



Μέτρηση Ιντερφερόνης τύπου Ι στο εργαστήριο και την κλινική

Κλειώ Π. Μαυραγάνη

Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

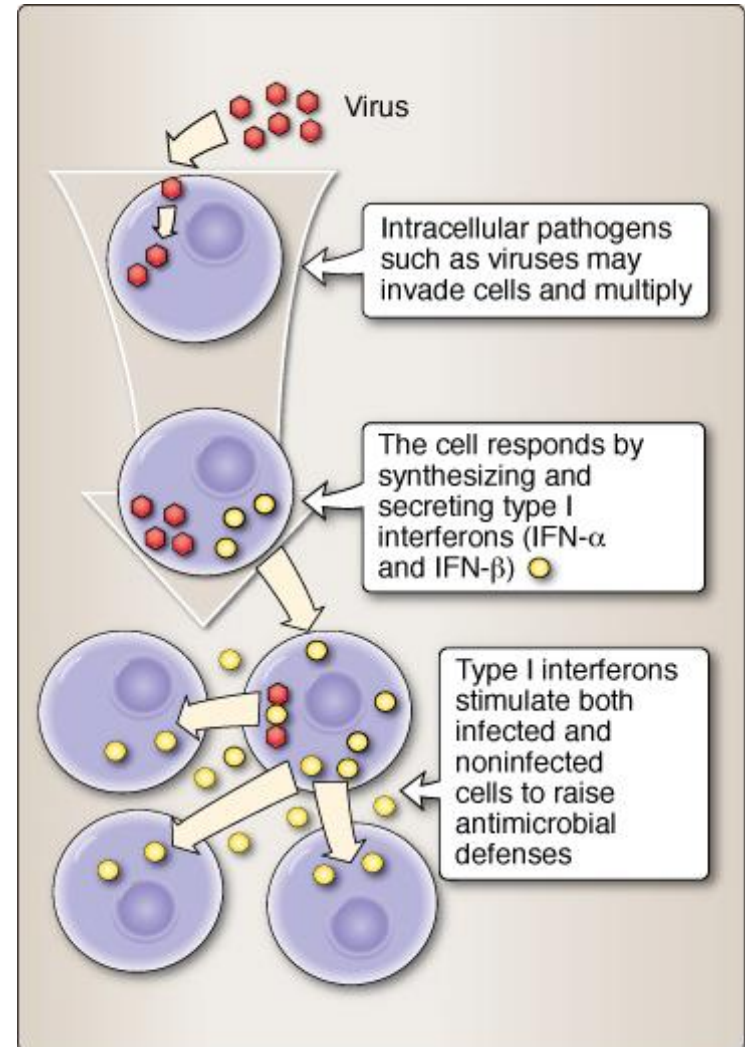
17.06.2023



4ο Σχολείο Βασικής
Ανοσολογίας Για Κλινικούς

Ιντερφερόνες

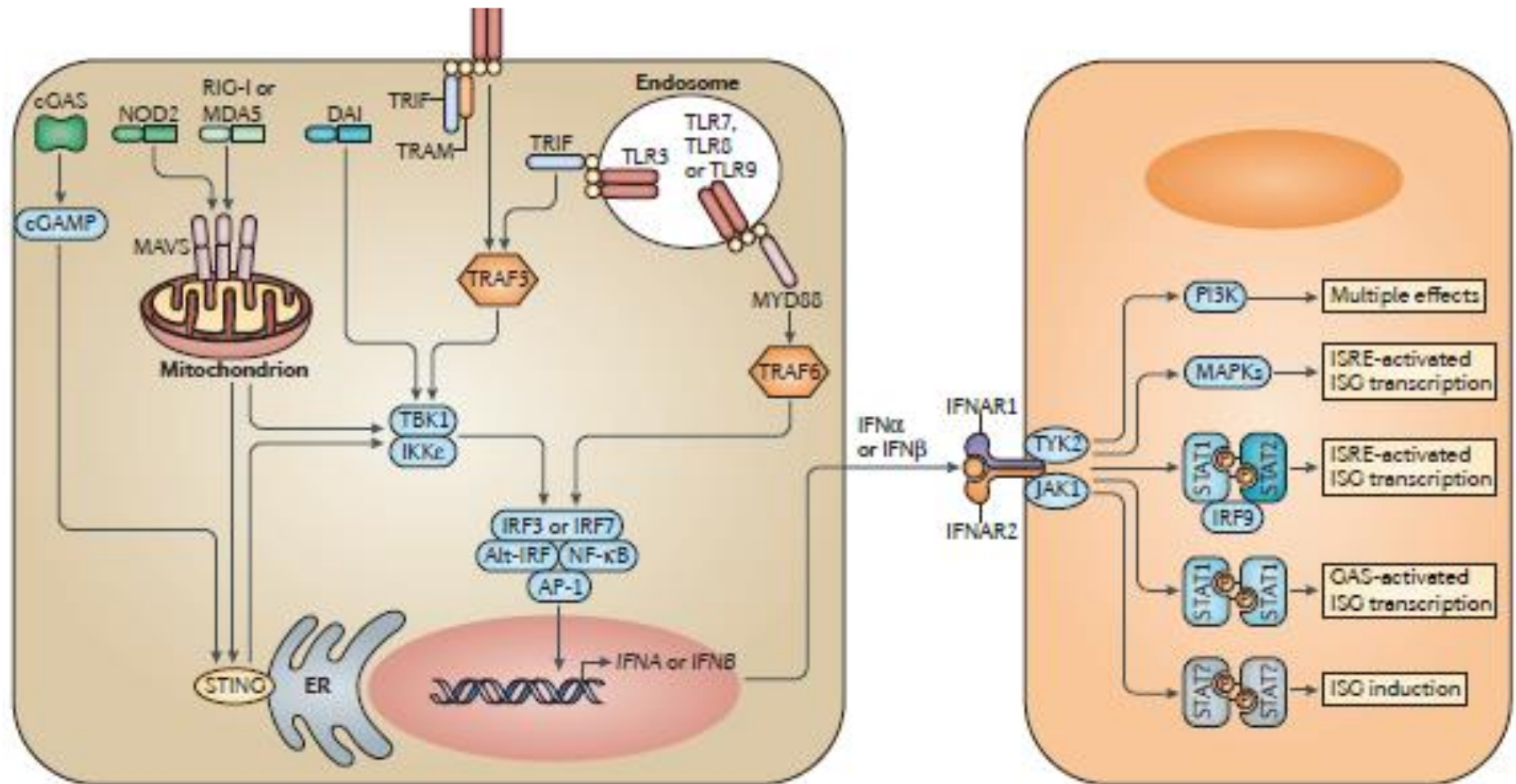
- 1957 (Isaacs and Lindenmann)
- Ουσίες που «παρεμβαίνουν» (interfere) στον πολλαπλασιασμό των ιών σε κυτταρικές καλλιέργειες
- Φυσικές πρωτεΐνες και γλυκοπρωτεΐνες
- Εκκρίνονται από τα ευκαρυωτικά κύτταρα σε απάντηση σε ιογενείς λοιμώξεις, νεοπλασίες
- Μέρος της ελικοειδούς οικογένειας των κυτταροκινών



Τύποι ιντερφερονών

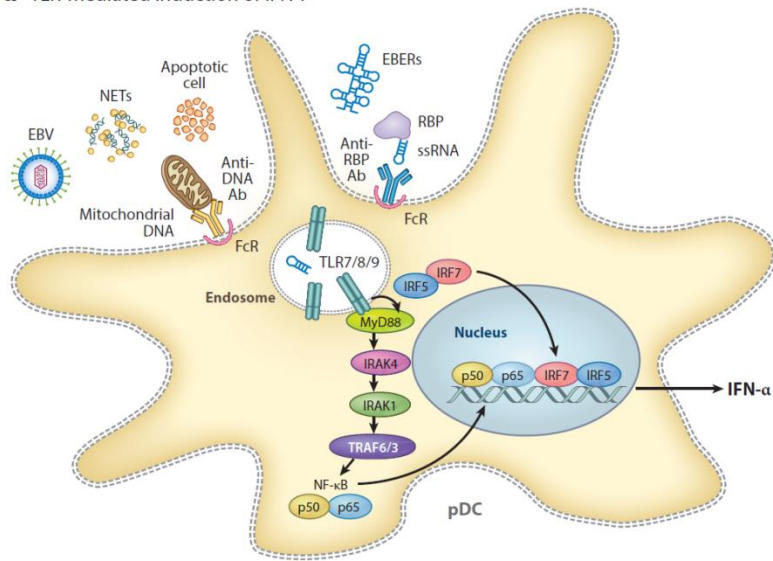
Τύπος I	Τύπος II	Τύπος III
13 IFNα's, IFNβ, IFNκ, IFNε, IFNω, IFNδ, IFNζ	IFNγ	IFNλs (IL-28α and β, IL-29)
Χρωμόσωμα 9	Χρωμόσωμα 12	
Παράγεται κατά τη διάρκεια μηχανισμών φυσικής ανοσίας- Προστασία από την εισβολή ιών	Παράγεται κατά τη διάρκεια επίκτητων ανοσολογικών αποκρίσεων	Παρόμοιες δράσεις με τον τύπο I, διαφορετικός υποδοχέας
Πλασματοκυτταροειδή δένδριτικά κύτταρα, ινοβλάστες, επιθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα	NK, T κύτταρα, μυελοειδή δένδριτικά κύτταρα, μακροφάγα	Πλασματοκυτταροειδή δένδριτικά κύτταρα

