 i 467). Wynika stąd, że wszystkie odmiany allotypowe łańcucha $\alpha 2$ posiadają identyczną domenę CH₂, którą od analogicznej domeny w łańcuchu $\alpha 1$, odróżnia 7 aminokwasów (reszty: 277, 319, 327, 330, 337, 338 i 339). Z kolei struktura pierwszorzędowa domeny CH₁ jest identyczna w łańcuchach $\alpha 2m(2)$ i w $\alpha 2(n)$, podczas gdy domena CH₃ allotypu IgA²(n) odpowiada analogicznej domenie w IgA²m(1) oraz w podklasie IgA₁ (LOGHEM VAN i BIEWENGA 1983, KERR 1990, HEXHAM i współaut. 1997).

Osobliwością przeciwciał o allotypie A2m(1) jest fakt, że w większości z nich łańcuchy lekkie są związane wiązaniem dwusiarczkowym ze sobą (L-L), a nie z łańcuchami ciężkimi (H-L). W pozostałych allotypach, substytucja Pro²²¹ resztą argininy determinuje kowa-

lencyjne połączenie obu typów łańcuchów (H-L) poprzez cysteinę zlokalizowaną w pozycji 220 na końcu-C domeny CH₁. Badania z zastosowaniem ukierunkowanej mutagenyzy wykazały, że do powstania tego połączenia w cząsteczkach IgA₁ niezbędna jest natomiast Cys¹³³, która we wszystkich odmianach allotypowych łańcucha $\alpha 2$, zastąpiona jest resztą kwasu asparaginowego (CHINTALACHARUVU i MORRISON 1996).

W obu łańcuchach α , oligosacharydy przyłączone są do konserwatywnych reszt asparaginy w pozycji 263 domeny CH₂ oraz w pozycji 459 odcinka ogonowego, za pośrednictwem wiązań *N*-glikozydowych (MATTU i współaut. 1998). Pomimo braku w łańcuchu $\alpha 2$ cukrowców *O*-związanych, obecność dodatkowych oligosacharydów połączonych *N*-glikozydowo z resztami asparaginy znajdującymi się w pozycjach 166 i 337 łańcucha $\alpha 2m(1)$ oraz w pozycjach 166, 211 i 337 łańcuchów $\alpha 2m(2)$ i $\alpha(n)$ (HEXHAM i współaut. 1997) warunkuje wyższą zawartość węglowodanów w podklasie IgA₂ (8–10% masy cząsteczki) w porównaniu z podklasą IgA₁ (6–7% masy cząsteczki) (MESTECKY i RUSSELL 1986). Zmiany w składzie i strukturze *N*-glikanów są przyczyną obserwowanej heterogenności podklas IgA (ENDO i współaut. 1994, FIELD i współaut. 1994, MATTU i współaut. 1998). W domenie CH₂ łańcucha $\alpha 1$ występują głównie *N*-glikany diantenowe typu złożonego (> 80%). Z kolei w odcinku ogonowym obok dominujących struktur diantenowych występują również struktury triantenowe (~10%) (FIELD i współaut. 1994, MATTU i współaut. 1998), choć ich obecność nie została potwierdzona przez inną grupę uczonych (TANAKA i współaut. 1998). Ponad 98% *N*-związanych oligosacharydów zawiera kwas sjałowy przyłączony do końcowej galaktozy wiązaniem $\alpha 2$ -6 i/lub $\alpha 2$ -3. Pierwsze z nich dominuje w mono- i disjałowych *N*-glikanach, podczas gdy kwas sjałowy jest przyłączony wiązaniem $\alpha 2$ -3 głównie do jednej z gałęzi triantenowej (MATTU i współaut. 1998). Dodatkowo na strukturalne zróżnicowanie *N*-glikanów wpływa obecność lub brak rozdzielającej *N*-acetyloglukozoaminy oraz rdzeniowej fukozy, przyłączonych do struktury trimannozowej. Ocenia się, że rdzeniową fukozę zawiera ponad 40% oligosacharydów połączonych *N*-glikozydowo z Asn²⁶³ (FIELD i współaut. 1994, MATTU i współaut. 1998), zaś według innych autorów (TANAKA i współaut. 1998) jej występowanie jest ograniczone jedynie do *N*-glika-

nów obecnych w odcinku ogonowym. Przyczyny pojawiających się w literaturze rozbieżności zarówno odnośnie miejsc fukozytacji, jak i liczby antenowych struktur cukrowych dołączonych do struktury rdzeniowej *N*-glikanu, są niejasne. Można jedynie przypuszczać, iż zmiany w glikozylacji surowiczej IgA₁ mogą wpływać na funkcjonalną aktywność tej podklasy.

Obecne jedynie w regionie zawiasowym łańcucha $\alpha 1$, *O*-glikany związane są z Thr²²⁸, Ser²³⁰ i Ser²³², podczas gdy przyłączenie ich do reszt treoniny w pozycjach 225 i 236 jest (czasowo) zmienne. Do najczęściej występujących *O*-glikanów należą: *N*-acetyloneuraminozylo-($\alpha 2$ -3)-galaktozylo-($\beta 1$ -3)-*N*-acetylogalaktozamina (37%) i neutralna galaktozylo-($\beta 1$ -3)-*N*-acetylogalaktozamina (31%). Oznacza to, iż podklasa IgA₁ może istnieć jako szereg glikoform, różniących się zarówno ilością *O*-związanych oligosacharydów, jak również ich strukturą (FIELD i współaut. 1994, MATTU i współaut. 1998). Ponadto obecność w wydzielniczej IgA₁

