

# L'immunoglobulina A (IgA) ed i suoi recettori cellulari nella nefropatia a depositi IgA: recenti conoscenze e nuove ipotesi patogenetiche

A. Amore<sup>1</sup>, R. Monteiro<sup>2</sup>, R. Coppo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> S.C. Nefrologia Dialisi Trapianto, Indirizzo di Nefrologia Pediatrica, Scuola di Pediatria, Università di Torino, Ospedale Regina Margherita, Torino

<sup>2</sup> INSERM U699, Bichat Medical School, Paris - France

## Immunoglobulin A (IgA) and its cellular receptors: recent advances and new pathogenetical hypothesis

Researchers have always been focusing their interest on IgA nephropathy, a nephropathy named after a class of immunoglobulin, and on circulating IgA in these patients. However, serum level studies conducted on IgA and IgA containing immune complexes have not fulfilled the expectations of providing useful tools for diagnosis and prognosis of this renal disease. Over recent years interest has grown on qualitative properties of IgA, particularly IgA1, the mostly represented subclass in renal deposits. The sugar composition of the short carbohydrate chains characteristic of the IgA1 hinge region has been thoroughly investigated, and a defective glycosylation of serum IgA1 in IgAN patients was detected with increase in desialylated and degalactosylated carbohydrate chains, and exposure of internal N-acetylgalactosamine residues. These aberrantly glycosylated IgA1 have the properties of self-aggregation, auto-antibody enhancement with IgA1/IgG immunocomplexes formation, and activation of complement and nuclear transcription factors such as NF- $\kappa$ B. Among others, aberrantly glycosylated IgA1 react with FC $\alpha$ RI receptor on peripheral lymphomonocytes and, after shedding, the complex is released in form of macromolecular IgA.

At mesangial level the nephrotoxicity of aberrantly glycosylated IgA1 seems to be mediated by the transferrin receptor (TfR) binding, selectively expressed on mesangial cells.

This report aims at reviewing the most recent knowledge on IgA synthesis alterations and the subsequent biological effects on the pathogenesis of this nephritis so widespread in Europe. (*G Ital Nefrol* 2006; 23: 313-22)

**KEY WORDS:** IgA nephropathy, IgA1 Glycosylation, IgA receptors, FC $\alpha$ RI, TfR, Mesangial cells

**PAROLE CHIAVE:** Nefropatia IgA, Glicosilazione IgA1, Recettori IgA, FC $\alpha$ RI, TfR, Cellule mesangiali

## Commento Editoriale

Negli ultimi decenni gli studi sulla nefropatia a depositi di IgA hanno focalizzato l'interesse su due aspetti rilevanti: la anomalia della glicosilazione delle molecole di IgA circolanti (per un difetto genetico o per effetto di momenti infiammatori) e le caratteristiche dei recettori delle IgA sulle cellule circolanti e sulle cellule mesangiali.

La rassegna rivede questa tematica senza entrare in dettagli biochimici o di scienza di base troppo "esasperati",

ma riesaminando con sintesi e semplicità quanto la ricerca dell'ultimo decennio ha offerto all'aggiornamento del Nefrologo.

## Introduzione

Una nefrite che prende nome dai depositi di una classe di immunoglobuline - la nefropatia a depositi IgA (IgAN) come l'aveva descritta Berger agli albori degli studi di

immunofluorescenza sul tessuto biotico renale - ha da sempre indotto i ricercatori a indagare processi immuni caratterizzati dall'attivazione di questa via, piuttosto collaterale alla immunologia nota ai Nefrologi. Le IgA sono riconosciute come prevalente espressione dell'immunità mucosa e non di quella sistemica, rappresentando la prima linea difensiva nei confronti di patogeni inalati o ingeriti. È anche noto che le IgA tendono ad attivare poco il complemento e non sono così flogogene come le IgG. Tuttavia i depositi mesangiali della IgAN, che hanno in immunofluorescenza ed in microscopia elettronica aspetti tipici dei depositi immuni, attivano il complemento e le cellule residenti renali, richiamano linfomonociti infiltranti ed innescano reazioni di flogosi e di progressiva sclerosi glomerulare nella maggioranza dei pazienti in un arco di tempo variabile da mesi a decenni (1).

La formazione dei depositi è stata inizialmente considerata secondaria ad un accumulo passivo di immunocomplessi circolanti a costituzione IgA (IgAIC), tuttavia non sono mai stati identificati con certezza specifici antigeni alimentari o virali negli IgAIC circolanti e nei depositi renali. In questi ultimi anni l'attenzione dei ricercatori si è focalizzata piuttosto che sulla quantità di materiale immune circolante contenente IgA, sulle caratteristiche qualitative delle IgA1, la sottoclasse presente nei depositi, particolarmente sulla composizione della sua componente carboidratica. Di interesse emergente il ruolo di vari tipi di recettori per le IgA, quali FC $\alpha$ RI, presente su linfomonociti periferici e che può essere rilasciato dalla superficie cellulare dopo legame alle IgA sieriche con formazione di macromolecole circolanti e il recettore per la transferrina, TfR, rappresentato selettivamente sulle cellule mesangiali, entrambi attivati particolarmente da IgA1 con alterata glicosilazione.

## Sistema immune IgA

Nell'uomo, il sistema immune IgA è costituito da due compartimenti: il tessuto linfo-epiteliale associato alle mucose (MALT) ed il midollo osseo (2). La produzione totale di IgA risulta maggiore di qualunque altra classe di immunoglobuline (Ig), ma per lo più le IgA non entrano in circolo e sono secrete nei fluidi mucosali.

Come le altre Ig, le IgA presentano una struttura tetrameric, costituita da due catene leggere identiche ( $\kappa$  o  $\lambda$ ) e due catene pesanti specifiche ( $\alpha$ ). Sebbene le IgA sembrino condividere le stesse funzioni in differenti specie, sono stati descritti geni, allotipi e forme molecolari di questa immunoglobulina diversi. Nell'uomo, e nei primati in genere, sono stati identificati due geni codificanti per le regioni costanti pesanti C ( $\alpha$ ) responsabili della sintesi delle due sottoclassi IgA1 e IgA2, mentre in molte altre specie, tra cui il ratto, è presente solo un gene codificante per la catena pesante A ( $\alpha$ ). Le due sottoclassi di IgA riscontrabili nell'uomo e nei primati sono generate da una duplicazione

dello stesso gene, di cui sono state descritte molte varianti alleliche e polimorfiche. La maggiore differenza tra le IgA1 e le IgA2 è la presenza nelle molecole di IgA1 di una lunga inserzione di 18 aminoacidi nella regione cerniera (*hinge region*) posta tra le due catene Fab ed il frammento Fc (3). È stato ipotizzato che durante l'ontogenesi, le isoforme di IgA con allungamento della *hinge region* fossero state favorite per il facilitato riconoscimento antigenico di una IgA tanto grande da avere una maggiore avidità bivalente (Fab) nell'interazione con antigeni di grandi dimensioni. Tuttavia, la presenza di questa lunga inserzione di aminoacidi nella regione cerniera espone la molecola di IgA ai possibili attacchi proteolitici da parte di agenti batterici, quali *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ed *Hemophilus influenzae*. Questi microrganismi hanno sviluppato enzimi specifici capaci di agire sulla sequenza aminoacidica della regione cerniera delle IgA1, inducendone quindi una rapida degradazione che ne annulla l'effetto di difesa contro l'infezione dei siti mucosi interessati.