Παραγωγή και σηματοδότηση ιντερφερονών τύπου I

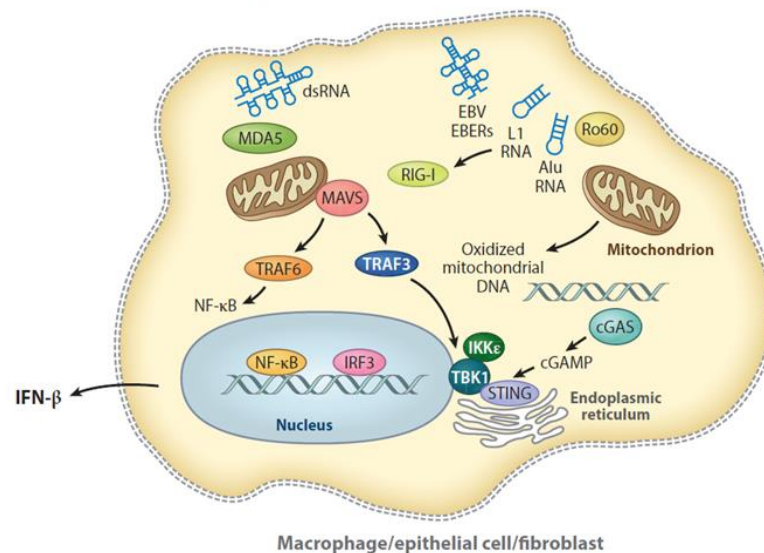


Κύριοι παραγωγείς ιντερφερονών τύπου Ι

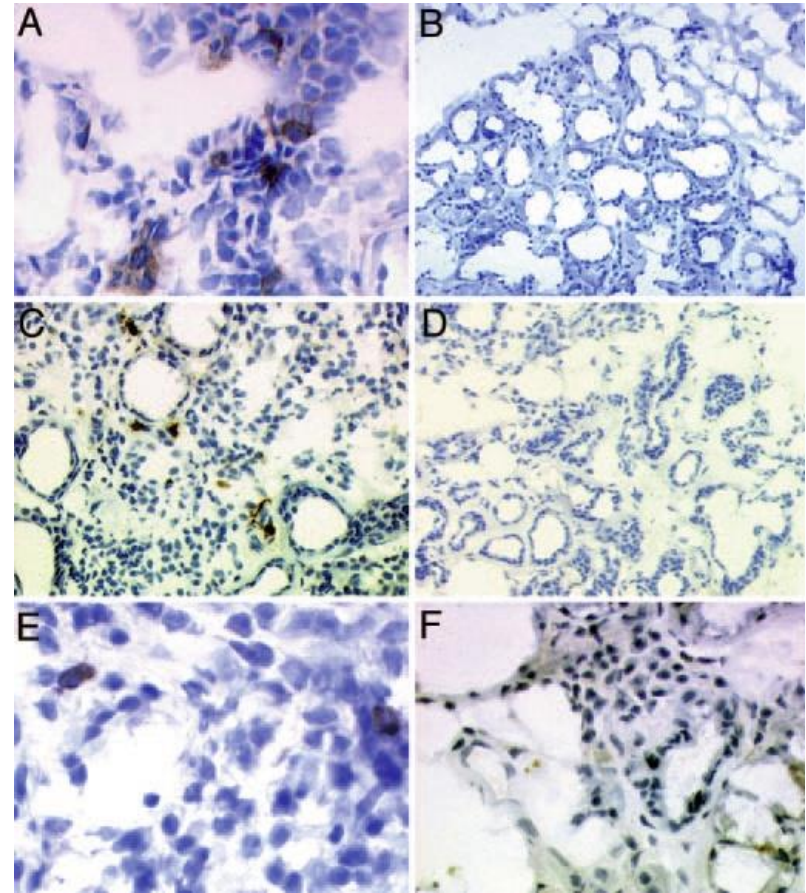
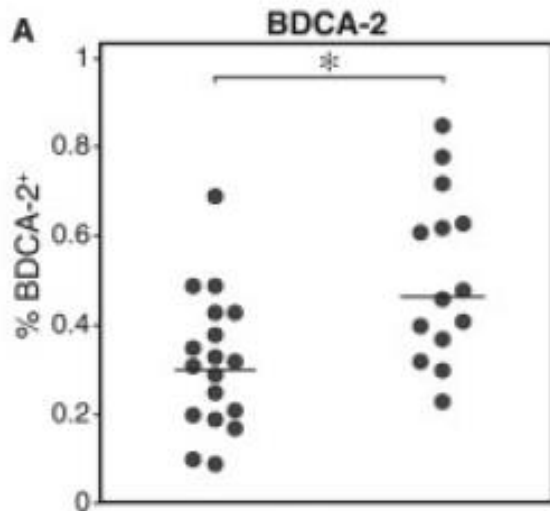
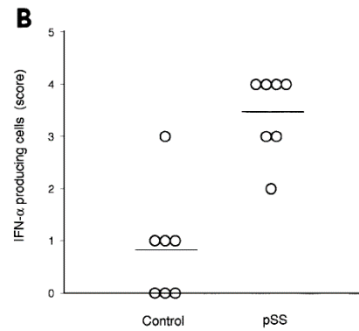
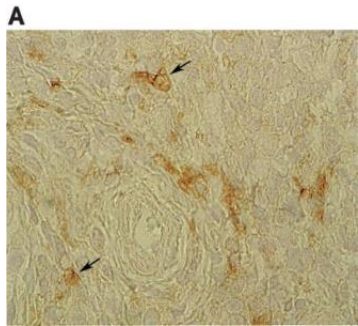
a TLR-mediated induction of IFN-I



b Cytosolic sensor-mediated induction of IFN-I



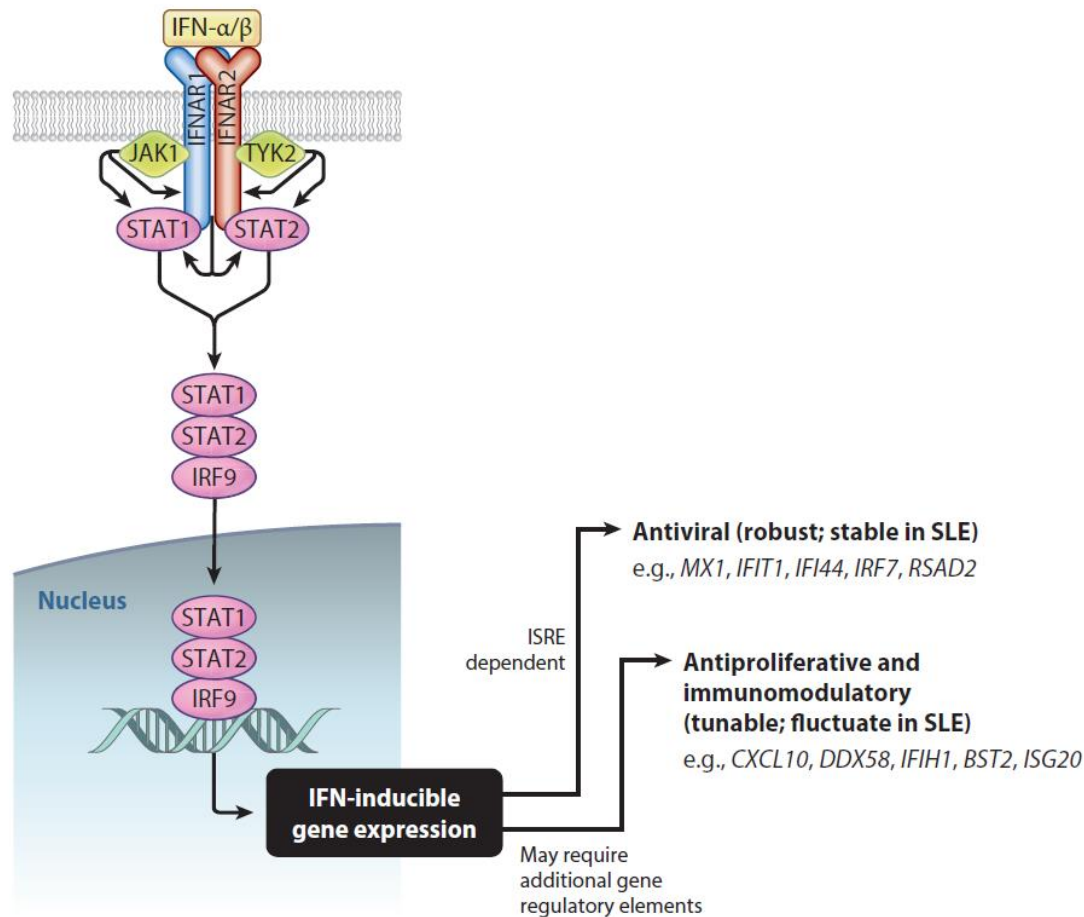
Ιντερφερόνη τύπου Ι και σύνδρομο Sjogren



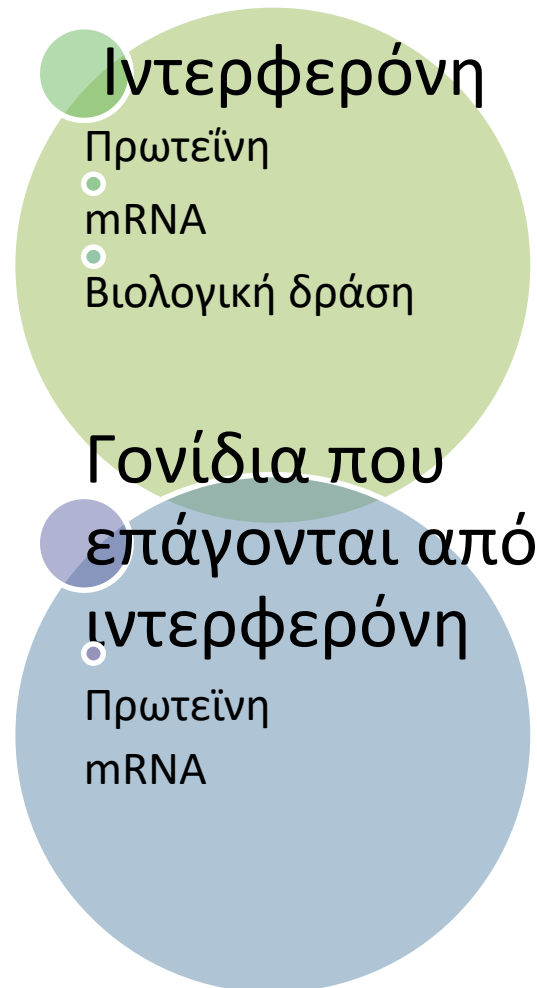
Båve U, Arthritis Rheum. 2005 ;52:1185-95

Gottenberg JE, Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 21;103(8):2770-5.

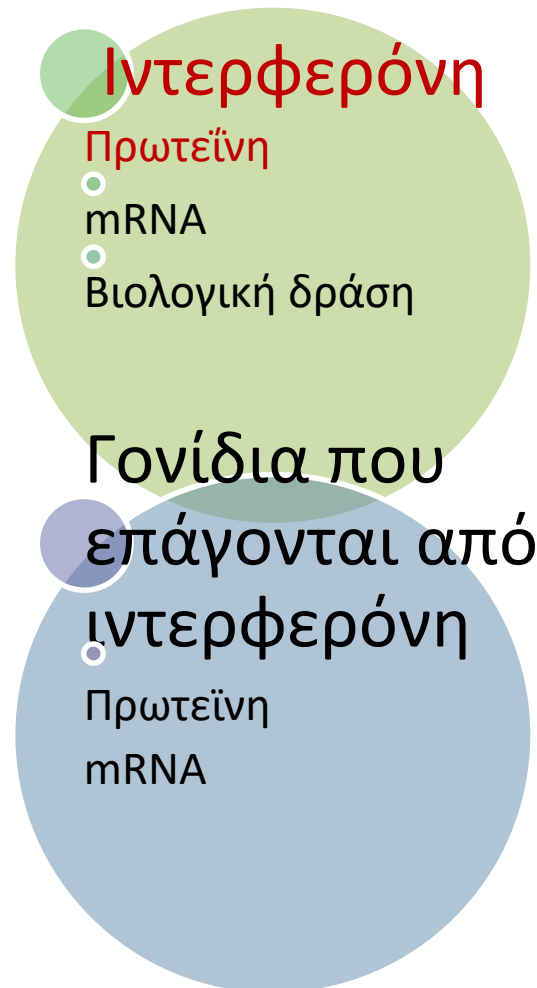
Σηματοδότηση τύπου Ι ιντερφερόνης μέσω σύνδεσης με τον υποδοχέα IFNα/β