bardziej złożonych i heterogennych (zawierających kwas sialowy, fukozę i *N*-acetyloglukozaminę) cukrowców (KERR 1990) odzwierciedla tkankową specyficzność glikozylacji. Warto tu wspomnieć, iż zmiany w *O*-glikozylacji mogą odgrywać rolę w patogenezie nefropatii IgA (FEEHALLY i ALLEN 1999), jak również mogą być sprzężone z wieloma nowotworami (KĄTNIK-PRASTOWSKA i FERENC-SIECZKOWSKA 1999). Fakt ten potwierdza również analiza łańcuchów oligocukrowych w surowiczych białkach szpiczakowych IgA₁, która wykazała obecność 4 reszt galaktozylo-($\beta 1$ -3)-*N*-acetylogalaktozaminy oraz reszty *N*-acetylogalaktozaminy połączonych *O*-glikozydowo z pięcioma resztami serynowymi znajdującymi się w pozycjach: 224, 230, 232, 238 i 240 (KERR 1990). Przypuszczalnie szpiczak, należący do nowotworów wywodzących się z szeregu rozwojowego limfocytów B, jest efektem nadmiernej aktywności *N*-acetylogalaktozaminyltransferazy lub modyfikacji jej specyficzności (MATTU i współaut. 1998).

ŁAŃCUCH J

Łańcuch J jest 137-aminokwasowym peptydem (~15,6 kDa), zawierającym 8 reszt cysteinowych, z których dwie Cys¹⁵ i/lub Cys⁷⁹, tworzą mostki dwusiarczkowe z odcinkiem ogonowym łańcucha α (Cys⁴⁹⁵) oraz μ (Cys⁵⁷⁵), zaś pozostałe – trzy wiązania wewnątrzłańcuchowe (KERR 1990, HEXHAM i współaut. 1997). Kluczową rolą łańcucha J jest udział w regulacji stopnia polimeryzacji miejscowo syntetyzowanych przeciwciał klasy A oraz IgM, oraz w ich translokacji przez nabłonek na powierzchnię śluzówki. Proces ten determinuje wzajemne dopasowanie się łańcucha J i receptorów dla form polimerycznych immunoglobulin (pIgR), oparte na modelu klucza i zamka (ang. lock and key) (JOHANSEN i współaut. 2000).

Transkrypcja genu kodującego łańcuch J, zlokalizowanego w chromosomie 4 (4q21), jest inicjowana podczas wstępnej fazy limfopozy, na poziomie komórki progenitorowej oraz komórki pro-B. Głównym miejscem syntezy tego peptydu są natomiast limfoblasty oraz komórki plazmatyczne rezydujące w tkance limfoidalnej związanej z błonami śluzowymi (ang. mucosa-associated lymphoid tissue, MALT), (JOHANSEN i współaut. 2000). Stosując metody

immunohistochemiczne oszacowano, iż wśród limfocytów „zasiedlających” błony śluzowe jelita, do ekspresji łańcucha J dochodzi średnio w 88% komórek B IgA₁⁺ oraz w 100% komórek B IgA₂⁺. Co ciekawe, obecność tego peptydu wykazano również w porównywalnym odsetku rezydujących w tych tkankach limfocytów B IgG⁺ oraz B IgD⁺, w których jednakże podlega on wewnątrzkomórkowej degradacji. Sądzi się, że te limfocyty należą do „wczesnie zawróconych” (ang. „early spin-off”), wywodzących się z MALT, względnie niedojrzałych klonów efektorowych komórek B, „ukierunkowywanych” na syntezę pIgA₁ lub pIgA₂ w procesie stopniowego przełączania klas syntetyzowanych przeciwciał (np. IgM→IgG, a następnie z IgG→IgA). W świetle powyższych faktów spekuluje się zatem, iż preferencyjne „zasiedlanie” MALT migrującymi ze szpiku kostnego komórkami, determinuje bardziej obecność ekspresjonowanego w tych komórkach łańcucha J, aniżeli ich „ukierunkowanie” na syntezę przeciwciał klasy A. Hipotezę tę potwierdza z jednej strony prawidłowy poziom komórek B IgM⁺, B IgD⁺ i B IgG⁺ zasiedlających tkanki pacjentów z izolowanym niedoborem IgA, w których łańcuch J podlega ekspresji, z drugiej zaś znacznie obni-

żony odsetek komórek B IgA⁺ (< 50%) oraz B IgG⁺ (< 10%) z ekspresją tego peptydu, w szpi-

ku kostnym, węzłach limfatycznych i w śledzionie (BRANDTZAEG i współaut. 1999a, b).

FRAGMENT WYDZIELNICZY

Fragment wydzielniczy (SC) jest glikoproteiną (~80 kDa), składająca się z 5 immunoglobulinowo-podobnych domen (D₁-D₅), stabilizowanych jednym (domena D₂) lub dwoma (domeny: D₁, D₃, D₄, D₅) wewnątrzłańcuchowymi mostkami dwusiarczkowymi. W odróżnieniu od cząsteczek IgA oraz łańcucha J, SC jest syntetyzowany przez komórki nabłonkowe układu pokarmowego, oddechowego, moczowo-płciowego oraz przewodów wyprowadzających gruczołów. Umiejscowiony w błonie komórkowej enterocyta od strony błony podstawno-bocznej, stanowi on zewnątrzkomórkową część większej cząsteczki (~100 kDa), określanej jako receptor dla polimerycznych form immunoglobulin (pIgR). Równocześnie może on występować jako składnik wydzielniczych immunoglobulin klasy A i IgM oraz w postaci wolnej, w wydzielinach. Strukturę obu wydzielniczych podklas IgA stabilizuje pojedynczy mostek dwusiarczkowy. W owym wiązaniu uczestniczy Cys⁴⁶⁷, zlokalizowana w D⁵ fragmentu sekrecyjnego oraz znajdująca się w pozycji 311 reszta cysteinowa

jednego z łańcuchów α cząsteczki w IgA₁ lub w IgA₂.

