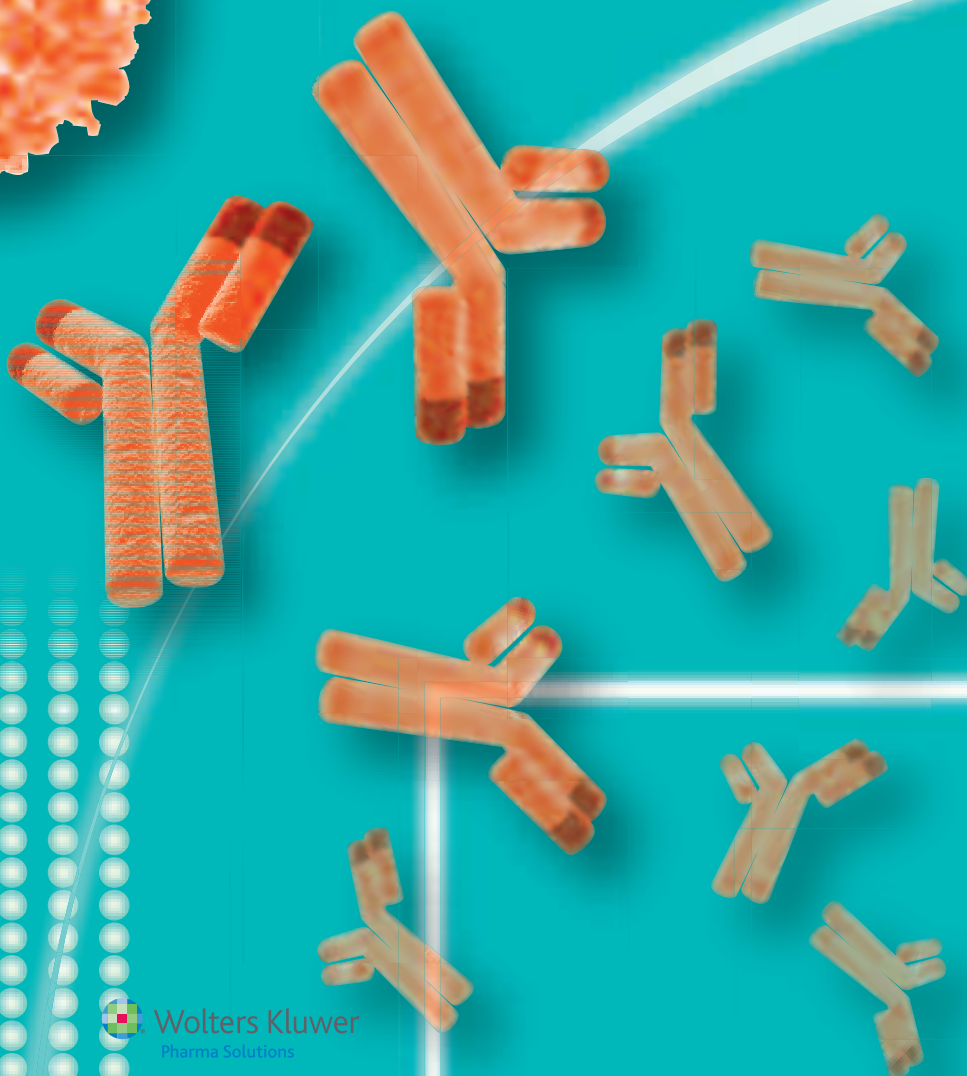
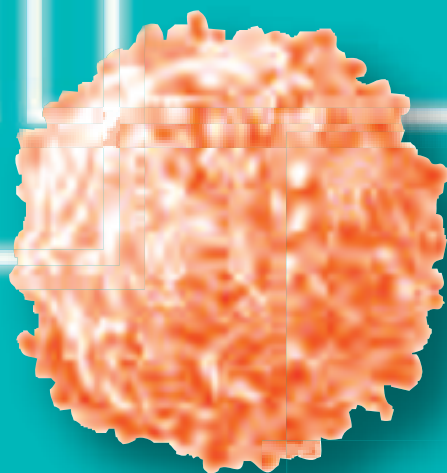


Linfociti B e autoanticorpi in artrite reumatoide



Indice

Artrite Reumatoide e sistema immunitario	3
I linfociti B: ruolo nella risposta immunitaria fisiologica e patologica	3
RF e anti-CCP: <i>biomarkers</i> dell'AR	6
Deplezione dei linfociti B con terapie biologiche	7
Rituximab e riduzione dei <i>biomakers</i> dell'AR	8
<i>Biomarkers</i> e risposta clinica a rituximab	9
Conclusioni	11
Bibliografia	13