Τύπου I ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης



Τύπου I ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης



Μέτρηση παραγόμενης πρωτεΐνης σε περιφερικό αίμα ή πλάσμα

Προβλήματα

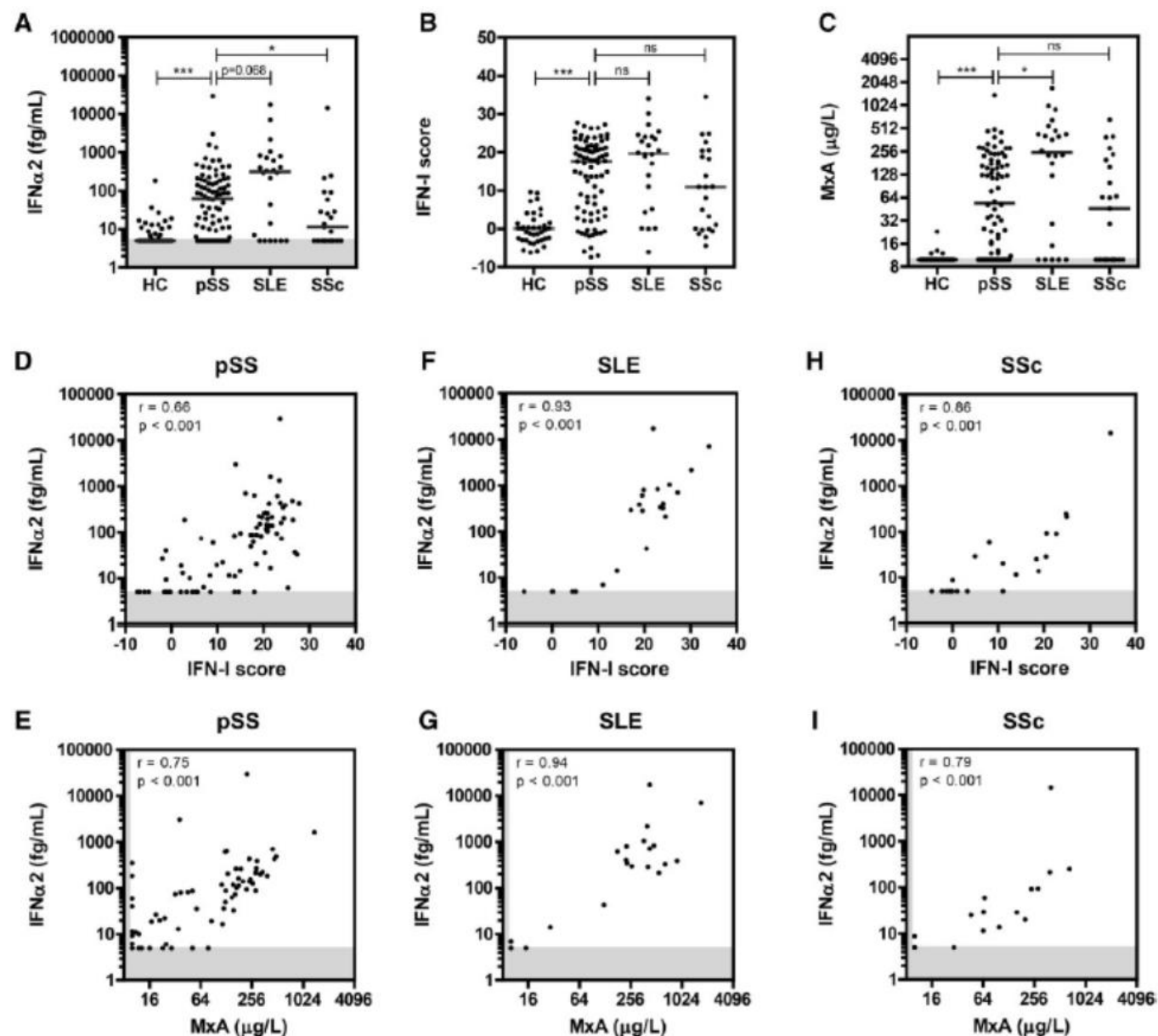
- η παρουσία πολλών υποτύπων
- αρχικές τεχνικές ELISA , πολύ μειωμένη ευαισθησία
- Simoa (Ultrasensitive single-molecule array) αυξημένο κόστος, μεγάλη ευαισθησία

Original article

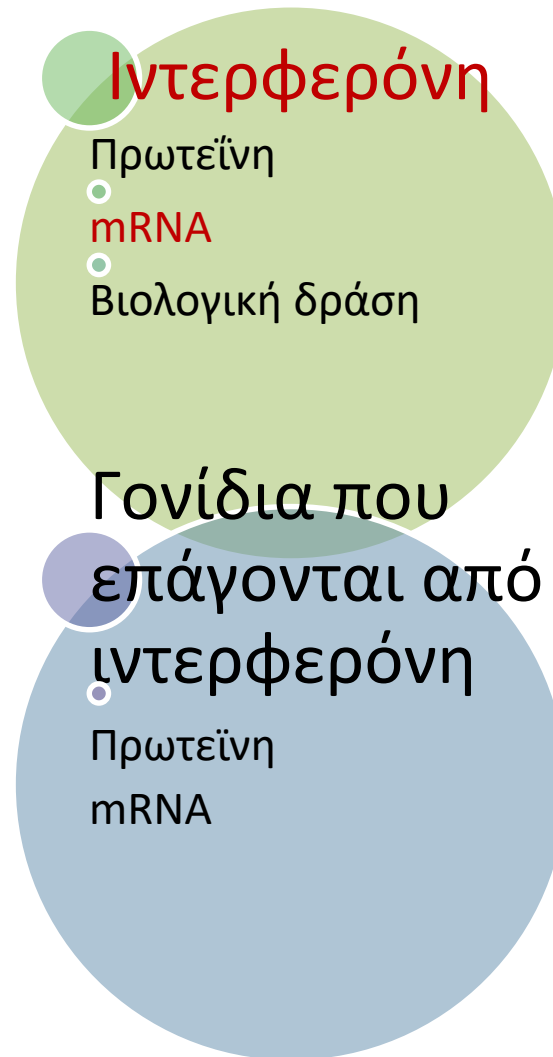
Serum interferon- α 2 measured by single-molecule array associates with systemic disease manifestations in Sjögren's syndrome

Erika Huijser¹, Jens Göpfert², Zana Brkic³,
Cornelia G. van Helden-Meeuwsen¹, Sanne Jansen¹, Thomas Mandl⁴,
Peter Olsson⁴, Benjamin Schrijver^{1,5}, Marco W.J. Schreurs^{1,5},
Paul L.A. van Daele^{1,3}, Willem A. Dik^{1,5,*} and Marjan A. Versnel^{1,*}

Fig. 1 Serum IFN- α 2 concentrations positively correlated with blood ISG expression in pSS, SLE and SSc



Τύπου I ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης

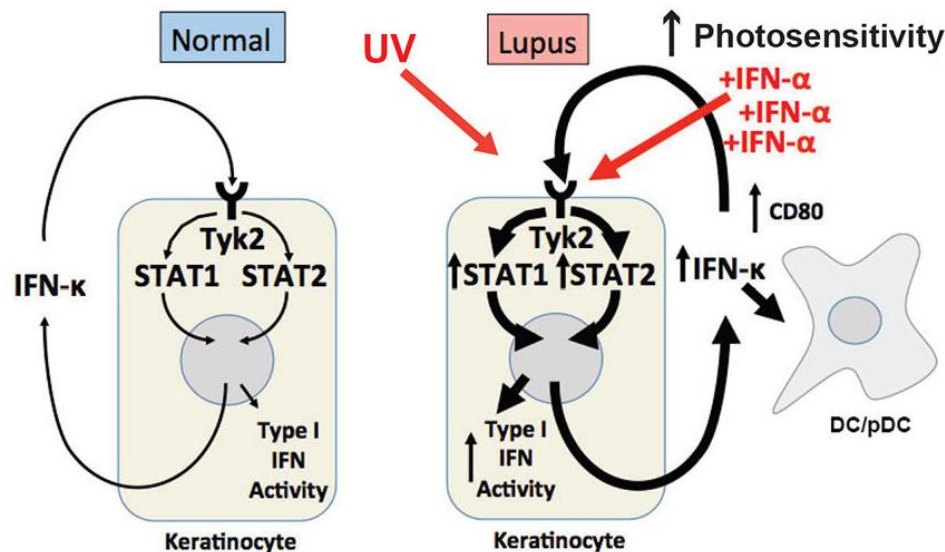
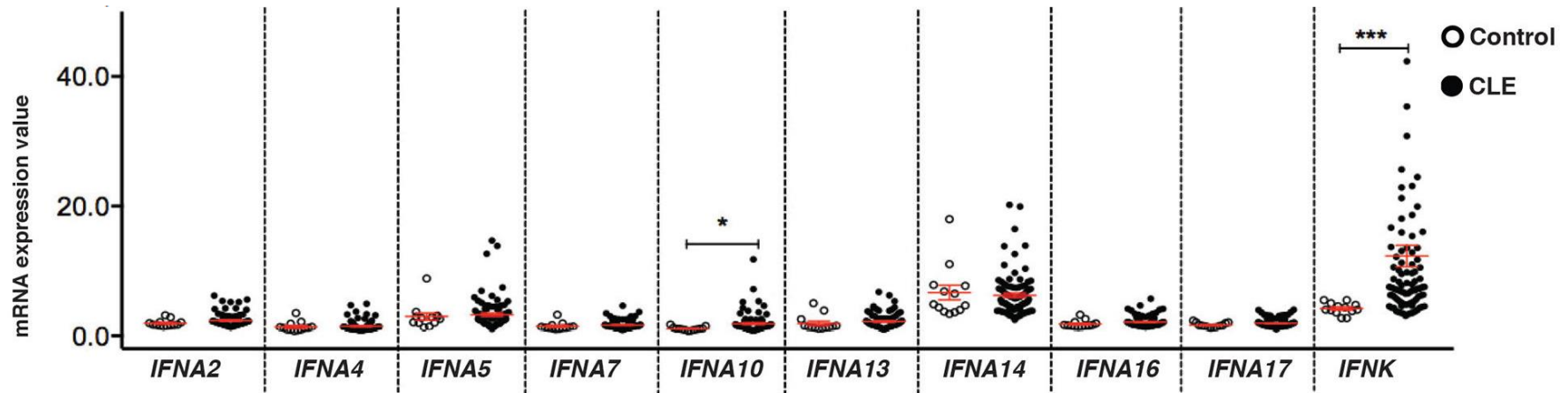