Kluczową rolą fragmentu sekrecyjnego jest transport pIgA oraz pentamerycznej IgM przez nabłonek do wydzielin błon śluzowo-surowicznych, a następnie ochrona tych immunoglobulin przed atakiem enzymów proteolitycznych. Dodatkową rolą SC, obecnego w wydzielinach w postaci wolnej, jest stabilizacja przeciwciał klasy M, które w odróżnieniu od S-IgA₁ i S-IgA₂, cechuje brak kowalencyjnych połączeń z tym fragmentem. Ponadto wolny SC, ograniczając przyleganie do komórek nabłonkowych gospodarza zarówno szczepów *Escherichia coli* wytwarzających enterotoksyny, jak i ich toksycznych produktów, zapobiega chorobotwórczemu działaniu drobnoustrojów. Wykazano również, iż ten fragment w obu formach tj. wolnej oraz kowalencyjnie związanej z pIgA, wiąże jedno z białek błony zewnętrznej pneumokoków (SpsA). Jednakże w tym przypadku ta specyficzna interakcja stanowi istotny czynnik wirulencji *Streptococcus pneumoniae* (NORDERHAUG i współaut. 1999).

POLIMERYZACJA IgA

Unikatową zdolność immunoglobulin klasy A (oraz IgM) do polimeryzacji determinuje obecność 18-aminokwasowego odcinka ogonowego, zlokalizowanego w obszarze C-końcowym łańcuchów α (oraz μ). Ponadto sugeruje się, iż w odróżnieniu od IgM, generowanie form polimerycznych IgA wymaga dodatkowo obecności łańcucha J, który przypuszczalnie indukuje zmiany konformacyjne w domenie CH₃ tej cząsteczki. Obserwacja ta wynika z faktu, iż mutacja reszt cysteinowych w pozycjach 15 i/lub 79 łańcucha J, uniemożliwia powstawanie dimerów IgA (YOO i współaut. 1999). Ponadto, komórki linii CHO (ang. Chinese hamster ovary), komórki roślinne lub komórki owadów, transfekowane genami kodującymi łańcuch lekki oraz łańcuch ciężki immunoglobulin klasy A, są w stanie produkować jedynie monomeryczne formy IgA. Natomiast formy

polimeryczne tej immunoglobuliny są syntetyzowane dopiero w następstwie transfekcji wyżej wymienionych komórek genem kodującym łańcuch J. Skądinąd natomiast wiadomo, że myszy z celowo unieczynnionym genem dla łańcucha J, produkują zarówno monomeryczne, jak i dimeryczne formy IgA, choć stosunek ilościowy syntetyzowanych przez nie dimerów do monomerów jest wyraźnie obniżony (JOHANSEN i współaut. 2000).

Trzecim, jakkolwiek równie ważnym czynnikiem warunkującym proces polimeryzacji immunoglobulin, jest obecność enzymów katalizujących reakcje tworzenia wiązań dwusiarczkowych. Choć ostateczne umiejscowienie tych wiązań w dimerycznej cząsteczce IgA jest tematem sporów, wyniki dotychczasowych badań przechylają szalę na korzyść pierwszego z prezentowanych poniżej modeli

(JOHANSEN i współaut. 2000). W tym modelu (ang. tail-to-tail) pojedynczy łańcuch J łączy wiązaniem dwusiarczkowym odcinki ogonowe dwóch monomerów IgA (J-Cys¹⁵ - α -Cys⁴⁹⁵; J-Cys⁷⁹ - α -Cys⁴⁹⁵), podczas gdy pozostałe dwa łańcuchy α są związane bezpośrednio poprzez cysteiny zlokalizowane na C-końcu (α -Cys⁴⁹⁵ - α -Cys⁴⁹⁵). W modelu alternatywnym łańcuch J tworzy pojedynczy mostek dwusiarczkowy jedynie z jednym z monomerów IgA. Drugie wiązanie dwusiarczkowe powstaje pomiędzy

resztą cysteinową odcinka ogonowego jednego z monomerów a Cys³¹¹ (określaną czasami jako Cys³⁰⁹), zlokalizowaną w domenie CH₂ drugiego monomeru. Z kolei wyniki ostatnich lat wskazują, iż w procesie generowania pIgA, równie ważne jak kowalencyjne interakcje w odcinkach ogonowych, są niekowalencyjne oddziaływania między domenami CH₃ i CH₂ monomerów (YOO i wsp. 1999).

STRUKTURA I FUNKCJA WYDZIELNICZYCH IgA

Większość wydzielniczych immunoglobulin klasy A (S-IgA₁ i S-IgA₂) zawiera dwie monomeryczne jednostki IgA, łańcuch J oraz fragment sekrecyjny, kowalencyjnie związany z łańcuchem α . Syntetyzowane lokalnie przez podnabłonkowe komórki plazmatyczne pIgA, po utworzeniu kompleksu z pIgR, ulegają endocytozie i w procesie określanym terminem transcytozy, są transportowane w endosomach na stronę luminalną nabłonka (NORDERHAUG i współaut. 1999). Chociaż proces transcytozy przebiega stale, nawet w nieobecności pIgA, kowalencyjne przyłączenie tego izotypu do zewnątrzkomórkowego fragmentu pIgR (SC) wzmacnia to zjawisko. Przebieg tego procesu regulują dwa niezależne sygnały (LUTON i MOSTOV 1999). Pierwszym przekąźnikiem jest aktywowana przez kinazy tyrozynowe z rodziny Src-podobnych, fosfolipaza C- γ 1 (PLC- γ 1). Skutkiem tej fosforylacji jest zwiększona produkcja 1,4,5-trifosforanu inozytolu (IP3) oraz diacyloglicerolu (DAG), wzrost poziomu Ca⁺⁺, a w rezultacie aktywacja kinazy białkowej C (PKC). Drugim sygnałem, który wpływa silnie stymulującą na proces transcytozy, jest indukowana przyłączeniem pIgA do pIgR, dimeryzacja tego receptora. Ostatecznie, w wyniku działania wrażliwych na leupeptyny endopeptydaz, do światła narządów uwolniony zostaje