Linfociti B e autoanticorpi in artrite reumatoide

Anno XII N. 17, dicembre 2009

ISSN 1974-6679

ISBN 978 88 7556 522 0

Comitato Editoriale

Laura Brogelli
Giuliana Gerardo
Claudio Oliveri
Siobhan Ward

Redazione

Rosy Bajetti

Produzione

Atlanta Biondi
Loredana Biscardi
Silvia Minora
Rita Sgreccia



Wolters Kluwer
Health

Adis

Wolters Kluwer Health Italy Ltd

Via B. Lanino, 5
20144 Milano

Via R. Gigante, 20
00143 Roma

© 2009 Wolters Kluwer Health

Therapy Perspectives. Registrazione del Tribunale di Milano n. 128 del 10 marzo 1997

Direttore responsabile: Giulio Zuanetti

Finito di stampare nel mese di dicembre 2009 da GECA S.p.A. (Cesano Boscone – MI)

Pubblicazione fuori commercio riservata alla Classe Medica

Tutti i diritti sono riservati, compresi quelli di traduzione in altre lingue. Nessuna parte di questa pubblicazione potrà essere riprodotta o trasmessa in qualsiasi forma o per mezzo di apparecchiature elettroniche o meccaniche, compresi fotocopiatura, registrazione o sistemi di archiviazione di informazioni, senza il permesso scritto da parte dell'Editore. L'Editore è disponibile al riconoscimento dei diritti di copyright per qualsiasi immagine utilizzata della quale non si sia riusciti a ottenere l'autorizzazione alla riproduzione.

Nota dell'Editore: nonostante la grande cura posta nel compilare e controllare il contenuto di questa pubblicazione, l'Editore non sarà ritenuto responsabile di ogni eventuale utilizzo di questa pubblicazione nonché di eventuali errori, omissioni o inesattezze nella stessa.

Ogni prodotto menzionato deve essere usato in accordo con il Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto fornito dalle Case Produttrici.

L'eventuale uso dei nomi commerciali ha soltanto lo scopo di identificare i prodotti e non implica suggerimento all'utilizzo.

Si ringrazia Roche S.p.A. per il contributo bibliografico fornito.

ROCCZZ8698

Artrite Reumatoide e sistema immunitario

L'Artrite Reumatoide (AR) è una malattia infiammatoria cronica, caratterizzata da sinovite persistente a livello delle articolazioni diartrodiali che determina distruzione della cartilagine, erosioni ossee e, in fase avanzata, deformità articolare (**Figura 1**)^[1].

L'AR ha una patogenesi autoimmune: l'alterazione dei meccanismi di riconoscimento cellulare, che normalmente permettono all'organismo di distinguere il "self" dal "non self", determina la produzione di autoanticorpi correlati alla malattia e al suo decorso a lungo termine.

Una conoscenza approfondita dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'insorgenza di fenomeni autoimmuni rappresenta quindi il punto di partenza per l'elaborazione di nuove terapie mirate.

Il sistema immunitario è una complessa rete di mediatori chimici e cellulari, che concorrono a difendere l'organismo da insulti chimici, traumatici o infettivi. La risposta immunitaria consiste di due fasi successive: in primo luogo l'identificazione delle strutture "non self" attraverso il riconoscimento di antigeni specifici, seguita da un'azione congiunta di linfociti e molecole solu-

bili, con l'obiettivo di rimuovere tali strutture dall'organismo^[2-4]. Un'errata regolazione di questa rete di interazioni può portare all'insorgenza di fenomeni di natura autoimmune. Il ruolo dei linfociti B è particolarmente importante in tali meccanismi^[3,4]; pertanto, queste cellule rappresentano un importante target terapeutico nel trattamento dell'AR^[3,4].

I linfociti B: ruolo nella risposta immunitaria fisiologica e patologica

I linfociti B svolgono molteplici azioni nella risposta immunitaria:

- presentazione dell'antigene alle cellule T, con la conseguente attivazione di queste ultime;
- sintesi di citochine pro-infiammatorie, come TNF, IL-6, linfotossina-alfa (**Figura 2**)^[2,5-7];
- produzione di anticorpi.

Figura 1. Articolazione normale e articolazione di un paziente affetto da AR.