Μέτρηση παραγόμενων ιντερφερονών mRNA

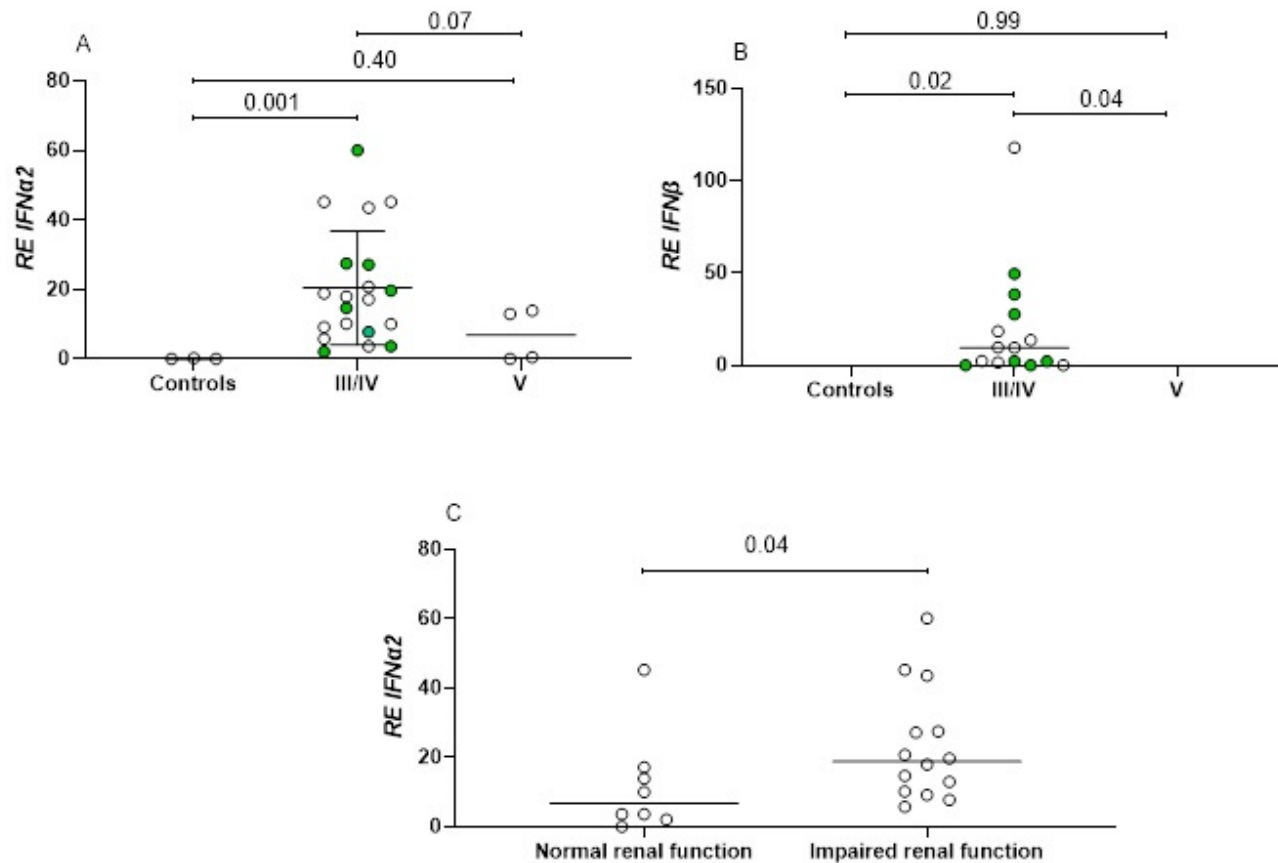
- Real time PCR/RNA seq
- Απουσία σε περιφερικό αίμα- συσσώρευση στους ιστούς
- Δυνατότητα ανίχνευσης πολλών υποτύπων

Photosensitivity and type I IFN responses in cutaneous lupus are driven by epidermal derived interferon kappa

MK Sarkar¹, GA Hile^{2,3}, LC Tsoi^{1,4,5}, X Xing¹, J Liu², Y Liang¹, CC Berthier⁶, WR Swindell¹, M Patrick¹, S Shuai¹, PS Tsou², R Uppala¹, MA Beamer¹, A Srivastava⁷, SL Bielas⁷, PW Harms^{1,8}, S Getsios⁹, JT Elder¹, JJ Voorhees¹, JE Gudjonsson^{#1}, and JM Kahlenberg^{#2}



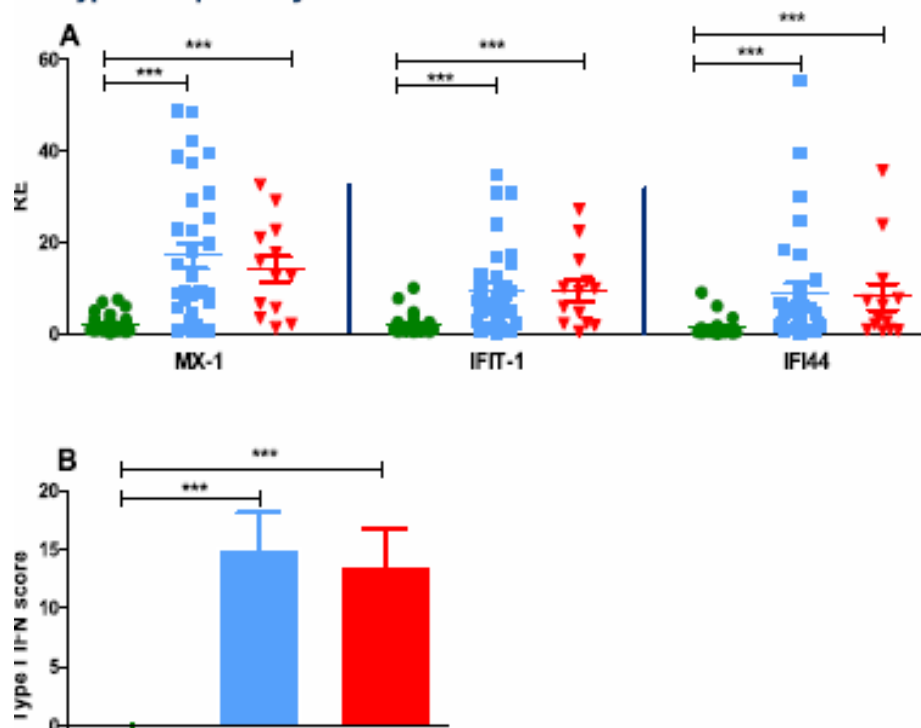
Ιντερφερόνη τύπου Ι και νεφρίτιδα του λύκου



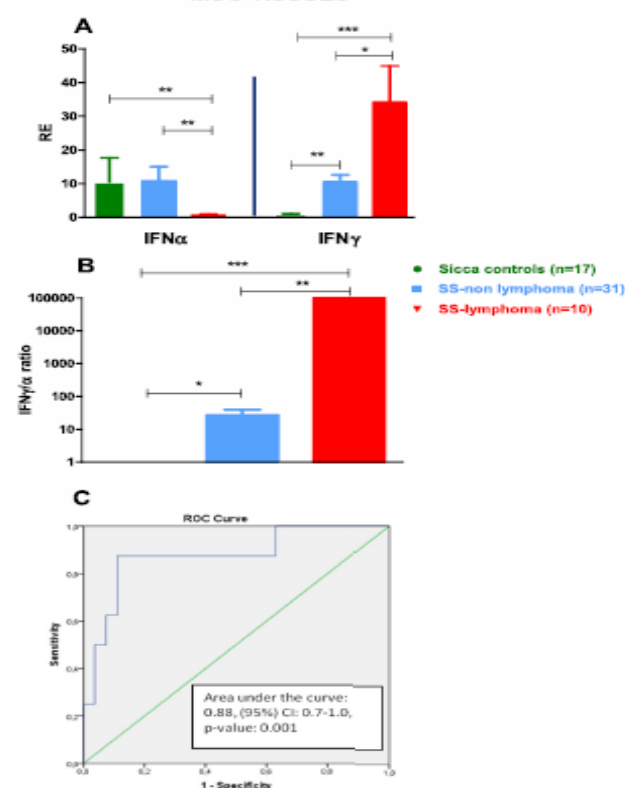
Type I and II interferon signatures in Sjogren's syndrome pathogenesis: Contributions in distinct clinical phenotypes and Sjogren's related lymphomagenesis

Adrianos Nezos^a, Fotini Gravani^b, Anna Tassidou^c, Efstathia K. Kapsogeorgou^d, Michael Voulgarelis^d, Michael Koutsilieris^a, Mary K. Crow^{e,1}, Clio P. Mavragani^{a, d, 1, *}