zewnątrzkomórkowy fragment receptora (SC), związany kowalencyjnie z pIgA lub w postaci wolnej. Pozostały 20-kDa segment transbłonowy pIgR ulega internalizacji i degradacji (NORDERHAUG i współaut. 1999). W ten sposób do jelita zdrowego człowieka trafia dziennie ok. 40 mg S-IgA na kilogram wagi ciała, co przekracza całkowitą dobową produkcję immunoglobulin klasy G (~ 34 mg/kg wagi ciała) (CONLEY i DELACROIX 1987).

Biorąc pod uwagę fakty, że powierzchnia błon śluzowych układów pokarmowego, oddechowego i moczowo-płciowego dorosłego człowieka wynosi ponad 400 m², a jednocześnie stanowi ona główną drogę penetracji czynników zakaźnych i potencjalnie szkodliwych, uświadamiamy sobie ogromną rolę dominujących w wydzielinach tych układów, przeciwciał klasy A. Rola obronna S-IgA obejmuje głównie: (1) uniemożliwienie bakteriom kolonizacji nabłonka, poprzez wiązanie struktur bakteryjnych (adhezyny, pili), a tym samym wnikanie w głąb błon śluzowych; (2) neutralizację wirusów; (3) neutralizację enzymów i toksyn produkowanych przez bakterie; (4) wzmocnienie nieswoistych mechanizmów obronnych (system laktoperoksydazy, laktoferyny) (KILIAN i współaut. 1996).

BIOLOGICZNE ZNACZENIE PODKLAS IgA

ROZKŁAD PODKLAS IgA W PŁYNACH USTROJOWYCH I W TKANKACH

Zastosowanie przeciwciał poliklonalnych i monoklonalnych skierowanych przeciw podklasom IgA, pozwoliło oszacować poziom IgA₁ i IgA₂ w różnych płynach ustrojowych. W ludzkiej surowicy od 65% do 95% immunoglobulin

klasy A stanowią monomeryczne IgA₁. Odsetek ten odzwierciedla rozkład komórek plazmatycznych syntetyzujących IgA₁ i IgA₂ w szpiku kostnym, wskazując tym samym, iż większość surowicznych IgA pochodzi z tego źródła. Również w płynie mózgowo-rdzeniowym odnajdywane są głównie IgA₁ (MESTECKY i RUSSELL 1986).

Ponieważ większość, syntetyzowanych lokalnie przez plazmocyty błon śluzowych, immunoglobulin klasy A wykazuje identyczne powinowactwo do pIgR, rozkład komórek produkujących IgA₁ i IgA₂ w tkankach, odzwierciedla wzajemny stosunek obu odmian izotypowych w wydzielinach. Relatywnie duża frakcja efektorowych komórek plazmatycznych wydzielających IgA₂ występuje w błonie śluzowej układu pokarmowego (17-64%) oraz przewodów wyprowadzających ślinianek (36%) i gruczołów sutkowych (40%), w porównaniu z mniejszym ich odsetkiem w śledzionie, węzłach limfatycznych i migdałkach (7%), a także w błonie śluzowej górnego odcinka dróg oddechowych (7-25%). Jednakże, pomimo względnie zwiększonej zawartości procentowej S-IgA₂ w stosunku do S-IgA₁ w wydzielniczej puli przeciwciał tej klasy, komórki syntetyzujące i wydzielające IgA₂, dominują jedynie w błonie śluzowej okrężnicy (~ 64%), podczas gdy w pozostałej części jelita przeważają plazmocyty produkujące IgA₁. Postuluje się, iż charakterystyczny rozkład limfocytów syntetyzujących i wydzielających podklasy IgA w przewodzie pokarmowym, odzwierciedla rozkład antygenów pokarmowych i antygenów bakteryjnych (nie tylko patogennych) penetrujących błonę śluzową tego układu. Wykazano bowiem, iż kwasy lipoteichojoyowe bakterii gramodatnich oraz lipopolisacharyd bakterii gramujemnych poliklonalnie aktywują limfocyty B w kierunku syntezy IgA₂. Z kolei białka (antygeny grasiczo-zależne) powodują wzrost produkcji głównie IgA₁ (BRANDTZAEG i współaut. 1999a, b).

Ideę ukierunkowanego wyboru syntetyzowanego izotypu w odpowiedzi na dany antygen w różnych regionach błon śluzowych, potwierdza rozkład immunoglobulin klasy G. W dystalnej części jelita cienkiego przewlekła stymulacja antygenami bakteryjnymi (wielocukry bakterii otoczkowych i lipopolisacharydy bakterii gramujemnych) prowadzi do sukcesywnego wzrostu syntezy przeciwciał w podklasie IgG₂, podczas gdy antygeny białkowe generują odpowiedź w podklasach IgG₁ (i IgG₃) (BRANDTZEG 1992). Geny Cα2 i Cγ2 są zlokalizowane na jednym, zaś Cα1, Cγ1 i Cγ3 na drugim zduplikowanym odcinku DNA, a zatem mogą podlegać podobnej regulacji izotypu produkowanych przeciwciał. Istnieje możliwość, że rolę regulacyjną przejęły tu same bakterie. Większość szczepów kolonizujących górne drogi oddechowe tj. *Haemophilus influe-*

nzae i *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* poprzez wytwarzane białko D, wykazuje powinowactwo do niepolimorficznych domen cząsteczek MHC klasy I i powierzchniowych IgD, obecnych na limfocytach B (RUAN i współaut. 1990). Sugeruje się, że w wyniku tej