Le IgA circolanti sono quasi esclusivamente prodotte nel midollo osseo e costituite per il 79-88% da IgA1 e per il 12-21% da IgA2, con un rapporto  $\kappa/\lambda$  variabile da 1.3 a 1.55. Le IgA circolanti sono per lo più presenti in forma monomerica e in minima quota (10% o meno) in forma IgA dimerica (dIgA), costituita da due monomeri uniti per il tratto Fc dalla catena proteica di giunzione (J) (3). In circolo sono presenti macromolecole di IgA, aggregati formati da interazioni elettriche o autoanticorpali, IgA presenti in immunocomplessi o IgA legate per interazioni glucidiche ad altre proteine (es. fibronectina).

Le IgA presenti nelle secrezioni mucose, o IgA secretorie, sono prodotte dalle plasmacellule della sottomucosa e sono per lo più dimeriche, contenendo la catena di giunzione J e mostrano una prevalenza delle IgA2 sulle IgA1. A livello delle mucose le dIgA si legano a specifici recettori presenti sulla superficie basolaterale dell'epitelio, denominati pIgR. Il complesso dIgA-pIgR va incontro ad un processo di internalizzazione nella cellula epiteliale ed è quindi rilasciato nelle secrezioni mucose sotto forma di un complesso covalente costituito dalle dIgA e dal frammento pIgR (detto anche componente secretorio o SC): si formano così le SC-IgA che rappresentano il 90% delle IgA presenti nelle secrezioni mucose, mentre sono rilevabili solo in tracce minime nel sangue circolante (3).

## Livelli sierici di IgA ed immunocomplessi IgA

Circa il 50% dei pazienti affetti da IgAN presentano elevati livelli di IgA circolanti, per il 90% costituite da IgA1, che risultano quindi aumentate in entità assoluta, con prevalenza delle catene leggere  $\lambda$ . Questo aumento sembra dovuto ad una combinazione di aumentata sintesi e ridotto catabolismo epatico. Anche se un aumento delle IgA è spesso suggestivo di una diagnosi di IgAN, il valore dia-

gnostico di questo riscontro non è specifico in una diagnostica differenziale con mieloma IgA, cirrosi epatica, dermatite erpetiforme, morbo celiaco, malattie autoimmuni di vario tipo. Anche il valore prognostico sulla predizione del decorso futuro non raggiunge un livello di significatività adeguato. Pertanto, pur essendo spesso un elemento laboratoristico noto, il valore clinico del riscontro di livelli di IgA non è rilevante per i pazienti con IgAN (4).

Molte IgA sono in forma macromolecolare, IgAIC elevati sono rilevabili in una percentuale di pazienti variabile dal 30 al 70% (utilizzando differenti metodiche quali il test delle conglutinine o dell'anti-C3 in fase solida). Anche se molti studi hanno rilevato elevati livelli di IgA1 ed IgAIC durante le fasi di attività clinica, gli IgAIC non sono mai stati riscontrati nella totalità dei casi.

Un aumento di IgA dirette contro antigeni alimentari o delle vie respiratorie è stato osservato nel 20-30% dei casi ma senza correlazione con la clinica e con i livelli di immunocomplessi IgA (IgAIC) (citato in 1). Tuttavia l'aumento dei livelli sierici di IgA1 e di IgAIC da soli non sono considerati responsabili della formazione di depositi mesangiali. Infatti nei casi di mieloma IgA1 e in corso di AIDS, malattie caratterizzate da elevati livelli sierici di IgA1 e IgAIC, la presenza di depositi mesangiali di IgA è estremamente rara. Vari studi hanno rilevato attività simil-autoanticorpale con valori elevati di IgA dirette contro antigeni mesangiali, endoteliali e di componenti della matrice mesangiale. I nostri due gruppi avevano ipotizzato che queste IgA reagenti con una così vasta gamma di target, piuttosto che essere espressione di vera attività antigene-anticorpo, fossero espressione di una reattività di altra natura, tipo affinità elettrica (4) o basata sulle interazioni di tipo carboidratico lectino-simile (5).

## Test di verifica

### 1) I livelli di IgA ed immunocomplessi IgA (IgAIC) possono indirizzare verso la diagnosi di IgAN ed evitare la biopsia renale?

- IgA elevate e IgAIC positivi sono sempre patogenetici nello sviluppo della glomerulonefrite a depositi IgA, e permettono la diagnosi di IgAN
- I livelli sierici di IgA e di IgAIC sono elevati anche in altre patologie e possono non essere patogenetici, ma permettono la diagnosi di IgAN senza la biopsia renale
- IgA elevate e IgAIC positivi non permettono la diagnosi di IgAN senza la biopsia renale
- Se le IgA sono normali è esclusa la diagnosi di IgAN
- Se gli IgAIC sono normali è esclusa la diagnosi di IgAN.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

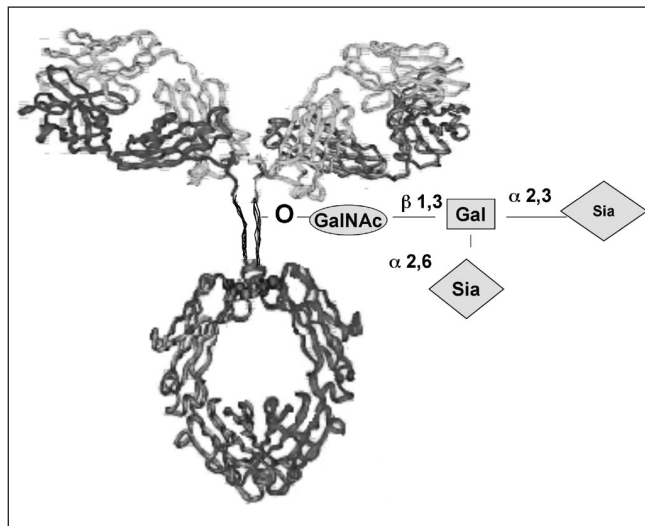


Fig. 1 - Struttura della molecola di IgA1.