Type I IFN pathway

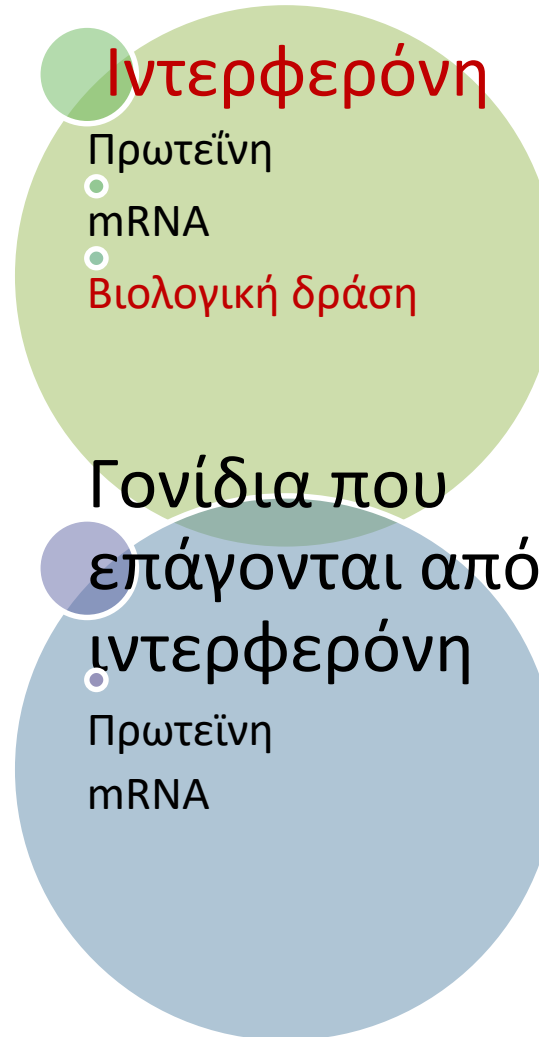


MSG TISSUES



Τύπου Ι ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης

Μέτρηση βιολογικής δράσης



Μέτρηση παραγόμενων ιντερφερονών Βιολογική δράση

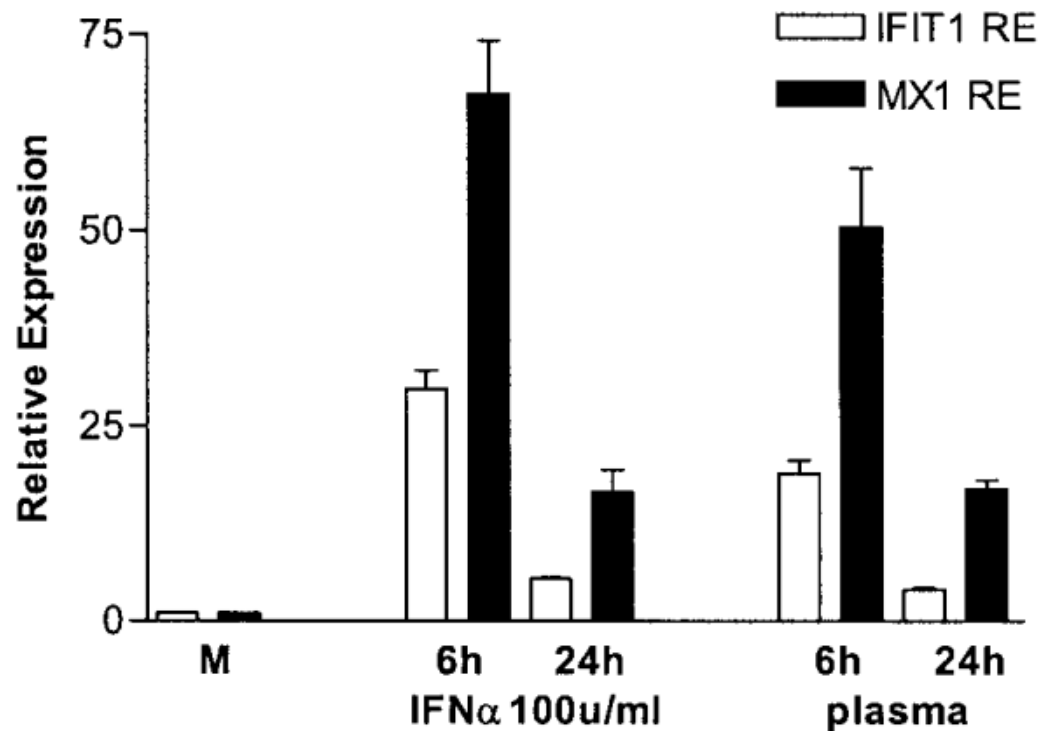
IMMUNE INTERFERON IN THE CIRCULATION OF PATIENTS WITH AUTOIMMUNE DISEASE

JOHN J. HOOKS, PH.D., HARALAMPOS M. MOUTSOPOULOS, M.D., SHIRLEY A. GEIS, M.S., NEIL I. STAHL, M.D.,
JOHN L. DECKER, M.D., AND ABNER LOUIS NOTKINS, M.D.

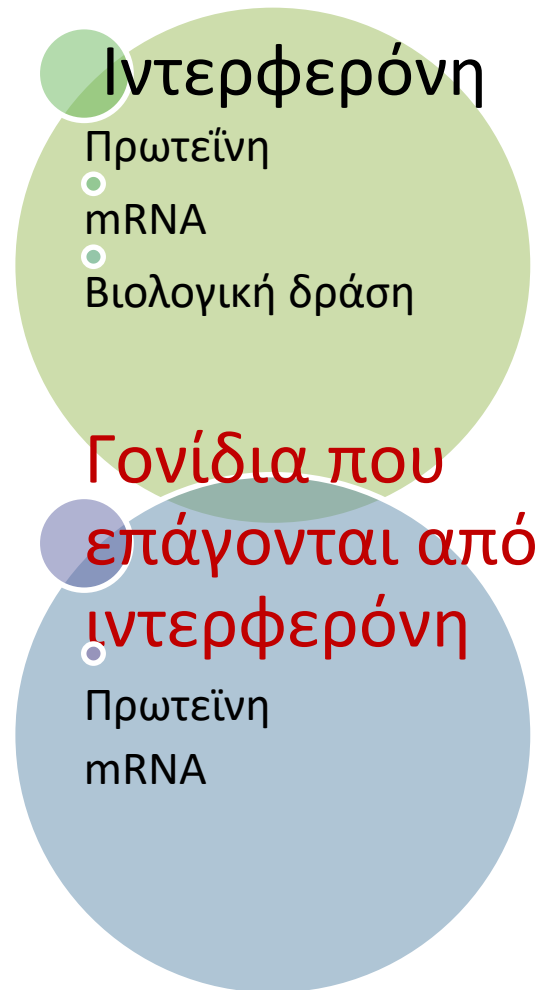
Ικανότητα του υπό εξέταση πλάσματος/ορού να αναστέλλει τον ιϊκό
πολλαπλασιασμό σε κυτταρικές καλλιέργειες

Μέτρηση παραγόμενων ιντερφερονών Βιολογική δράση (WISH Assay)

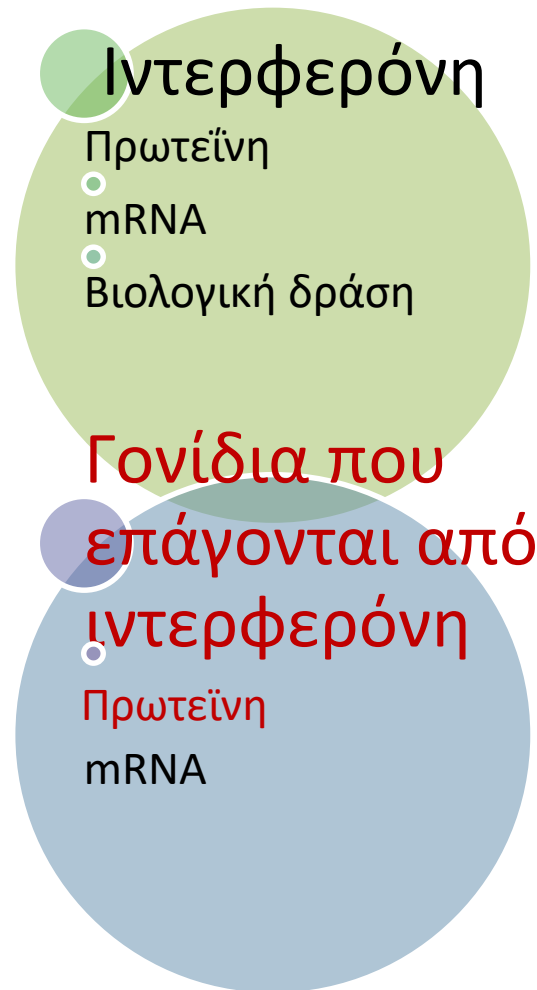
Ικανότητα του υπό εξέταση πλάσματος/ορού να επάγει γονιδια
σχετιζόμενα με το μονοπάτι του τύπου I ιντερφερόνης



Τύπου I ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης



Τύπου I ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης

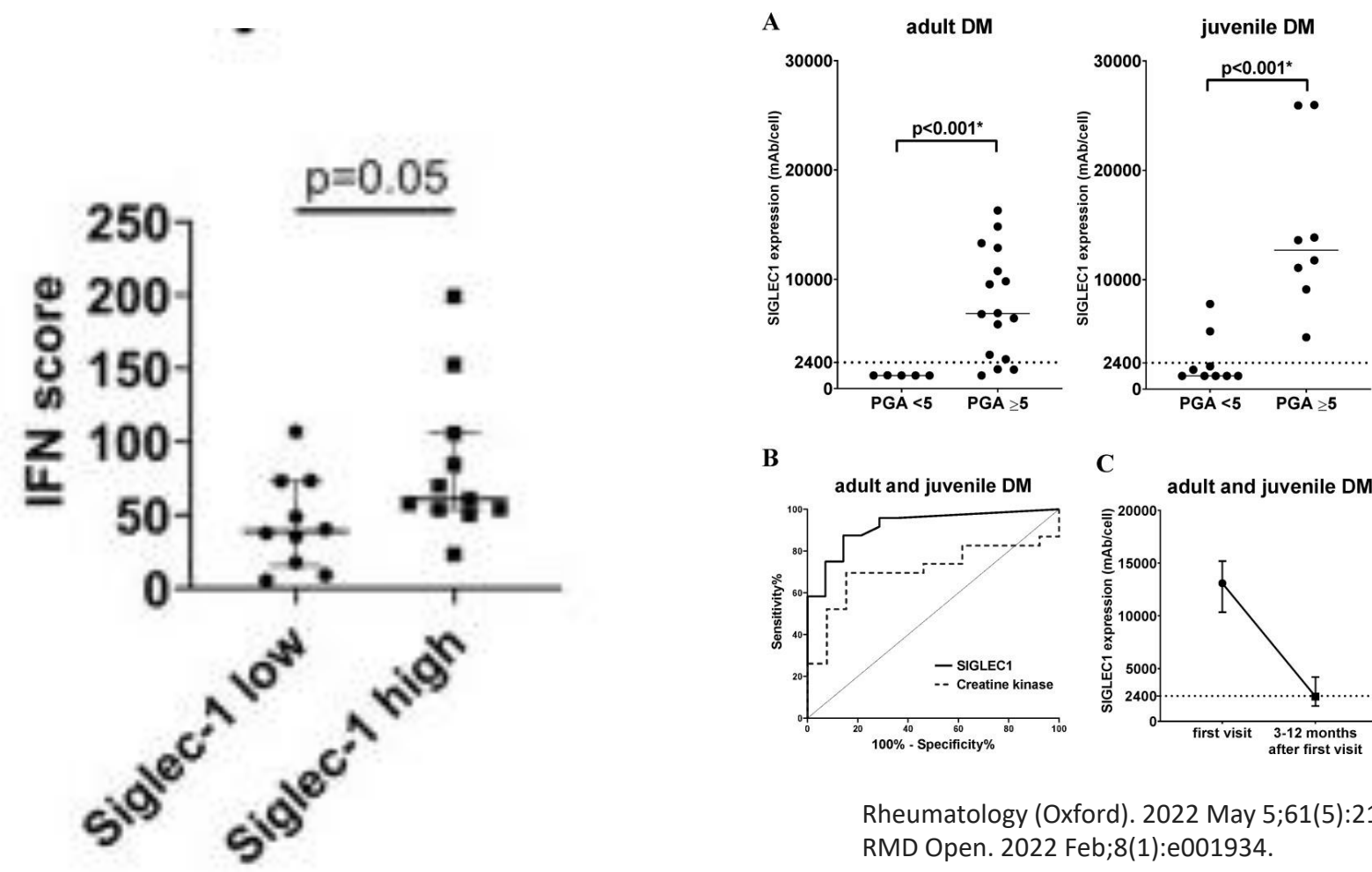


Μέτρηση πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από γονίδια που επάγονται από ιντερφερόνη τύπου I

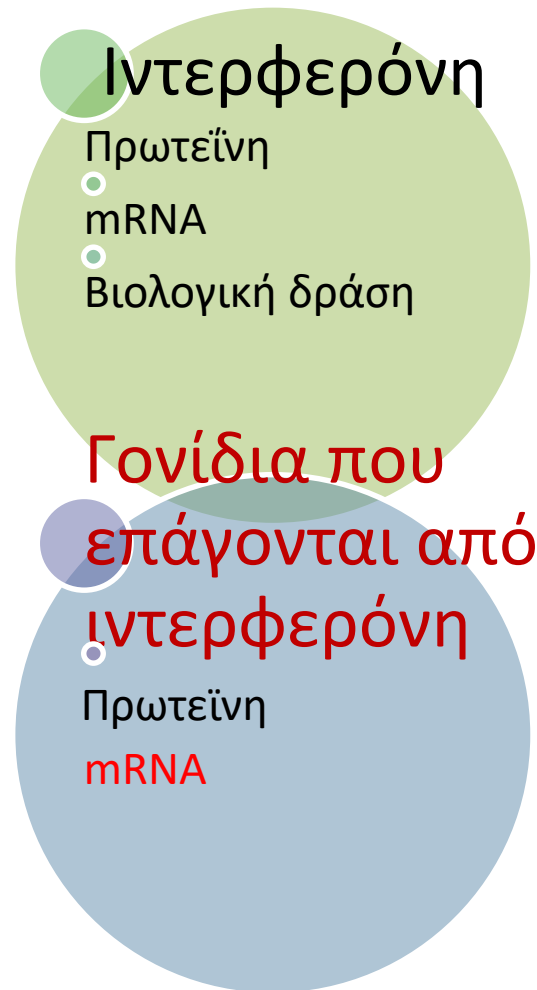
- ELISA
- Simoa
- RIA

Πρωτεΐνες στην επιφάνεια των κυττάρων (CD169/Siglec 1)

