



Doctoral Thesis

Light Chain Dimers Acquire Amyloidogenic Properties in the Absence of Selection

Author(s):

Ravasio, Sara

Publication Date:

2019

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-b-000367098> →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 25870

**LIGHT CHAIN DIMERS ACQUIRE AMYLOIDOGENIC
PROPERTIES IN THE ABSENCE OF SELECTION**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCE of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)
Presented by

SARA RAVASIO

M.Sci. Medical Chemistry and Pharmaceutical Technology
University of Pavia, Italy

born on 23.04.1990
citizen of Italy

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Federica Sallusto, examiner
Prof. Dr. Antonio Lanzavecchia, co-examiner
Prof. Dr. Paola Picotti, co-examiner
Prof. Dr. Giampaolo Merlini, co-examiner

2019

3. Abstract

3.1 Summary

It is well established that immunoglobulin Light (L) chains dimers, also known as Bence-Jones (BJ) proteins, are secreted by normal and malignant plasma cells (PCs) and, when produced in large amounts, can aggregate into amyloid fibrils in target tissues leading to organ failure and to the clinical manifestation of Immunoglobulin Light Chain amyloidosis (AL amyloidosis). The unique identity of the pathogenic L chain belonging to each AL amyloidosis patient, which originates from the mechanisms of generation of antibody diversity, has considerably hindered the identification of the structural determinants of L chains aggregation and consequent clinical manifestations.

The aim of my thesis is to examine AL amyloidosis from the B cell perspective, considering that in developing B cell clones, L chain variable (VL) domains undergo a process of somatic mutation and are selected for pairing with variable Heavy (H) chain (VH) domains to form a functional B cell receptor (BCR).

Therefore, by comparing the effect of L chains hetero-dimerization with H chains to L chains homo-dimerization, I could show that free L chains, which are not subject to antigen-driven selection, are intrinsically unstable and are characterized by the exposure of hydrophobic patches and free thiols; their instability is substantially increased by somatic mutations, leading to aggregation into Congo Red (CR)- and Thioflavin T (ThT)- positive amyloid fibers. I could also show that free L chains have unique specificities and can bind to cells and to the extracellular matrix, a property that may increase their local concentration and drive the nucleation phase of amyloid aggregation in the target tissues.

Taken together, these findings demonstrate that, in the absence of a negative selection mechanism, L chain dimers develop through somatic mutations into rogue proteins, leading to their concentration-dependent aggregation and organ accumulation. Consequently, these results suggest that a plausible explanation of AL amyloidosis pathogenesis could be represented by the deleterious combination of a break of tolerance with a break of protein homeostasis.

3.2 Riassunto

Le catene leggere immunoglobuliniche, note anche come proteine di Bence-Jones (BJ), sono secrete da plasmacellule normali e tumorali e, se prodotte in elevate quantità, possono aggregare formando fibrille amiloidi localizzate in specifici tessuti, causando insufficienza d'organo e la

manifestazione clinica dell'amiloidosi delle catene leggere (amiloidosi AL). L'identità della catena leggera patogenica appartenente a ciascun paziente affetto da amiloidosi delle catene leggere, che ha origine dai meccanismi di generazione della diversità anticorpale, ha considerevolmente ostacolato l'identificazione dei determinanti strutturali dell'aggregazione delle catene leggere e dei conseguenti meccanismi alla base delle manifestazioni cliniche della patologia.

Lo scopo della mia tesi è quello di esaminare l'amiloidosi delle catene leggere dal punto di vista della risposta immunitaria sostenuta dai linfociti B, considerando che durante il loro sviluppo e maturazione, i domini variabili delle catene leggere (VL) subiscono un processo di mutazione somatica e sono selezionati per l'appaiamento con i domini variabili delle catene pesanti (VH) al fine di formare, sulla superficie dei linfociti B, un recettore funzionale (BCR).

Pertanto, confrontando l'effetto dell'etero-dimerizzazione delle catene leggere con le catene pesanti all'effetto dell'omo-dimerizzazione tra catene leggere, ho potuto dimostrare che le catene leggere, che, nella loro forma libera, non sono soggette alla selezione antigenica, sono intrinsecamente instabili e sono caratterizzate dall'esposizione di superfici idrofobiche e tioli liberi; la loro instabilità è notevolmente aumentata dalle mutazioni somatiche, che promuovono l'aggregazione in fibrille amiloidi positive al legame di Congo Rosso (CR) e Tioflavina T (ThT). I dati qui riportati dimostrano inoltre che le catene leggere hanno specificità uniche e possono legare antigeni cellulari e la matrice extracellulare, una proprietà che può contribuire ad aumentare la loro concentrazione locale e supportare la fase di nucleazione dell'aggregazione amiloide nei tessuti bersaglio.

Globalmente, questi risultati dimostrano che, in assenza di un meccanismo di selezione negativo, le catene leggere immunoglobuliniche, nella loro forma libera, divengono, mediante mutazioni somatiche, proteine atipiche, propense all'aggregazione dipendente dalla concentrazione e all'accumulo in organi bersaglio. Ne consegue che una plausibile spiegazione della patogenesi dell'amiloidosi delle catene leggere potrebbe essere rappresentata dalla deleteria combinazione di un fallimento dei meccanismi della tolleranza immunologica e di omeostasi proteica.