## O-glicosilazione delle IgA1

La maggior parte delle proteine in circolo sono glicoproteine. I radicali glucidici si legano alle proteine con un legame N- (legati a residui di asparagina) o legame O- (legati a radicali di serina o treonina). Le IgA1 sono fra le rare proteine sieriche che presentano radicali glucidici con legame di tipo O-. (2, 3) nella lunga inserzione di 18 aminoacidi nella regione cerniera. I potenziali siti di O-glicosilazione sono nove (5 radicali di serina e 4 di treonina), e questo rende ragione della grande varietà nel numero di catene carboidratiche legate alla *hinge region* delle IgA1. La struttura fondamentale dei radicali glucidici con legame O- è il legame tra l'atomo di carbonio α-anomerico di un radicale di N-acetilgalattosammina (GalNAc) e i gruppi idrossilici di serina o treonina. I residui di GalNAc possono essere estesi da galattosio legato in posizione β 1,3 (Galβ 1,3 GalNAc), ricoperti a loro volta da residui di acido sialico (Neu5Ac) in posizione α 2,6 e/o α 2,3 (Fig. 1). Esiste quindi un'ampia varietà di strutture O-glicaniche nella regione cerniera delle IgA1 e ogni molecola di IgA1 può presentare da 1 a 4 catene carboidratiche con variabile entità di galattosilazione e di sialilazione. Recenti studi individuano come sedi di legame più frequenti le treonine 228 e le serine 230 e 232, mentre i siti treonina 225 e 236 sono solo parzialmente occupati da carboidrati O-linked.

Noi avevamo osservato che le IgA1 sieriche di pazienti affetti da IgAN si legavano con estensione variabile a numerose molecole, quali antigeni alimentari e componenti della matrice mesangiale e che questo legame era basato, più che ad una specificità antigenica, su un'interazione carboidratica, di tipo lectino (1, 6). Diversi Autori, compreso il nostro Gruppo, hanno dimostrato anomalie nella composizione della catena carboidratica delle IgA1, con ridotta pre-

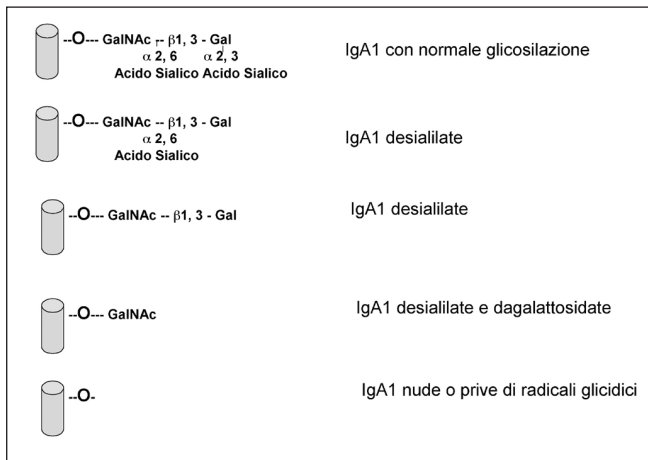


Fig. 2 - Componente carboidratica della molecola IgA1.

senza di galattosio e/o di acido sialico ed aumentata esposizione di radicali di GalNAc. La carenza di radicali di galattosio è stata studiata mediante legame a specifiche lectine dotate di alta affinità per radicali di GalNAc lasciati esposti (7) oppure con elettroforesi di carboidrati assistita da fluorofori (8) o con spettrometria di massa, metodiche che hanno permesso il rilievo di aumento di IgA1 ad elevata esposizione di residui di Gal $\beta$  1,3GalNAc, espressione di un ridotto numero di radicali di acido sialico (Fig. 2) (9).

Il nostro Gruppo aveva indagato la composizione carboidratica delle IgA1, isolando o da sieri di pazienti con IgAN e da sani di controllo differenti glicoforme di IgA1 con metodica di cromatografia di affinità utilizzando colonne di lectine specifiche per differenti singoli residui di carboidrati (7). I picchi eluiti erano stati separati in HPLC per isolare glicoproteine con peso molecolare compreso tra 250-400 kDa, comprendenti anche IgA macromolecolari, che erano state quantificate. In pazienti affetti da IgAN abbiamo osservato, rispetto alla popolazione sana di controllo, un'aumentata percentuale di IgA1 con maggiore esposizione di radicali di GalNAc e Neu5Ac- $\alpha$ 2,6GalNAc. Una ridotta galattosilazione delle IgA1 risultava nella neo-esposizione di radicali di GalNAc (7).

La galattosilazione delle catene carboidratiche, in particolare dei residui di GalNAc della *hinge region* è condizionata dall'attività dell'enzima  $\beta$  1,3 galattosiltransferasi (coinvolto anche nella alterazione di glicosilazione dell'antigene Tn "permanent mixed-field polyagglutinability" o Tn sindrome). Tuttavia un solo studio ha riportato una difettosa funzione di  $\beta$  1,3 galattosiltransferasi in polimorfonucleati di pazienti di IgAN (10) e non è stato confermato dagli stessi Autori in studi più ampi (10). Anche le indagini genetiche non hanno mostrato aumento di varianti polimorfiche responsabili di alterata funzione dell'enzima. Emancipator aveva postulato, in un modello murino, che

uno squilibrio delle sottopopolazioni Th1/Th2 con prevalenza dei Th2 in corso di infezioni virali, potesse condizionare, attraverso la sintesi di IL-4 e IL-10, l'attività enzimatica  $\beta$ -galattosidasi con riduzione dei radicali di galattosio nelle IgA1 dei pazienti affetti da IgAN (11). In conclusione, non esistono al momento certezze sulle vie di induzione di un'alterata glicosilazione delle IgA1 nei pazienti con IgAN: l'ipotesi di un condizionamento genico rimane valida ma non provata, mentre è possibile che anche fattori acquisiti, modulando una prevalenza dei Th2 possano modificare la glicosilazione delle IgA in alcuni momenti della malattia.

### Possibili correlazioni fra diversità di glicosilazione delle IgA1 e manifestazioni cliniche e progressione della IgAN

È noto che la IgAN può avere una vasta gamma di quadri clinici, che variano da un esordio in microematuria minima con un andamento indolente senza declino funzionale a forme tanto benigne da andare in remissione clinica duratura, ad altre tanto maligne da progredire rapidamente verso la sclerosi con possibilità di recidiva del rene trapiantato. I meccanismi che regolano questo diverso atteggiamento clinico non sono stati ancora individuati.