Κυτταρομετρία ροής (Flow cytometry)



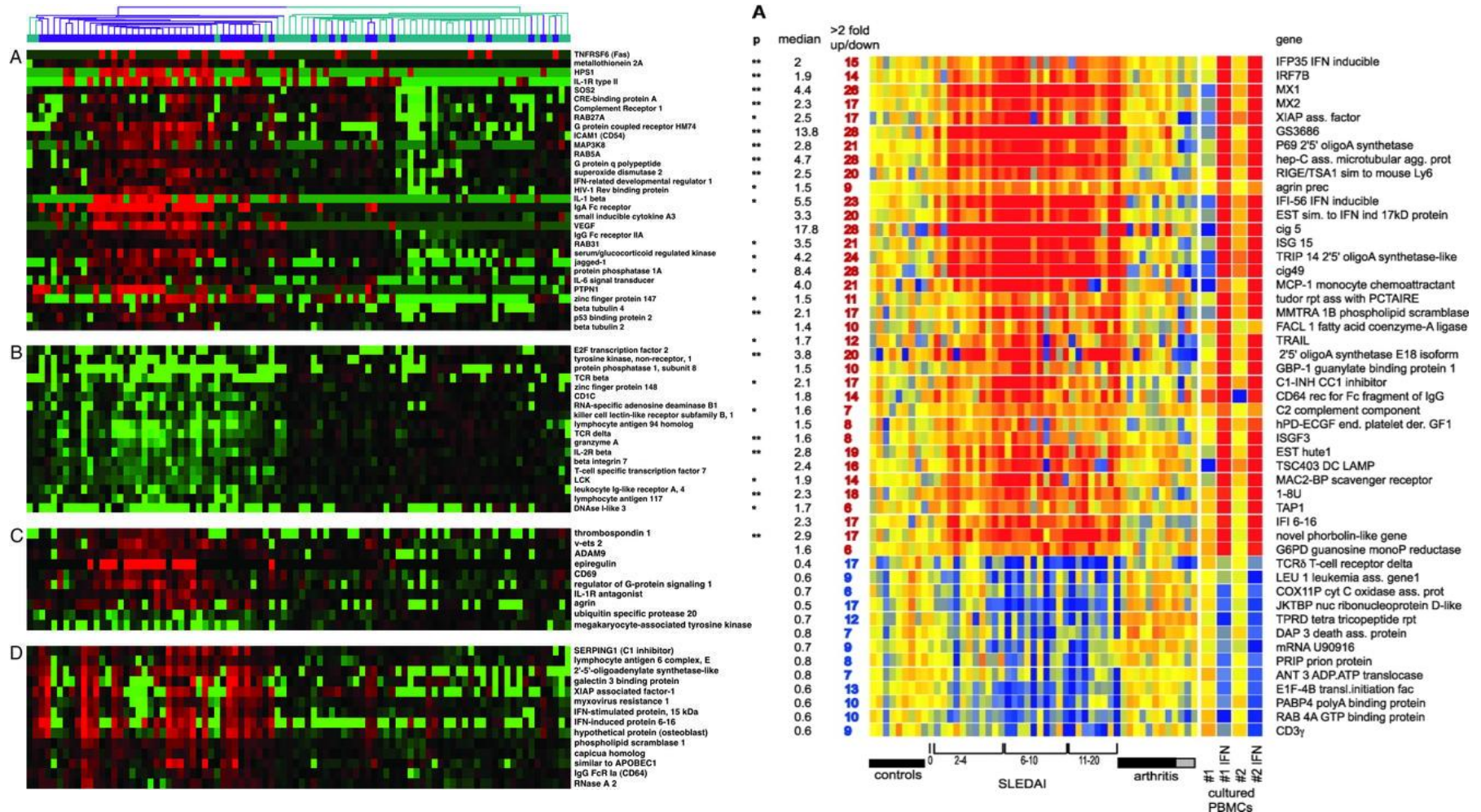
Τύπου I ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης



Μέτρηση μεταγράφων (mRNA) γονιδίων που επάγονται από ιντερφερόνη τύπου Ι

- Microarrays, Type I IFN scores (real time PCR), RNA seq

Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος- Ενεργοποίηση του συστήματος τύπου I ιντερφερόνης



Crow et al, Arthriis Res Ther, 2003

Bennett et al, J Exp Med, 2003

Baechler et al, Proc Natl Acad Sci U S A, 2003

Γονίδια τα οποία χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της ενεργότητας της ιντερφερόνης τύπου Ι

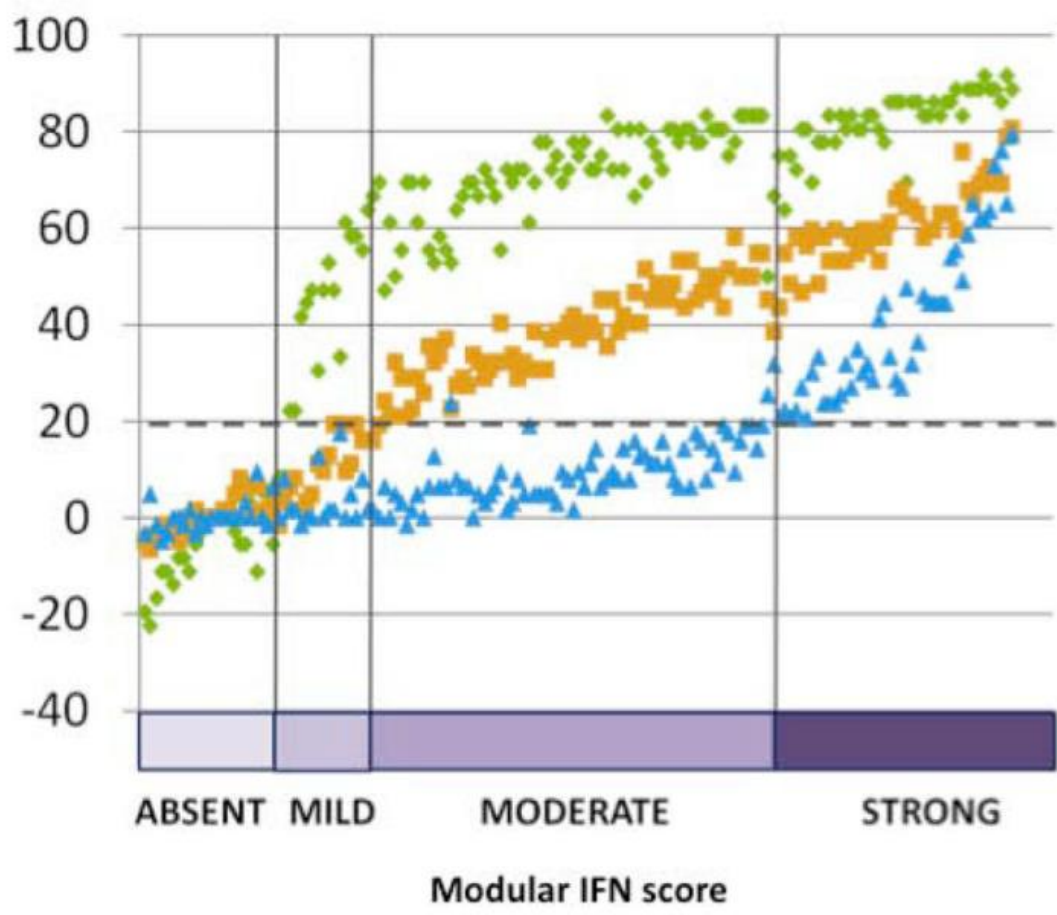
Table 1. Common interferon- α -inducible genes in systemic lupus erythematosus patients.

Gene Symbol	Entrez Gene Name	Subcellular Locations ¹	SLE Subsets
IFI27	Interferon alpha-inducible protein 27	Nucleus, mitochondrion	myeloid cell, T cell
IFI44L	Interferon-induced protein 44-like	Cytosol, nucleus	myeloid cell, T cell, B cell
IFI44	Interferon-induced protein 44	Nucleus, mitochondrion	myeloid cell, T cell, B cell
RSAD2	Radical S-adenosyl methionine domain containing 2	Endoplasmic reticulum, mitochondrion	myeloid cell, T cell, B cell
IFIT1	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3	Cytosol	myeloid cell, T cell
LY6E	Lymphocyte antigen 6 complex, locus E	Extracellular, plasma membrane	T cell
EPSTI1	Epithelial stromal interaction 1	Cytosol	unknown
OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3	Cytosol, nucleus, plasma membrane	myeloid cell, T cell, B cell
OAS1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 1	Cytosol, nucleus	T cells
ISG15	ISG15 ubiquitin-like modifier	Cytosol, nucleus, extracellular	myeloid cell, T cell, B cell
PRKR	Platelet-activating factor receptor	Nucleus, extracellular	unknown
SIGLEC1	Sialic acid binding Ig like lectin 1	Extracellular, plasma membrane, endosome	myeloid cells
MX1	Myxovirus (influenza virus) resistance 1	nucleus	myeloid cell, T cell, B cell
HERC5	Hect domain and RLD 5	cytoplasm	myeloid cells

Επαγωγή από τύπου I και II ιντερφερόνη

	<i>IFIT1</i>	<i>IFI44</i>	<i>PRKR</i>	<i>C1orf29</i>	<i>MX1</i>	<i>Mig</i>
IFN α 500 units/ml	12.79	3.01	4.49	28.92	138.2	0.59
IFN γ 500 units/ml	2.79	2.87	1.37	11.14	23.03	995.73

IFN modules activity
(% difference)