	Reszta	IgA ₁	IgA ₂		
			A _{2m} (1)	A _{2m} (2)	A ₂ (n)
CH ₁	133	Cys	Asp	Asp	Asp
	136	Gln	Pro	Pro	Pro
	137	Pro	Gln	Gln	Gln
	143	Ile	Val	Val	Val
	166	Gly	Asn - ■	Asn - ■	Asn - ■
	197	Leu	Pro	Pro	Pro
	198	Ala	Asp	Asp	Asp
	211	Asn	Asn	Asn - ■	Asn - ■
	212	Pro	Pro	Ser	Ser
	220	Cys	Cys	Cys	Cys
	221	Pro	Pro	Arg	Arg
	223	Pro			
	224	Ser			
	225	Thr - □			
226	Pro				
227	Pro				
228	Thr - □				
229	Pro				
Region zawiązowy	230	Ser - □		DELEKJA	
	231	Pro			
	232	Ser - □			
	233	Thr			
	234	Pro			
	235	Pro			
	236	Thr - □	Pro	Pro	Pro
	238	Ser	Pro	Pro	Pro
	239	Pro	Pro	Pro	Pro
	240	Ser	Pro	Pro	Pro
	263	Asn - ■	Asn - ■	Asn - ■	Asn - ■
CH ₂	277	Val	Ala	Ala	Ala
	319	Lys	Gln	Gln	Gln
	327	Tyr	His	His	His
	330	Ser	Leu	Leu	Leu
	337	Thr	Asn - ■	Asn - ■	Asn - ■
	338	Leu	Ile	Ile	Ile
	339	Ser	Thr	Thr	Thr
CH ₃	411	Phe	Phe	Tyr	Phe
	428	Asp	Asp	Gln	Asp
	438	Val	Val	Ile	Val
	439	Asn - ■	Asn - ■	Asn - ■	Asn - ■
	467	Val	Val	Ala	Val

Ryc. 2. Różnice strukturalne w obrębie domen CH₁, CH₂ i CH₃ części stałej łańcucha ciężkiego (α) oraz regionu zawiązowego, w cząsteczce IgA₁ oraz w odmianach allotypowych IgA₂.

Podane cyfry przedstawiają pozycje reszt aminokwasowych w łańcuchu α1 i odpowiadające im substytucje aminokwasowe w łańcuchach α2m(1), α2m(2) i α2(n). (■) – łańcuchy cukrowe połączone z resztą asparaginy (wiązanie N-glikozydowe); (□) – oligosacharydy przyłączone za pomocą wiązań O-glikozydowych.

interakcji dochodzi do generowania miejscowej odpowiedzi immunologicznej w podklasie IgA₁, podczas gdy lipopolisacharyd, bytujący w dystalnej części układu pokarmowego bakterii gramujemnych, poprzez supresję ekspresji IgD, kieruje zmianę izotypu w kierunku IgA₂ (BRANDTZEG 1992). Zatem względnie wyższy poziom polimerycznej IgA₂ w wydzieli-

nach można uznać za mechanizm przeciwwstawiania się wirulencji potencjalnie chorobotwórczych bakterii, kolonizujących błony śluzowe i wytwarzających proteazy trawiące IgA₁ (KILIAN i współaut. 1996).

Do czynników determinujących ukierunkowany wybór syntetyzowanej podklasy IgA, oprócz struktury chemicznej antygeny, należą również: miejsce indukcji oraz charakter odpowiedzi immunologicznej (pierwotna czy wtórna), a także wiek osoby immunizowanej (KILIAN i współaut. 1996). Badania ostatnich lat wykazały, iż podanie kobiecie ciężarnej izolowanych wielocukrów otoczki *Haemophilus*

influenzae typu b, połączonych z nośnikiem białkowym, powoduje pojawienie się we krwi noworodka swoistych przeciwciał w podklasie IgA₁ (i IgG₁), chroniących go przed zachorowaniem. Również IgA₁ dominuje zarówno w surowicy, jak i w ślinie małych dzieci poddanych trzykrotnej immunizacji tym antygenem, chociaż po pierwszej dawce synteza przeciwciał ochronnych w tej podklasie kształtowała się na poziomie syntezy IgA₂ (KAUPPI-KORKEILA i współaut. 1998). Natomiast zarówno u dzieci starszych, jak i u osób dorosłych te same patogeny otoczkowe generują odpowiedź głównie w podklasie IgA₂ (LUE i współaut. 1988).

FUNKCJONALNE RÓŻNICE POMIĘDZY PODKLASAMI IgA

Podstawową różnicą strukturalną pomiędzy IgA₁ a IgA₂ jest skrócony region zawiasowy cząsteczki w IgA₂. Ten niewielki wydawałoby się ubytek, stanowiący zaledwie ok. 4% całkowitej liczby aminokwasów, ma niezwykle istotne biologicznie znaczenie. Brak 13 aminokwasów w regionie zawiasowym IgA₂, zapobiega bowiem inaktywacji tej podklasy przez liczne ludzkie patogeny (między innymi *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoea*, *Haemophilus influenzae*), które w trakcie ewolucji wykształciły zdolność rozszczepiana rzadkich skądinąd połączeń prolylowo-serynowych (proteazy typu I) i prolylowo-treonylowych (proteazy typu II) tego regionu. Jedynie proteinaza wytwarzana przez *Clostridium ramosum*, rozszczepiając wiązanie prolylowo-walinowe, zlokalizowane przed regionem zawiasowym, inaktywuje zarówno IgA₁, jak i alotyp IgA₂m(1) (Ryc. 3), (KILIAN i współaut. 1996). Po rozszczepieniu IgA₁ (lub S-IgA₁) na fragmenty Fab oraz fragment Fc (lub Fc₂×SC), przeciwciała tracą właściwości aglutynacyjne oraz zdolność do wiązania receptorów obecnych na powierzchni komórek bakteryjnych (BRANDTZAEG 1996). Zatem wadliwe funkcjonowanie obecnych w wydzielinach przeciwciał klasy A, z pewnością ułatwia przełamywanie lokalnych barier, co jest zazwyczaj wstępem do zakażenia i rozwoju choroby.