Né i livelli di IgA sierici né i livelli di IgAIC si sono dimostrati predittivi della prognosi a distanza della IgAN. Notevole interesse è rivolto al valore delle IgA con alterata glicosilazione. Il nostro Gruppo ha studiato i livelli sierici di IgA1 leganti la Vicia Villosa (VV) e Helix Aspersa (HA) (due lectine provviste di specificità per radicali di N-Acetilgalattosamina, anche se con diversa affinità) in una coorte di pazienti affetti da IgAN giunti alla dialisi ed al trapianto renale per IgAN progressive (6). I livelli di IgA1 con aumentata espressione di radicali di GalNAc (VV ed HA) erano significativamente maggiori rispetto ai soggetti sani di controllo. I livelli di IgA1 leganti la VV erano inoltre più elevati nei pazienti che presentavano una recidiva della IgAN rispetto ai non recidivanti, e questa caratteristica si è mostrata avere un certo valore predittivo. In un altro gruppo di pazienti con normale funzione renale e moderata proteinuria, i livelli di IgA1 leganti la VV erano sovrapponibili ai controlli, mentre i livelli di IgA1 leganti l'HA erano significativamente maggiori. Specificità di legame alle diverse lectine è stata inoltre rilevata in correlazione con lo spessore della membrana basale glomerulare.

È ipotizzabile che differenti difetti di glicosilazione delle IgA1 possano influenzare non solo la presentazione clinica della malattia, ma anche la storia naturale dei singoli casi. Tuttavia, ulteriori studi sono necessari per valutare se il difetto di glicosilazione resta costante o varia nel tempo e quanto sia un reale fattore di rischio di progressione di IgAN.

## Macromolecole circolanti contenenti IgA1

Macromolecole contenenti IgA1 possono formarsi con meccanismi diversi: 1) formazione di veri IgA1IC per reazione con antigeni; 2) self-aggregazione secondaria alla carenza di residui di acido sialico nelle IgA1 abnormemente glicosilate; 3) legame aspecifico, di tipo interazione glucidica – lectinica, con altre glicoproteine circolanti; 4) formazione di complessi mediante legame al recettore solubile Fc per le IgA (Fc $\alpha$ RI).

Abbiamo in precedenza riportato come il rilievo di IgAIC sia non costante nella storia naturale della IgAN e non rilevabile in tutti i soggetti (forse per fluttuazione di IC e forse anche per difetto di metodiche adeguate): in ogni caso fra la possibilità di aspecificità di riscontro in altre patologie e l'incostanza del reperto, il riscontro di IgAIC non ha valore diagnostico né prognostico, a parte alcuni casi particolari.

Una ridotta esposizione di radicali di galattosio nelle IgA1 ne aumenta l'autoaggregabilità e induce la neo-esposizione di determinanti antigenici che possono essere riconosciuti da IgG o da altre IgA1 come antigeni, con formazione di immunocomplessi IgA1/IgG o IgA1/IgA1 risultati dotati di particolare affinità per le componenti di matrice mesangiale (12). La presenza di IgG o IgA1 legate ai residui di GalNAc della *hinge region* riduce la *clearance* epatica con conseguenti elevati livelli circolanti. Tuttavia Fattori reumatoidi IgA sono riscontrabili solo nel 50% dei pazienti affetti da IgAN, e questi non correlano con la presenza di IgG a livello mesangiale, riducendo il possibile significato prognostico del riscontro di immunocomplessi misti in circolo e/o di depositi di IgG in associazione alle IgA glomerulari.

Le IgA, particolarmente le IgA1 con aberrante glicosilazione, hanno la capacità di reagire con molte altre glicoproteine in legami di tipo lectinico, attraverso interazioni carboidratiche. Una di queste interazioni particolarmente evidente è quella con la fibronectina, con formazione di complessi IgA/fibronectina in circolo. Sebbene i livelli sierici di IgA/fibronectina siano stati ritrovati elevati in pazienti affetti da IgAN, il loro ruolo diagnostico e patogenetico, enfatizzato in passato, resta evanescente. I livelli di complessi IgA/fibronectina potrebbero essere condizionati dall'uteroglobina, molecola dotata di proprietà anti-infiammatorie, capace di inibire il legame IgA/fibronectina. Topi con delezione del gene per uteroglobina sviluppano una nefropatia simile alla IgAN umana spontanea, con depositi mesangiali di IgA, C3, fibronectina e collagene e comparsa di anomalie orinarie (anche se per lo più con proteinuria e non ematuria) e progressione sclerotica della malattia glomerulare (13). Era stato ipotizzato che una riduzione dei livelli di uteroglobina potesse favorire la formazione di complessi IgA/fibronectina con conseguente aumentata deposizione mesangiale. Il nostro gruppo, ha tuttavia, recentemente mostra-

to che in pazienti affetti da IgAN, i livelli di uteroglobina circolanti non sono ridotti (14), mentre l'incorporazione di uteroglobina nei complessi IgA/fibronectina è aumentata ma probabilmente non adeguatamente nei pazienti fortemente proteinurici.

Di recente è stato descritto un aumento dei livelli sierici di un frammento di fibronectina, del peso molecolare di 43 kD che comprende il tratto carbossi-terminale, solo nei pazienti affetti da IgAN. Tuttavia anche in questo caso il ruolo patogenetico di tale anomalia non è stato chiarito.

## Test di verifica

### 2) Quali sono i difetti biochimici delle IgA più caratteristici della IgAN?

- a. IgA elevate
- b. IgAIC positivi
- c. Complessi IgA/fibronectina positivi
- d. IgA1 con difetto di galattosio
- e. IgA1 con difetto di acido sialico e mannosio.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

## Recettori Fc $\alpha$ RI (CD 89)

Aggregati circolanti contenenti IgA possono formarsi attraverso un meccanismo completamente diverso, per interazione delle IgA con uno o più recettori specifici. Il primo indagato è stato il recettore per il frammento Fc delle IgA (Fc $\alpha$ RI o molecola CD89) espresso su cellule di origine mieloide. Il CD89 è rappresentato da un gruppo eterogeneo di proteine di membrana capaci di legare entrambe le sottoclassi di IgA con bassa affinità. I recettori Fc $\alpha$ RI  $\alpha$  non presentano il dominio di trasduzione intracitoplasmatico del segnale, ma sono associati al complesso Fc $\alpha$ RI/FcR  $\gamma$  che esprime una sequenza di attivazione (ITAM) nel dominio intracitoplasmatico. In soggetti normali l'attivazione del complesso può risultare in attivazione o inibizione di recettori eterologhi a seconda dell'interazione con ligandi multivalenti o multivalenti (15).