IFN modules

- M1.2
- M3.4
- M5.12

IFN modules		M1.2	M3.4	M5.12
SLEDAI score				
	spearman correlation	0.05	0.12	0.21
	<i>p-value</i>	<i>0.54</i>	<i>0.13</i>	<i>0.008</i>
Flare (no flare, mild/moderate flare, or severe flare)				
	spearman correlation	0.12	0.2	0.28
	<i>p-value</i>	<i>0.13</i>	<i>0.012</i>	<i>0.0003</i>
Cutaneous flare				
	spearman correlation	0.11	0.15	0.21
	<i>p-value</i>	<i>0.17</i>	<i>0.05</i>	<i>0.01</i>
Articular flare				
	spearman correlation	−0.13	−0.024	0.023
	<i>p-value</i>	<i>0.11</i>	<i>0.77</i>	<i>0.77</i>
Hematological flare				
	spearman correlation	−0.012	−0.043	0.055
	<i>p-value</i>	<i>0.13</i>	<i>0.6</i>	<i>0.5</i>
Renal flare				
	spearman correlation	0.066	0.13	0.22
	<i>p-value</i>	<i>0.41</i>	<i>0.1</i>	<i>0.007</i>
Anti-dsDNA titer				
	spearman correlation	0.28	0.26	0.19
	<i>p-value</i>	<i>0.0007</i>	<i>0.0015</i>	<i>0.002</i>
Low C3 or C4				
	spearman correlation	0.072	0.086	0.12
	<i>p-value</i>	<i>0.37</i>	<i>0.29</i>	<i>0.14</i>

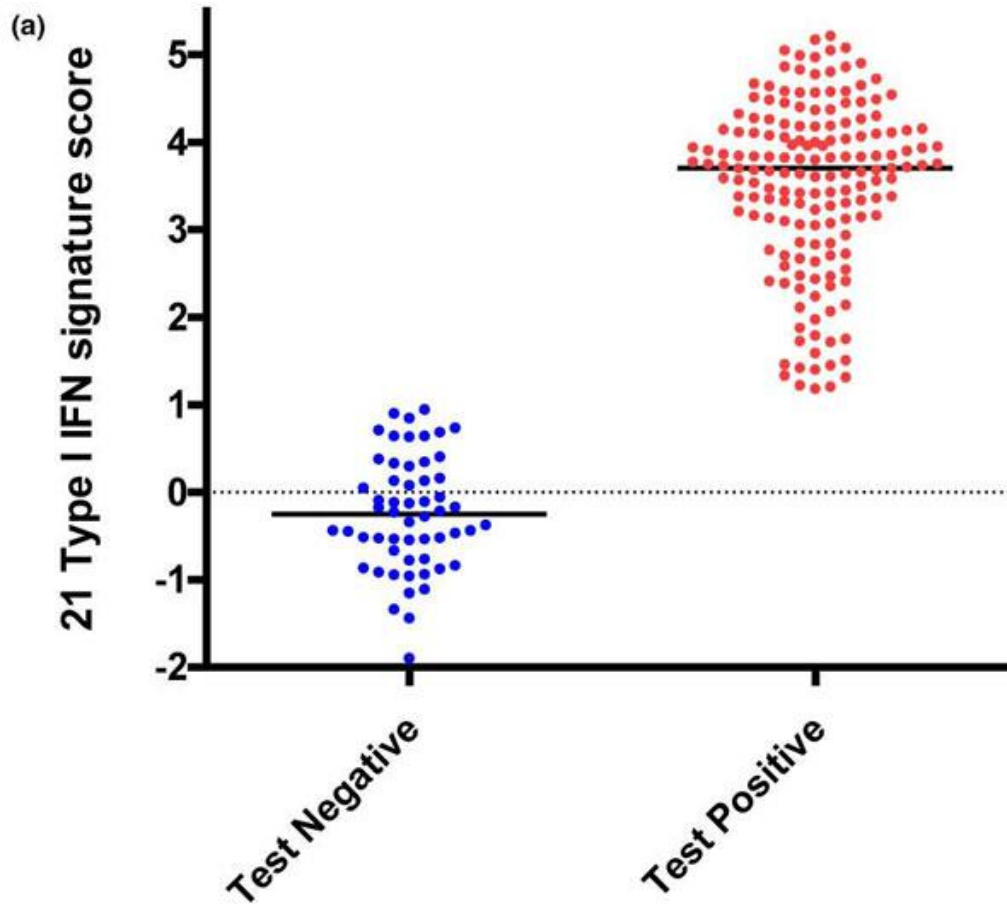
Type I IFN score

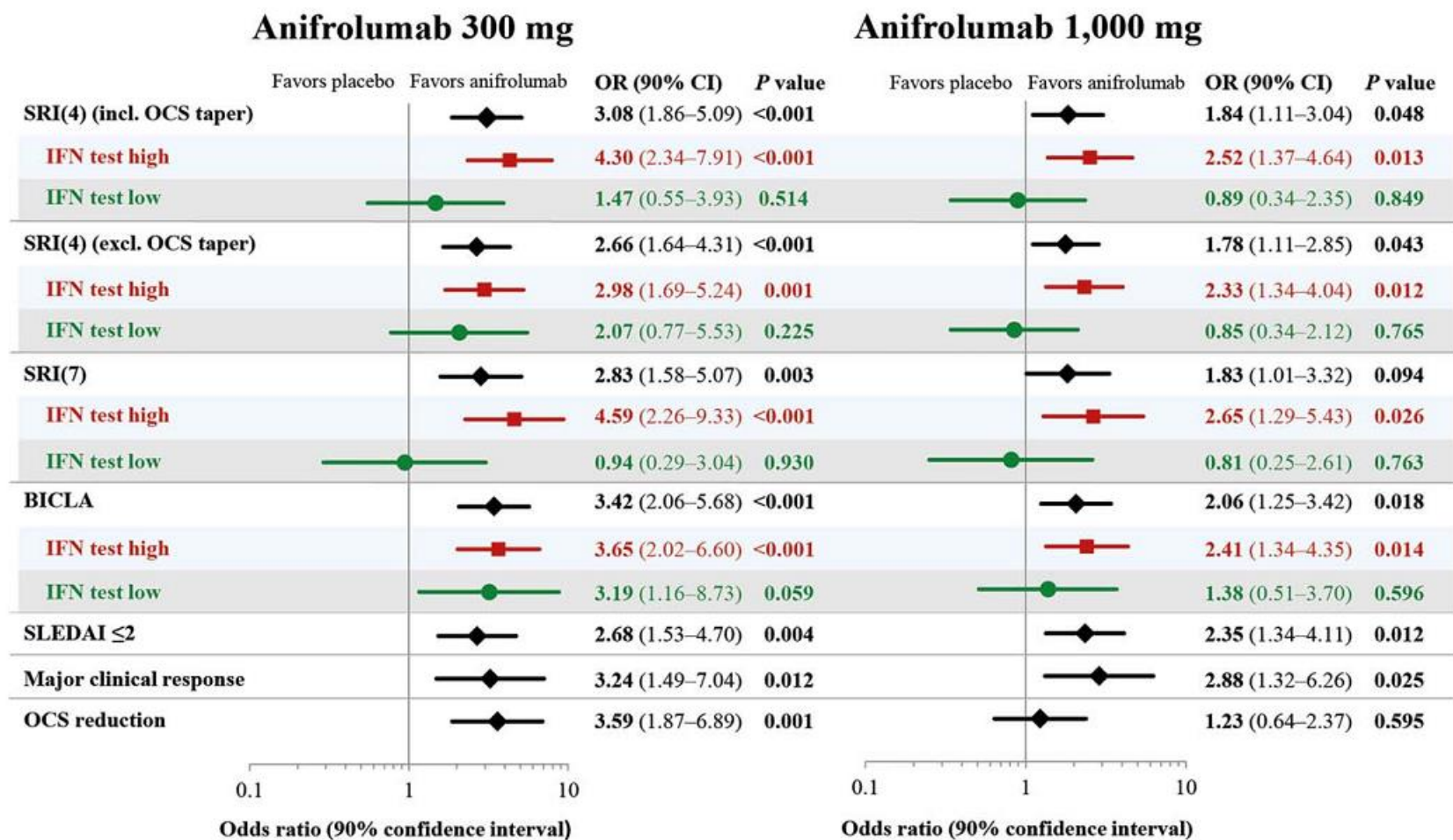
- Αθροισμα των SD άνω του μεσου όρου υγιών μαρτύρων για κάθε γονίδιο
- *PKR, IFIT1, IFI44, MX-1*
- *IFI27, IFI44, IFI44L, RSAD2*

Arthritis & Rheumatism, 50: 3958-3967.

Arthritis Res Ther. 2010;12 Suppl 1(Suppl 1):S6.