Biorąc pod uwagę fakt, że bakterie wytwarzające proteazy trawiące IgA₁ kolonizują głównie błony śluzowe układu oddechowego, szczególnie obficie zasiedlone przez plazmocyty syntetyzujące tę podklasę sugeruje się, że mogą one stanowić istotny czynnik miejscowego niedoboru przeciwciał klasy A. Te same patog-

eny, nie dość że inaktywują S-IgA₁, to dodatkowo otaczając się „płaszczem” złożonym z fragmentów Fab, wymykają się spod kontroli immunologicznej organizmu. Owe reagujące krzyżowo z antygenami mikroorganizmów chorobotwórczych fragmenty Fab, pochodzą z przeciwciał S-IgA₁ powstających prawdopodobnie na skutek immunizacji organizmu bakteriami wchodzącymi w skład naturalnej mikroflory (BRANDTZAEG 1992, 1995a). Zgodnie z koncepcją KILIANA i współaut. (1988) obecność przeciwciał maskujących antygeny powierzchniowe patogennych bakterii syntetyzujących proteazy rozszczepiające IgA₁, determinuje podatność niektórych osób, w tym z zaburzoną syntezą IgA, na zakażenia.

Drugą, zasadniczą różnicą warunkującą odmienną funkcjonalną aktywność obu podklas IgA jest sposób glikozylacji łańcuchów α . Obecność dwóch dodatkowych miejsc N-glikozylacji (Asn¹⁶⁶, Asn³³⁷) w podklasie IgA₂, a nie jak wcześniej sądzono, terminalnych reszt galaktozylo-(β 1-3)-N-acetylgalaktozaminy w O-związanych łańcuchach cukrowych w IgA₁, determinuje powinowactwo podklas IgA do ekspresjonowanego na komórkach wątroby receptora asjaloglikoproteinowego (ASGP-R) (RIFAI i współaut. 2000). Efektem zwiększonego powinowactwa IgA₂ do receptora ASGP-R jest szybszy katabolizm tej podklasy, co odzwierciedla krótszy ($t_{1/2} = 4,5$ d) w porównaniu z IgA₁ ($t_{1/2} = 5,9$ d) okres półtrwania IgA₂ w krążeniu. Sugeruje się, że tempo metabolizmu obu odmian izotypowych IgA wyjaśnia, przynajmniej częściowo, ich odmienny rozkład we krwi obwodowej. Ponadto, dysfunkcja tego receptora jak również modyfikacje w strukturze N-glikanów,

mogą być przyczyną podwyższonego surowiczego poziomu IgA w chorobach wątroby i nefropatii IgA.

Ważną funkcją obecnych w wydzielinach immunoglobulin klasy A jest nieswoista ochrona błon śluzowych przed zakażeniami bakteryjnymi. Przyłączone do łańcuchów $\alpha 2$ cukrowce,

również jej powinowactwo do receptorów limfocytów T (TCR) (RUDD i współaut. 1994), jak również wspomnianą wcześniej T-kształtną strukturę tej podklasy (MATTU i współaut. 1998). Zwiększona o blisko 10 nm odległość, między dwoma końcami ramion Fab w cząsteczce IgA₁ (BOEHM i współaut. 1999), za-

	Reszta	$\alpha 1$	$\alpha 2m(1)$
<i>Clostridium ramosum</i>	221	Pro	Pro
	222	Val	Val
<i>Bacillus melaninogenicus</i>	223	Pro	-
<i>Capnocytophaga</i> sp.	224	Ser	-
<i>Prevotella</i> sp.	225	Thr - □	-
	226	Pro	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	227	Pro	-
<i>Streptococcus sanguis</i>	228	Thr - □	-
<i>Streptococcus oralis</i>	229	Pro	-
<i>Streptococcus mitis</i>	230	Ser - □	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	231	Pro	-
<i>Haemophilus aegyptius</i>	232	Ser - □	-
	233	Thr	-
	234	Pro	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	235	Pro	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	236	Thr - □	Pro
<i>Haemophilus influenzae</i>	237	Pro	Pro
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	238	Ser	Pro
<i>Neisseria meningitidis</i>	239	Pro	Pro
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	240	Ser	Pro

Ryc. 3. Region zawiasowy cząsteczki w IgA₁ i IgA₂m(1).

Podane cyfry przedstawiają pozycje reszt aminokwasowych w łańcuchu $\alpha 1$ i odpowiadające im substytucje aminokwasowe w łańcuchu $\alpha 2m(1)$. Strzałki wskazują miejsca działania proteaz bakteryjnych.

zawierające reszty mannozowe, mogą być rozpoznawane i internalizowane przez receptory o charakterze lektyn, które występują na fimbriach typu I wielu, kolonizujących błony śluzowe (głównie pochwy i okrężnicy), gramujemnych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Efektem zablokowania tych receptorów jest inhibicja procesu adhezji bakterii do komórek nabłonkowych gospodarza, a tym samym osłabienie ich wirulencji. Z kolei zarówno niższa zawartość komponenty cukrowej w cząsteczkach S-IgA₁ w porównaniu z S-IgA₂, jak i specyfika ich glikozylacji sprawia, że cząsteczki tej podklasy reagują z lektynami galaktozo-specyficznymi (RAJAN i współaut. 1999).