In soggetti affetti da IgAN è stata osservata una riduzione dell'espressione di Fc $\alpha$ RI sulla superficie dei linfomonociti circolanti, nonostante normali livelli trascrizionali del gene specifico (12). La riduzione di espressione di Fc $\alpha$ RI sui linfomonociti sembra essere legata alla presenza di IgA plasmatiche, come è stato dimostrato in pazienti affetti da IgAN rispetto alla popolazione normale e dopo incubazione di pIgA purificate con linfomonociti di soggetti sani (16). Il meccanismo proposto per spiegare il feno-

meno è uno *shedding* (un rilascio) del dominio extracellulare di Fc $\alpha$ RI (17) dopo legame alle IgA, soprattutto pIgA. A supporto di questa ipotesi è la presenza di Fc $\alpha$ RI solubili solo nel siero di soggetti affetti da IgAN e non nei soggetti normali di controllo. La forma solubile è stata identificata come una porzione glicosilata di Fc $\alpha$ RI del peso molecolare di 50-70 kDa con un *core* proteico di 24 kDa (17). La produzione della forma solubile del recettore si può ottenere incubando IgA polimeriche con cellule transfettate per Fc $\alpha$ RI, indicando che l'interazione tra Fc $\alpha$ RI e pIgA induce il clivaggio enzimatico, da parte di proteasi non ancora identificate, del dominio extracellulare di Fc $\alpha$ RI, con conseguente rilascio in circolo dei complessi IgA/Fc $\alpha$ RI.

Il rilievo di immunocomplessi circolanti costituiti da IgA e Fc $\alpha$ RI solubili sostiene l'ipotesi di un loro possibile ruolo patogenetico nella formazione dei depositi mesangiali nella IgAN. Questa possibilità è stata esplorata sviluppando un ceppo di topi transgenici per Fc $\alpha$ RI umano. Nonostante la bassa affinità di legame delle pIgA murine con Fc $\alpha$ RI, si è osservata la formazione di immunocomplessi IgA/Fc $\alpha$ RI che si depositano a livello mesangiale con sviluppo di microematuria, proteinuria moderata e infiltrati di macrofagi per-glomerulari all'esame istologico biotico renale (17). La malattia è stata inoltre trasferibile ai topi normali iniettando i complessi IgA/Fc $\alpha$ RI solubili isolati dai topi transgenici per Fc $\alpha$ RI umani.

Allo scopo di studiare il contributo delle IgA circolanti nei pazienti affetti da IgAN, è stato messo a punto un modello sperimentale di topi SCID (*severe combined immunodeficiency*) transgenici per Fc $\alpha$ RI solubili umani. Questi topi non sviluppano spontaneamente IgAN, ma esprimono le manifestazioni di malattia, quando IgA isolate da pazienti affetti da IgAN vengono iniettati in circolo. È interessante l'osservazione che solo IgA isolate da pazienti affetti da IgAN inducono la nefropatia, mentre IgA isolate da soggetti normali di controllo non esercitano azione nefrotossica, suggerendo che IgA con alterata glicosilazione si leghino più fortemente alle forme solubili Fc $\alpha$ RI e così giochino un ruolo patogenetico nello sviluppo di IgAN in questo modello sperimentale.

## Destino delle IgA circolanti macromolecolari

In tutte queste condizioni (aggregazione, interazione con recettori solubili Fc $\alpha$ RI, formazioni di immunocomplessi), la presenza di complessi può rappresentare un elemento capace di impedire il riconoscimento delle IgA dai recettori asialoglicoproteici (ASGPR) (18). Il ruolo di questi recettori è quello di riconoscere a livello epatocitario e legare i radicali terminali di Gal o GalNAc presenti nelle catene glucidiche *O-linked* ed in alcune *N-linked* (18) quando privati di acido sialico. Il ruolo degli ASGPR sembra tuttavia essere confinato alla normale *clearance* delle IgA2 piuttosto che

delle IgA1. In ogni caso, non sono stati rilevati difetti del sistema recettoriale ASGPR nella IgAN primitiva (19).

## Origine delle IgA depositate nei glomeruli in corso di IgAN

Le IgA1 che si depositano a livello mesangiale in corso di IgAN sono prevalentemente dIgA o IgA macromolecolari, collettivamente definite IgA polimeriche (pIgA). Considerando che la sede di maggiore sintesi delle pIgA è il sistema mucoso e le *poussées* ematuriche caratteristiche della IgAN sono tipicamente coincidenti con infezioni mucose, le prime ipotesi formulate per la patogenesi della IgAN hanno individuato come momento iniziale la deposizione mesangiale di pIgA di origine mucosa. Di qui i primi approcci terapeutici di tonsillectomia o di terapia antibiotica ad ampio spettro e protratta (20). I pazienti con IgAN hanno mostrato avere aumentati livelli di plasmacellule produttrici pIgA sia nei tipici siti mucosi, quali le tonsille che nel midollo. Tuttavia gli studi delle concentrazioni di IgA e il rapporto IgA1/IgA2 nelle secrezioni mucose nei pazienti affetti da IgAN e nei controlli sani hanno dato risultati contrastanti e in generale non hanno fornito risultati convincenti di una diversità di produzione di pIgA mucosa. Addirittura è stata segnalata una difettosa escrezione di pIgA, rilevata da minore presenza di plasmacellule sintetizzanti catena J nella sottomucosa, che è stata correlata ad una ipotetica maggiore suscettibilità alle infezioni batteriche dei pazienti con IgAN. Studi di ibridizzazione *in situ* hanno mostrato che la sintesi plasmacellulare a livello mucoso di pIgA1 in corso di IgAN è diminuita mentre risulta aumentata la sintesi a livello midollare, forse per un tentativo di compenso o forse come conseguenza di un aumento del numero di cellule B antigene-specifiche. In effetti, in circolo aumentano i livelli di IgA macromolecolari nella fase acuta della risposta immune, indirizzando all'ipotesi di aumento di sintesi delle pIgA1 di origine midollare, espressione non tanto dell'immunità mucosa, quanto dell'immunità sistemica (10).

Indagini in soggetti affetti da IgAN hanno mostrato una ridotta risposta IgA da antigeni di immunizzazione mucosa ed un'accentuata risposta IgA midollare in risposta a stimolazione antigenica sistemica (10). Anche se questi studi, prevalentemente del gruppo di studiosi Inglesi e Olandesi (10, 21) hanno fortemente modificato le concezioni di lavori precedenti di ricercatori Statunitesi e Giapponesi (22), il ruolo del sistema immune nella IgAN non è del tutto cancellato. Recenti studi hanno ad esempio dimostrato che la risposta sistemica pIgA1 in pazienti affetti da IgAN con infezione cronica di *Helicobacter pylori* è nettamente aumentata, suggerendo un'alterazione dei meccanismi di tolleranza mucosa. Il nostro gruppo ha inoltre recentemente mostrato in un modello di IgAN ottenuto con immunizzazione di topi con virus Sendai una ridotta tolleranza muco-

sa e sviluppo di nefrite con ematuria (23). È verosimile quindi che il difetto consista in una alterazione dei rapporti immunità mucosa-immunità sistemica regolanti la sintesi di IgA piuttosto che un difetto specifico di un settore isolato.