IFN high vs low

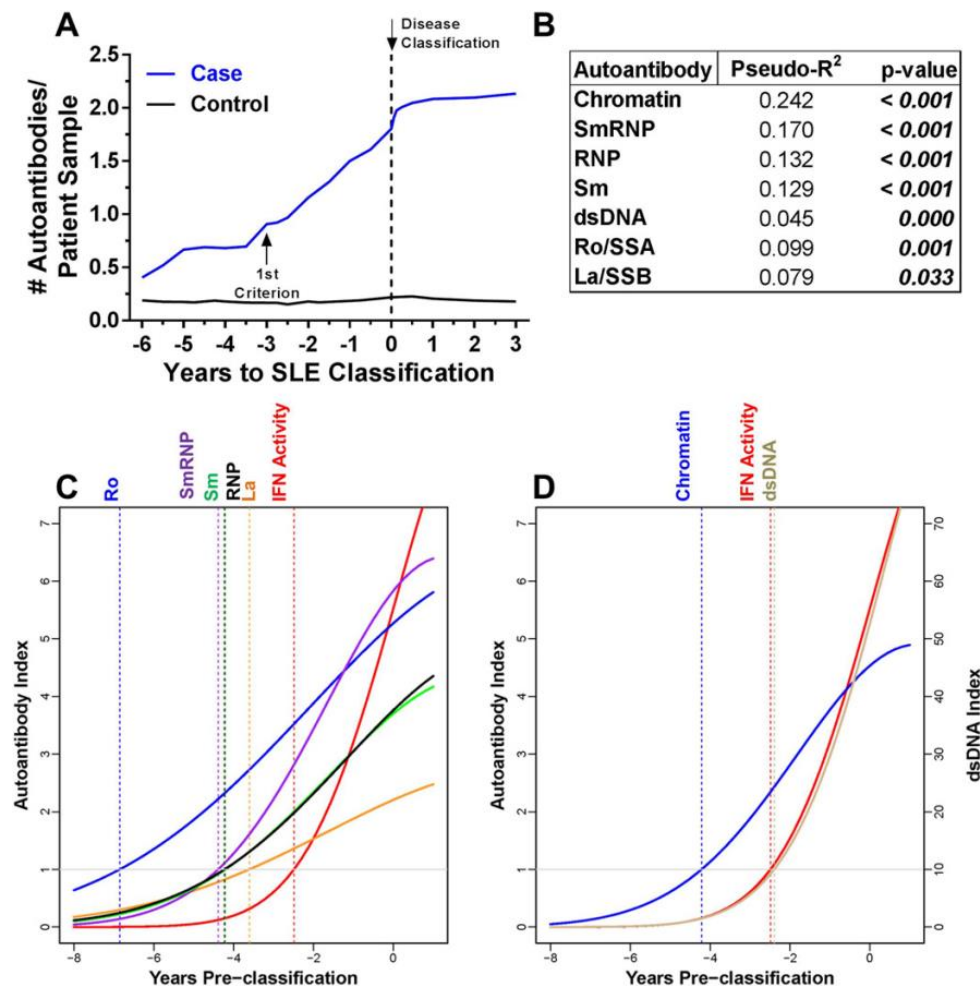


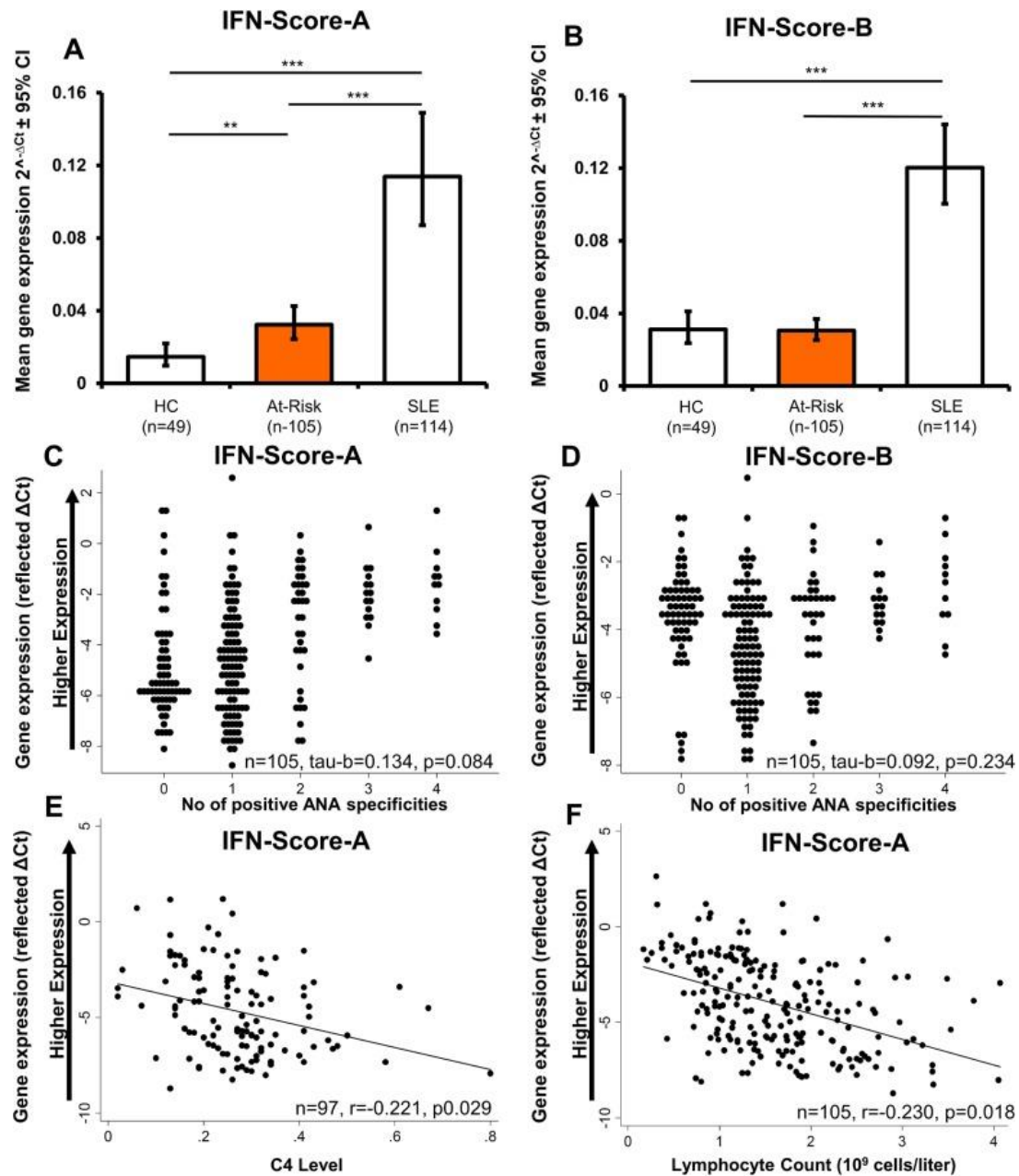


Ιντερφερόνη τύπου Ι, βιολογικές δράσεις και κλινικές συσχετίσεις στον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο

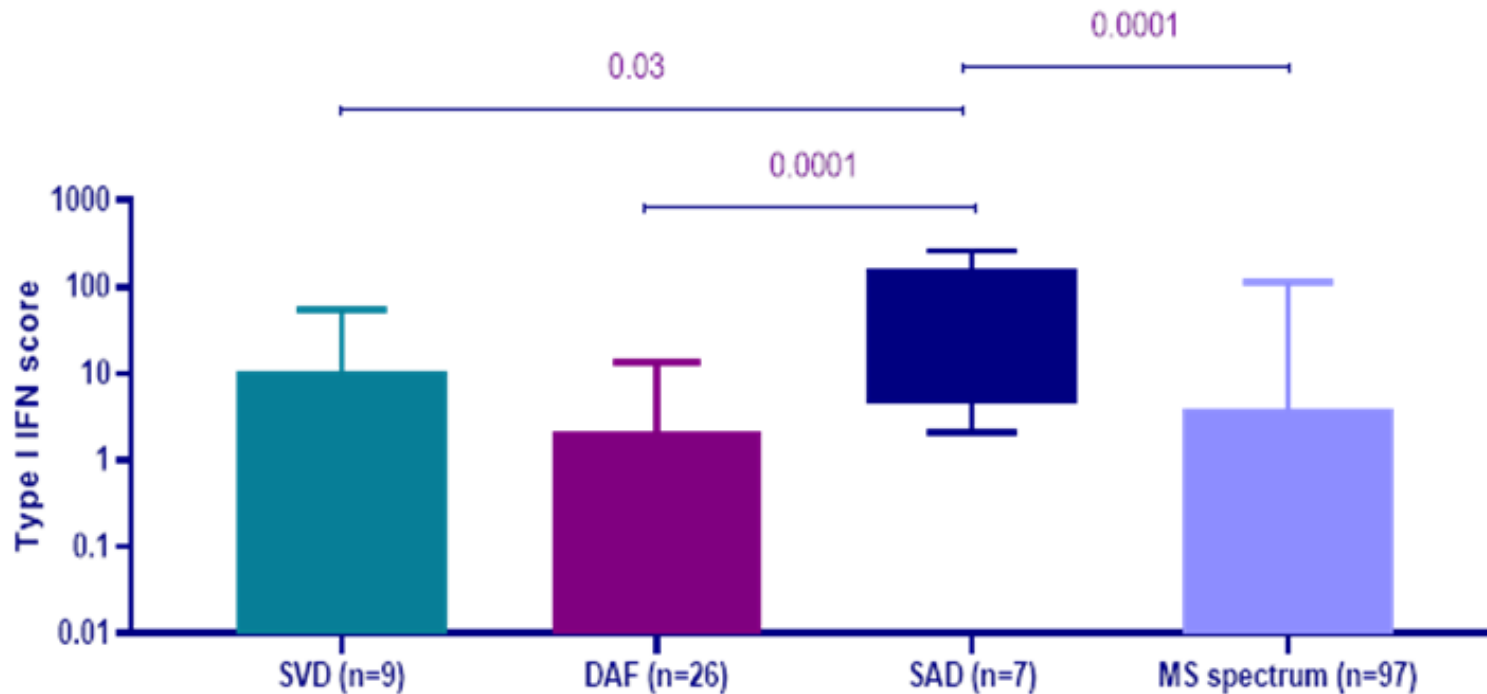
Variable	Beta Coefficient	Odds Ratio (95% C.I.)	P-value
Anti-RBP	2.54	12.71 (2.15, 75.11)	0.004
Renal	2.32	10.21 (1.81, 57.50)	0.007
Low complement (C)	2.00	7.38 (1.39, 39.20)	0.017
SDI	0.41	1.51 (1.01, 2.24)	0.038
HCQ	-1.59	0.20 (0.04, 1.09)	0.058
Caucasian	-1.58	0.21 (0.03, 1.29)	0.085

Αυτοαντισώματα και ιντερφερόνη τύπου I προηγούνται της κλινικής εμφάνισης σε ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο

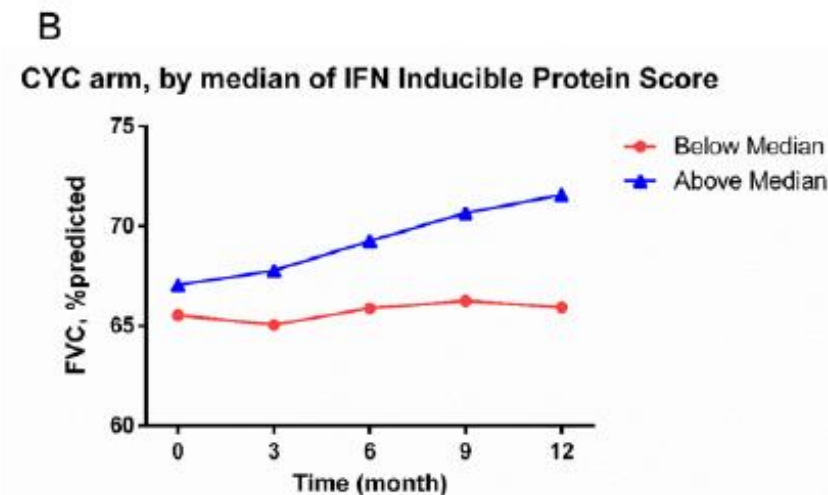
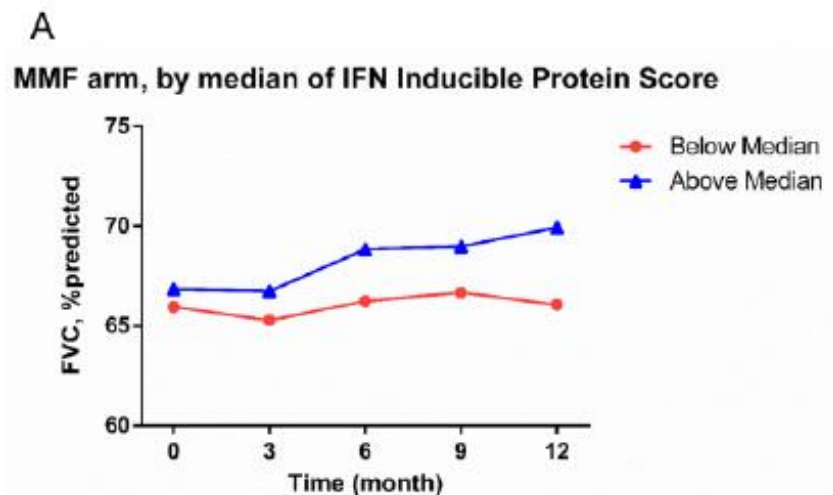




Increased type I IFN activity in patients presenting with MS-like features fulfilling criteria for systemic autoimmune disease



Προγνωστικός παράγοντας του IFN score στην ανταπόκριση σε θεραπεία με MMF ή κυκλοφωσφαμίδη ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα και διάμεση πνευμονοπάθεια



Τύπου Ι ιντερφερόνη: Μέθοδοι ανίχνευσης