Odmianą funkcjonalną aktywność IgA₁ determinują również oligocukry połączone O-glikozydowo z resztami serynowymi lub treoninowymi łańcuchów $\alpha 1$. Ich obecność w regionie zawiasowym cząsteczki determinuje za-

pewnia tym cząsteczkom większą „elastyczność”, umożliwiając wiązanie różnie ustawionych w przestrzeni antygenów, a tym samym zwiększa skuteczność tej podklasy w procesie eliminacji obcych patogenów, w porównaniu z przeciwciałami IgA₂ (NORDERHAUG i współaut. 1999).

Interesujące okazało się porównanie wpływu podklas IgA na biologiczną funkcję komórek NK (ang. natural killers) oraz eozynofili. Z badań przeprowadzonych przez KOMIYAMA i współaut. (1986) wynika, że pIgA₂ oraz obecne w wydzielinach S-IgA₁ i S-IgA₂ (w sposób zależny od stężenia) preferencyjnie hamują aktywność komórek NK, testowaną na docelowych komórkach K563. Natomiast aktywność obu podklas w procesie degranulacji eozynofili była porównywalna (ABU-GHAZALEH i współaut. 1989).

THE STRUCTURE AND FUNCTION OF HUMAN IgA SUBCLASSES

S u m m a r y

An unusual structural feature of human immunoglobulin A (IgA) is the heterogeneity of the molecular forms, with a characteristic distribution in various body fluids. Serum IgA is largely monomeric, but in external secretions it exists as S-IgA – a dimer consisting of two IgA molecules bound together by J chain and attached to secretory piece (SC). Both in serum and secretions IgA occurs in two isotypic forms, IgA₁ and IgA₂. IgA₂ exists as two known allotypes, namely IgA₂m(1) and IgA₂m(2), with a form IgA₂(n) possibly representing a third allotype. The major difference between the IgA subclasses is an absence of 13-amino acid segment in the hinge region of IgA₂ that is found in IgA₁ molecules. This truncated hinge region in IgA₂ molecules renders them resistant to at least two families of IgA₁-specific bacterial proteases, which presumably is advantageous to IgA₂ antibody function at mucosal surfaces. Further and profound structural difference between the $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains concerns the

distribution and composition of the oligosaccharide side chains. The IgA₁ contains two N-linked glycosylation sites (Asn²⁶³ in the CH₂ domain and Asn⁴⁵⁹ in the tail piece) as well as nine potential O-linked glycosylation sites in the hinge region. All three IgA₂ variants lack these O-linked sugars, but they have two extra N-linked glycosylation sites (Asn¹⁶⁶ in the CH₁ and Asn³³⁷ in the CH₂). The IgA₂m(2) and IgA₂(n) allotypes have a fifth potential N-linked side in the CH₁ (Asn²¹¹) domain. The variations in the glycosylation structure of the different form of IgA play a significant role in determining antibodies conformation and assembly, receptors (TCR, ASGP-R) binding and t_{1/2}. Here we review current knowledge concerning the relationship of the structure of human IgA₁ to the IgA₂ isotype, the polymeric IgA and secretory IgA structures, and IgA function.

LITERATURA

- ABU-GHAZALEH R. I., FUJISAWA T., MESTECKY J., KYLE R. A., GLEICH G. J., 1989. *IgA-induced eosinophil degranulation*. J. Immunol. 142, 2393–2400.
- BOEHM M. K., WOOLF J. M., KERR M. A., PERKINS S. J., 1999. *The Fab and Fc fragments of IgA1 exhibit a different arrangement from that in IgG: a study by X-ray and neutron solution scattering and homology modelling*. J. Mol. Biol. 286, 1421–1447.
- BRANDTZAEG P., 1992. *Humoral immune response patterns of human mucosae: induction and relation to bacterial respiratory tract infections*. J. Infect. Dis. 165 (Suppl. 1), S167–S176.
- BRANDTZAEG P., 1995a. *The role of humoral mucosal immunity in the induction and maintenance of chronic airway infections*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 151, 2081–2087.
- BRANDTZAEG P., 1995b. *Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system*. APMIS 103, 1–19.
- BRANDTZAEG P., BAEKKEVOLD E. S., FARSTAD I. N., JAHNSEN F. L., JOHANSEN F. -E., NILSEN E. M., YAMANAKA T., 1999a. *Regional specialization in the mucosal immune system: what happens in the microcompartments*. Immunol. Today 20, 141–151.
- BRANDTZAEG P., FARSTAD I. N., JOHANSEN F. -E., MORTON H. C., NORDERHAUG I. N., YAMANAKA T., 1999b. *The B-cell system of human mucosae and exocrine glands*. Immunol. Rev. 171, 45–87.
- CHINTALACHARUWU K. R., RAINES M., MORRISON S. L., 1994. *Divergence of human α -chain constant region gene sequences. A novel recombinant $\alpha 2$ gene*. J. Immunol. 152, 5299–5304.
- CHINTALACHARUWU K. R., MORRISON S. L., 1996. *Residues critical for H-L disulfide bond formation in human IgA1 and IgA2*. J. Immunol. 157, 3443–3449.
- CONLEY M. E., DELACROIX D. L., 1987. *Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defense?* Ann. Intern. Med. 106, 892–899.
- ENDO T., MESTECKY J., KULHAVY R., KOBATA A., 1994. *Carbohydrate heterogeneity of human myeloma proteins of the IgA1 and IgA2 subclasses*. Mol. Immunol. 31, 1415–1422.
- FEEHALLY J., ALLEN A. C., 1999. *Pathogenesis of IgA nephropathy*. Ann. Med. Intern. 150, 91–98.
- FIELD M. C., AMATAYAKUL-CHANTLER S., RADEMACHER T. W., RUDD P. M., DWEK R. A., 1994. *Structural analysis of the N-glicans from human immunoglobulin A1: comparison of normal human serum immunoglobulin A1 with that isolated from patients with rheumatoid arthritis*. Biochem. J. 299, 261–275.
- FLANAGAN J. G., LEFRANC M. P., RABBITTS T. H., 1984. *Mechanisms of divergence and convergence of the human immunoglobulin $\alpha 1$ and $\alpha 2$ constant region gene sequences*. Cell 36, 681–688.
- HEXHAM J. M., CARAYANNOPOULOS L., CAPRA J. D., 1997. *Structure and function IgA*. Chem. Immunol. 65, 73–87.
- JOHANSEN F.-E., BRAATHEN R., BRANDTZAEG P., 2000. *Role of J chain in secretory immunoglobulin formation*. Scand. J. Immunol. 52, 240–248.
- KAUPPI-KORKEILA M., SAARINEN L., ESKOLA J., KÄYHTY H., 1998. *Subclass distribution of IgA antibodies in saliva and serum after immunization with Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines*. Clin. Exp. Immunol. 111, 237–242.
- KĄTNIK-PRASTOWSKA I., FERENC-SIECZKOWSKA M., 1999. *Diagnostyczne perspektywy określania zmian w glikozylacji białek*. Diagn. Lab. 35, 339–350.
- KERR M. A., 1990. *The structure and function of human IgA*. Biochem. J. 271, 285–296.
- KILIAN M., MESTECKY J., RUSSELL M. W., 1988. *Defense mechanisms involving Fc-dependent functions of*