## Tonsille ed IgAN

Il rapporto fra tonsille ed IgAN è subito stato evidente dopo la constatazione della macroematuria sinfaringitica in questi pazienti. Tuttavia, dopo anni di tonsillectomie indiscriminate e dopo il riscontro di depositi renali prevalenti di IgA1 (tipica sottoclasse prodotta dalle plasmacellule del midollo osseo), e dalla serie di dati esposti nel paragrafo precedente, il tema è andato in declino ed obsolescenza. Tuttavia molti Autori, soprattutto Giapponesi e Cinesi, sono rimasti affezionati al concetto ed hanno recentemente riportato risultati notevoli sul significato clinico della tonsillectomia (20) che, pur attendendo conferme in studi prospettici, hanno riaperto l'interesse sul tema. Le tonsille producono soprattutto dIgA con prevalenza di IgA1 (80%), simili a quelle dei depositi renali e nei pazienti con IgAN. Inoltre eluati dei depositi renali reagiscono con le cellule tonsillari di singoli pazienti (20) e stimolando le tonsille con *ultra-short waves* si ottiene aumento dell'ematuria nei pazienti. Inoltre l'infezione tonsillare ripetuta porta ad aumento di anticorpi specifici H-influenza o antistreptococcici che sono reperibili anche a livello renale. Alcuni Autori hanno rilevato che le IgA1 prodotte dalle tonsille hanno difetto di O-glicosilazione (24) e che la tonsillectomia riporta il profilo di glicosilazione delle IgA a un *pattern* normale. Si tratta di dati nell'insieme interessanti. È in corso un *trial* prospettico, randomizzato e controllato sull'esito clinico a distanza della tonsillectomia condotto da Tetsuya Kawamura che chiarirà questo argomento al momento ancora discusso.

## IgA con alterata glicosilazione nei depositi e recettori nel mesangio

Il ruolo patogenetico delle IgA1 con alterata glicosilazione (AGlyIgA1) è stato confermato dalla riproduzione di depositi di IgA, infiammazione glomerulare ed ematuria dopo iniezione di IgA1 deglicosilate *in vitro* in animali da esperimento (citato in 1). Nell'uomo IgA con alterata glicosilazione sono state rilevate nei depositi mesangiali di biopsie di pazienti affetti da IgAN utilizzando tecniche di legami con lectine specifiche o con metodica di spettrofotometria di massa. Inoltre e IgA1 eluite da frammenti biopatici renali, quando separate con *focusing* isoelettrico su gel di agarosio, presentano una carica elettrica prevalentemente anionica, suggerendo un'anomalia nell'assetto glucidico della molecola di IgA, con possibile prevalenza complessiva di sialilazione (citati in 1).

Sebbene numerose proteine sono state individuate come verosimili candidate a svolgere il ruolo recettore per le IgA1 nel mesangio, i dati non permettono ancora conclusioni definitive.

È stato recentemente dimostrato come il recettore per la transferrina, TfR o CD71, potrebbe svolgere sulle cellule mesangiali il ruolo di recettore per le IgA1 nella IgAN (25). Il recettore TfR lega solo IgA1 polimeriche non quelle monomeriche (26), ed al legame segue la internalizzazione. Non è stata osservata affinità di legame delle IgA2 per il TfR- $\alpha$ . A differenza dei Fc $\alpha$ RI, il TfR non è espresso sulle cellule mononucleate e solo modestamente espresso su cellule mesangiali quiescenti (26). Il TfR sulle cellule mesangiali è fortemente espresso in pazienti affetti da IgAN (26), in co-localizzazione con i depositi di IgA, e potrebbe partecipare alla deposizione selettiva delle IgA1.

Il *pattern* di glicosilazione influenza il legame delle IgA1 al TfR: IgA degalattosilate ottenute *in vitro* o isolate da pazienti affetti da IgAN, presentano una maggiore avidità per il TfR rispetto ad IgA di soggetti sani di controllo. L'importanza dei residui glicidici nel legame delle IgA al TfR è stato dimostrato in cellule Daudi (cellule B linfomatose), che presentano solo i TfR come recettori per le IgA1. La rimozione dei glicidi sia N- che O-linked inibiva il legame delle IgA1 alle cellule Daudi, mentre il trattamento delle IgA1 con sialilasi (con rimozione dei radicali di acido sialico ed aumento dell'esposizione di radicali Gal) e galattosidasi (rimozione dei radicali di Gal ed aumento dell'esposizione di GalNAc), aumentavano il legame delle IgA1 al TfR delle cellule Daudi.

Recenti studi hanno dimostrato che IgA1 con alterata glicosilazione e immunocomplessi IgA1 stimolano l'espressione del TfR e favoriscono il legame di IgA1 abnormemente glicosilate a cellule mesangiali in coltura (26). Inoltre il legame delle IgA1 con alterata glicosilazione al TfR induce la liberazione di citochine, quali IL-6 e TGF- $\beta$  e stimola la proliferazione mesangiale, *marker* istologico caratteristico della malattia (27). La proliferazione mesangiale mediata dal legame IgA1-TfR è inibita dalla coincubazione con i domini extracellulari del TfR o con anticorpi specifici anti TfR. Una simile azione di blocco è indotta sia da anticorpi anti-TfR o dai domini solubili del TfR, sulla sintesi di IL-6 e TNF conseguente al legame delle IgA1 al TfR.

Una sovra-espressione di TfR è stata rilevata in biopsie renali di pazienti con IgAN e in IgAN in corso di sindrome di Schoenlein-Henoch e LES, in questo ultimo caso solo in pazienti positivi all'immunofluorescenza per IgA.

È stato proposto che il legame delle pIgA1 con alterata glicosilazione e/o degli immunocomplessi al TfR attraverso una sovra-regolazione dei TfR non solo rappresenti il momento iniziale di formazione dei depositi ma anche, attraverso l'auto-amplificazione dei sistemi recettoriali e conseguente attivazione e proliferazione mesangiale, dei meccanismi responsabili della cronicizzazione del proces-

so glomerulonefritico e della ricorrenza dei depositi IgA1 dopo trapianto renale.

## Effetti biologici delle IgA con alterata glicosilazione sulle cellule mesangiali

Molto interesse è rivolto al riscontro di modulazione della reattività delle cellule mesangiali messe in coltura con IgA ad alterata glicosilazione per avere conferme biologiche di un loro potenziale ruolo patogenetico nella IgAN. Il nostro Gruppo ha studiato in particolare gli effetti biologici di differenti glicoforme di IgA1 isolate da pazienti affetti da IgAN con cromatografia d'affinità lectinica e ricche in radicali terminali di GalNAc o Neu5Ac2,6, GalNAc o preparate *in vitro* con trattamento enzimatico di IgA1 normali (con neuraminidasi che rimuove radicali di acido sialico- e galattosidasi che rimuove radicali di galattosio) (citati in 1).

Tra i diversi mediatori della flogosi, il complemento sembra giocare un ruolo cruciale nell'induzione di modelli sperimentali di IgAN e le IgA1 con alterata glicosilazione hanno una maggiore affinità nella fissazione del C3b. Utilizzando un anticorpo monoclonale diretto contro un neoepitopo presente su C3 -C3b, iC3b, C3dg attivati, abbiamo osservato che le IgA1 isolate da pazienti affetti da IgAN che esprimevano un maggior numero di radicali di GalNAc e Gal erano più efficaci nell'attivare il complemento quando paragonate alle IgA1 isolate da soggetti sani di controllo (citati in 1).

Le IgA1 con alterata glicosilazione sono in grado di attivare un altro meccanismo chiave di traduzione del segnale di attivazione, attivando l'espressione delle integrine sulle cellule mesangiali (28). I segnali di traduzione intracitoplasmatica indotta dalle integrine regolano la crescita e la sopravvivenza cellulare oltre che la sintesi e l'organizzazione della matrice mesangiale stessa. IgA desialilate e degalattosilate preparate *in vitro* ed anche IgA1 con alterata glicosilazione isolate da pazienti affetti da IgAN aumentavano significativamente l'espressione dell'integrina  $\alpha\beta 3$  in MC *in vitro* (28).

Abbiamo inoltre cercato di chiarire quale fosse il *signalling* intracellulare attivato dalle IgA1 con alterata glicosilazione ed abbiamo osservato che gran parte degli effetti biologici indotti dalle IgA ad alterata glicosilazione sulle cellule mesangiali sono mediate dall'attivazione e traslocazione nucleare del fattore trascrizionale NF-kB. È noto che stimoli specifici dissociano la proteina inibitrice Ikb $\alpha$  dal complesso NF-kB nel citoplasma permettendone la traslocazione nucleare e l'attivazione della trascrizione di geni regolanti la trascrizione di mediatori flogistici e sclerogeni. I livelli citoplasmatici di Ikb $\alpha$  disponibili per bloccare NF-kB dipendono dall'attività dei proteasomi, che degradano l'IkB dopo ubiquitinazione. Cellule mesangiali trattate con IgA con alterata glicosilazione inducono una traslocazione nucleare di NF-kB in

parallelo con una riduzione dei livelli di Ikb. L'attivazione di NF-kB e gli eventi correlati sono risultati significativamente inibiti dalla coincubazione con antagonisti del sistema angiotensinico (6) o con inibitori dei proteasomi responsabili della stabilità dell'IkB. Simili risultati, sono stati ottenuti *in vivo*, studiando l'attivazione del fattore trascrizionale NF-kB in linfomonociti di pazienti affetti da IgAN. I pazienti presentavano una spiccata e significativa attivazione con traslocazione nucleare di NF-kB rispetto alla popolazione sana di controllo.

Le IgA ad alterata glicosilazione si sono dimostrate capaci di modulare alcuni degli effetti più rilevanti dell'attivazione di NF-kB, quali la sintesi ed espressione del VEGF-A e della sintasi inducibile dell'ossido nitrico (iNOS) (29). Abbiamo osservato che le IgA con alterata glicosilazione, sia isolate da pazienti che preparate *in vitro*, deprimevano significativamente la trascrizione e traduzione del gene del VEGF-A, mentre si osservava che le IgA1 desialilate e degalattosilate stimolavano trascrizione, traduzione ed attività della iNOS. I due fenomeni erano correlati e mediati dalla sintesi di NO e alla modulazione dell'apoptosi delle cellule mesangiali (7). Un'aumentata espressione di iNOS e del fattore pro-apoptotico *tumor suppressor protein* p53 è stata recentemente descritta con metodiche di ibridizzazione *in situ* in biopsie umane di IgAN (30).

In conclusione, IgA1 con alterata glicosilazione, sia preparate *in vitro* che isolate da pazienti affetti da IgAN, si sono mostrate significativamente più attive delle IgA1 con normale assetto carboidratico nell'attivare il complemento, modulare l'espressione delle integrine espresse sulle cellule mesangiali, aumentare l'attività NOS e deprimere la sintesi del VEGF-A con risultato finale di una depressione dell'indice proliferativo mesangiale ed aumento di quello apoptotico. È interessante notare che l'effetto anti-proliferativo è esercitato prevalentemente da IgA1 ad alterata glicosilazione con peso molecolare compreso tra 200-450 kDa, mentre quelle a più alto peso molecolare (700-1000 kDa) aumentano l'indice proliferativo mesangiale (1). È noto che la IgAN è una glomerulonefrite caratterizzata da proliferazione mesangiale, che durante la progressione, l'entità della proliferazione può essere responsabile della comparsa di lesioni sclerotiche. È verosimile che il peso molecolare degli aggregati di IgA1 ad alterata glicosilazione che si depositano a livello mesangiale rappresentino un punto cruciale non solo nella patogenesi ma anche nella evoluzione sclerotica della malattia.

## Test di verifica

### 3) I recettori per IgA1 abnormemente glicosilate sono:

- Recettori per il tratto Fc delle IgA (Fc $\alpha$ RI) su cellule mesangiali
- Recettori comuni alla transferrina (TfR) su cellule mesangiali



- c. Recettori comuni alla ferritina su linfomonociti periferici
- d. Attivi solo se la IgA ha legato il complemento
- e. Attivabili solo dopo esposizione a citochine.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

## Riassunto

Una nefrite che prende nome dai depositi di una classe di immunoglobuline - la nefropatia a depositi IgA (IgAN) - ha da sempre attirato l'attenzione dei ricercatori su IgA e macromolecole contenenti IgA in circolo in questi pazienti. Tuttavia gli studi sui livelli di IgA ed anche di immunocomplessi IgA non hanno mantenuto le aspettative di fornire elementi certi di diagnosi o di rischio per la prognosi della IgAN. In questi ultimi anni l'interesse si è piuttosto focalizzato sulle caratteristiche qualitative delle IgA1, la sottoclasse presente nei depositi renali, particolarmente sulla composizione carboidratica della regione cerniera tipica delle IgA1. Le IgA 1 dei pazienti con IgAN hanno difetti di glicosilazione con aumento di forme a catena glu-

cidica troncata ed aumentata esposizione di glicidi interni quali Galattosio e N-Acetilgalattosamina. Queste IgA1 hanno capacità di autoaggregazione, formazione di macromolecole, attivazione del complemento, modulazione di integrine e fattori trascrizionali quali NF- $\kappa$ B. Fra gli altri, una reattività recentemente emersa è stata quella con il recettore FC $\alpha$ RI espresso su linfomonociti circolanti, con liberazione del complesso e formazione di macromolecole IgA1 con alterata glicosilazione/ FC $\alpha$ RI.