- immunoglobulin A and their subversion by bacterial immunoglobulin A proteases.* Microbiol. Rev. 52, 296–303.
- KILIAN M., REINHOLDT J., LOMHOLT H., POULSEN K., FRANDSEN E. V. G., 1996. *Biological significance of IgA1 proteases in bacterial colonization and pathogenesis: critical evaluation of experimental evidence.* APMIS 104, 321–338.
- KOMIYAMA K., CRAGO S.S., ITOH K., MORO I., MESTECKY J., 1986. *Inhibition of natural killer cell activity by IgA.* Cell. Immunol. 101, 143–155.
- LOGHEM E. VAN, BIEWENGA J., 1983. *Allotypic and isotypic aspects of human immunoglobulin A.* Mol. Immunol. 20, 1001–1007.
- LUE C., TARKOWSKI A., MESTECKY J., 1988. *Systemic immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine induces a predominant IgA2 response of peripheral blood lymphocytes and increases of both serum and secretory anti-pneumococcal antibodies.* J. Immunol. 140, 3793–3800.
- LUTON F., MOSTOV K. E., 1999. *Transduction of basolateral-to-apical signals across epithelial cells: ligand-stimulated transcytosis of the polymeric immunoglobulin receptors requires two signals.* Mol. Biol. Cell 10, 1409–1427.
- MATTU T. S., PLEASS R. J., WILLIS A. C., KILIAN M., WORMALD M. R., LELLOUCH A. C., RUDD P. M., WOOF J. M., DWEK R. A., 1998. *The glycosylation and structure of human serum IgA1, Fab, and Fc regions and the role of N-glycosylation on Fc alpha receptor interactions.* J. Biol. Chem. 273, 2260–2272.
- MESTECKY J., RUSSELL M. W., 1986. *IgA subclasses.* Monogr. Allergy 19, 277–301.
- MESTECKY J., MCGHEE J. R., 1987. *Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response.* Adv. Immunol. 40, 153–245.
- NORDERHAUG I. N., JOHANSEN F. -E., SCHJERVEN H., BRANDTZAEG P., 1999. *Regulation of the formation and external transport of secretory immunoglobulins.* Crit. Rev. Immunol. 19, 481–508.
- RAJAN N., CAO Q., ANDERSON B. E., PRUDEN D. L., SENSIBAR J., DUNCAN J. L., SCHAEFFER A. J., 1999. *Roles of glycoproteins and oligosaccharides found in human vaginal fluid in bacterial adherence.* Infect. Immun. 67, 5027–5032.
- RIFAI A., FADDEN K., MORRISON S. L., CHINTALACHARUVU K. R., 2000. *The N-glycans determine the differential blood clearance and hepatic uptake of human immunoglobulin (Ig)A1 and IgA2 isotypes.* J. Exp. Med. 191, 2171–2181.
- RUAN M., AKKOYUNLU M., GRUBB A., FORSGREN A., 1990. *Protein D of Haemophilus influenzae. A novel bacterial surface protein with affinity for human IgD.* J. Immunol. 145, 3379–3384.
- RUDD P. M., FORTUNE F., PATEL P., PAREKH R. B., DWEK R. A., LEHNER T., 1994. *A human T-cell receptor recognizes O-linked sugars from the hinge region of human IgA1 and IgD.* Immunology 83, 99–106.
- TANAKA A., IWASE H., HIKI Y., KOKUBO T., ISHII-KARAKASA I., TOMA K., KOBAYASHI Y., HOTTA K., 1998. *Evidence for a site-specific fucosylation of N-linked oligosaccharide of immunoglobulin A1 from normal human serum.* Glycoconj. J. 15, 995–1000.
- YOO E. M., COLOMA M. J., TRINH K. R., NGUYEN T. Q., VUONG L. -U. C., MORRISON S. L., CHINTALACHARUVU K. R., 1999. *Structural requirements for polymeric immunoglobulin assembly and association with J chain.* J. Biol. Chem. 274, 33771–33777.