A livello mesangiale la nefropatogenicità delle IgA con alterata glicosilazione, sembra mediata dal legame con il recettore specifico per la transferrina TfR, espresso selettivamente sulle cellule mesangiali.

Questa rassegna è finalizzata a rivedere le nuove conoscenze su alterazione di sintesi e sui relativi effetti biologici delle IgA con alterata glicosilazione in questa nefrite così comune in Europa.

Indirizzo degli Autori:

Prof.ssa Rosanna Coppo

SC Nefrologia, Dialisi e Trapianto

Ospedale Regina Margherita

Piazza Polonia, 94

10126 Torino

e-mail: [nefrologia@oirmsantanna.piemonte.it](mailto:nefrologia@oirmsantanna.piemonte.it)

## Bibliografia

1. Coppo R, Amore A, Hogg R, Emancipator S: Idiopathic nephropathy with IgA deposits. *Pediatr Nephrol* 2000; 15: 139-50.
2. Russel MW, Lue C, van der Wall Bake AW. Molecular heterogeneity of human IgA antibodies during an immune response. *Clin Exp Immunol* 1992; 87: 1-6
3. Kerr A. The structure and function of human IgA. *Biochem J* 1990; 271: 283-96.
4. Coppo R, D'Amico G. Factors predicting progression of IgA nephropathies. *J Nephrol* 2005; 18: 503-12.
5. Monteiro RC, Chavallier A, Noel LH, Lesavre P. Serum IgA preferentially binds to cationic polypeptides in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* 1988; 73: 300-6.
6. Coppo R, Amore A. Aberrant glycosylation in IgA nephropathy (IgAN). *Kidney Int* 2004; 65: 1544-7.
7. Amore A, Cirina P, Conti G, Brusa P, Peruzzi L, Coppo R. Glycosylation of circulating IgA in patients with IgA nephropathy modulates proliferation and apoptosis of mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1862-71.
8. Allen AC, Harper SJ, Feehally J. Galactosylation of N- and O-linked carbohydrate moieties of IgA1 and IgG in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* 1995; 100: 470-4.
9. Hiki Y, Tanaka A, Kokubo T, et al. Analyses of IgA1 hinge glycopeptides in IgA nephropathy by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 577-82.
10. Barratt J, Feehally J. IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2088-97.
11. Chintalacharuvu SR, Nagy NU, Sigmund N, Nedrud JG, Lamm ME, Emancipator SN. T cell cytokines determine the severity of experimental IgA nephropathy by regulating IgA glycosylation. *Clin Exp Immunol* 2001; 126: 326-33.
12. Tomana M, Novak J, Julian B, Matousovic K, Konecny K, Mestecky J. Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J Clin Invest* 1999; 104: 73-81.
13. Pouria S, Challacombe SJ. Uteroglobin deficient mice-a novel animal model for IgA nephropathy? *Gut* 2000; 46: 452-3.
14. Coppo R, Chiesa M, Cirina P, Peruzzi L, Amore A. European IgACE Study Group In human IgA nephropathy uteroglobin does not play the role inferred from transgenic mice. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40: 495-503.
15. Monteiro RC, and Van De Winkel JG. IgA Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 177-204.
16. Grossetete B, Launay P, Lehuen A, Jungers P, Bach JF, Monteiro RC. Down-regulation of Fca receptors on blood cells of IgA nephropathy patients: evidence for a negative regulatory role of serum IgA. *Kidney Int* 1998; 53: 1321-35.
17. Launay, P., B. Grossetete, M. Arcos-Fajardo, E. Gaudin, S.P. Torres, L. Beaudoin, N. Patey-Mariaud de Serre, A. Lehuen, and R.C. Monteiro. Fca receptor (CD89) mediates the development of immunoglobulin A (IgA) nephropathy (Berger's disease). Evidence for pathogenic soluble receptor-IgA complexes in patients and CD89 transgenic mice. *J Exp Med* 2000; 191: 1999-2009.

18. Novak J, Julian BA, Tomana M, Mertecky J. Progress in molecular and genetic studies of IgA nephropathy. *J Clin Immunol* 2001; 21: 310-27.
19. Monteiro RC, Moura IC, Launay P, et al. Pathogenic significance of IgA receptor interactions in IgA nephropathy. *Trends Mol Med* 2002; 8: 464-8.
20. Xie Y, Chen X, Nishi S, Narita I, Gejyo F. Relationship between tonsils and IgA nephropathy as well as indications for tonsillectomy. *Kidney Int* 2004; 65: 1135-44.
21. Van der Boog PJM, van Kooten C, de Fijter JW, Daha MR. Role of macromolecular IgA in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2005; 67: 813-21.
22. Tomino Y. IgA nephropathy. From molecules to men. *Contrib Nephrol* 1999;126: III-IX, 1-115.
23. Amore A, Coppo R, Nedrud JG, Sigmund N, Lamm ME, Emancipator SN. The role of nasal tolerance in a model of IgA nephropathy induced in mice by Sendai virus. *Clin Immunol* 2004; 113 (1): 101-8.
24. Horie A, Hiki Y, Odani H, et al. IgA1 molecules produced by tonsillar lymphocytes are under-galactosylated in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 486-96.
25. Moura IC, Centelles MN, Arcos-Fajardo M, et al. Identification of the transferrin receptor as a novel immunoglobulin (Ig)A1 receptor and its enhanced expression on mesangial cells in IgA nephropathy. *J Exp Med* 2001; 194: 417-25.
26. Moura IC, Arcos-Fajardo M, Sadaka C, et al. Glycosylation and size of IgA1 are essential for interaction with mesangial transferrin receptor in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 622-34.
27. Moura IC, Arcos-Fajardo M, Gdoura A, et al. Engagement of Transferrin Receptor by Polymeric IgA1: Evidence for a Positive Feedback Loop Involving Increased Receptor Expression and Mesangial Cell Proliferation in IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2667-76.
28. Peruzzi L, Amore A, Cirina P, et al. Integrin expression and IgA nephropathy: in vitro modulation by IgA with altered glycosylation and macromolecular IgA. *Kidney Int* 2000; 8: 2331-40.
29. Amore A, Conti G, Cirina P, et al. Aberrantly glycosylated IgA molecules downregulate the synthesis and secretion of vascular endothelial growth factor in human mesangial cells. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 1242-52.
30. Qiu LQ, Sinniah R, Hsu SIH. Coupled induction of iNOS and p53 upregulation in renal resident cells may be linked with apoptotic activity in the pathogenesis of progressive IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2066-78.