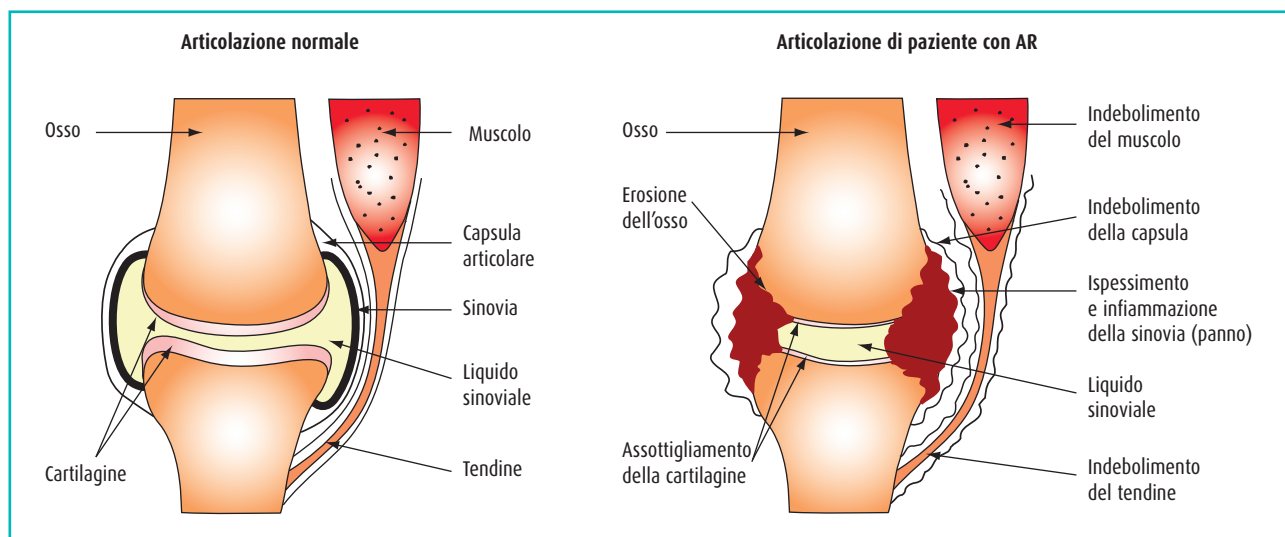
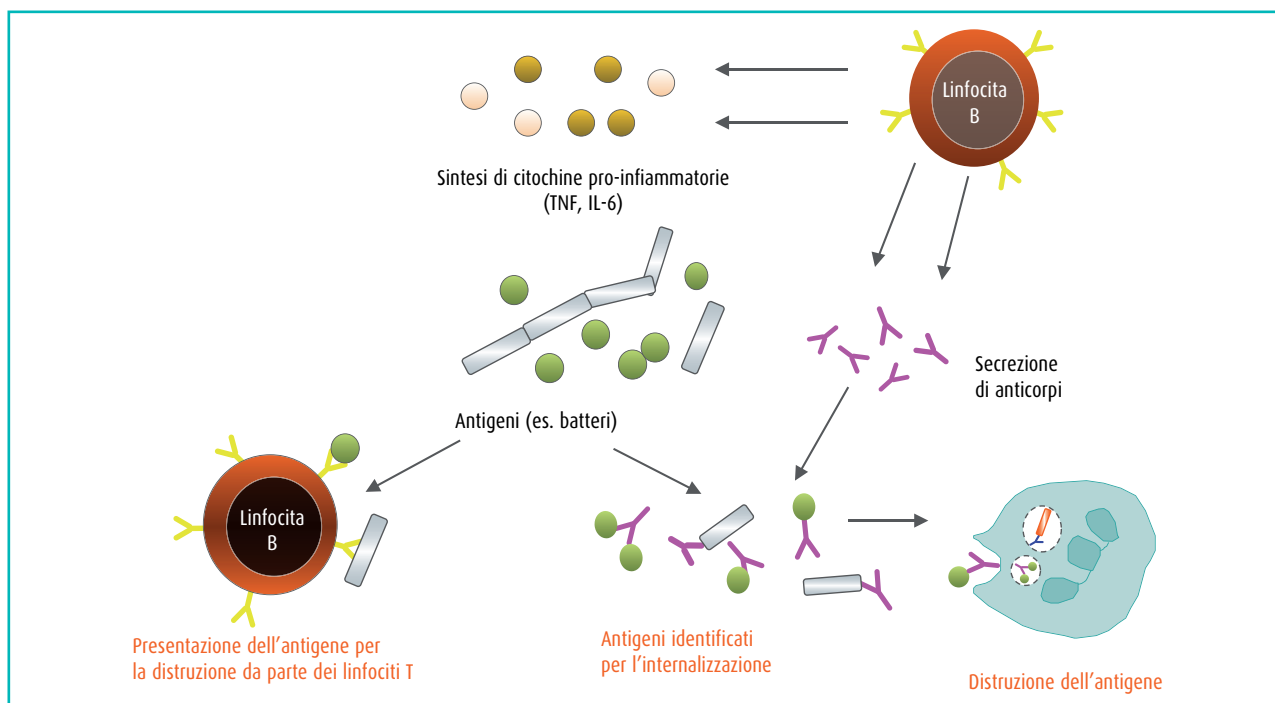


Figura 2. Principali azioni dei linfociti B.



In particolare, i linfociti B sono in grado di riconoscere un antigene “non self”, che viene quindi internalizzato, processato e presentato sulla superficie cellulare, innescando una serie di meccanismi molecolari che portano alla produzione di anticorpi da parte delle cellule B attivate (plasmacellule) [Figura 3]^[2].

Un aspetto chiave del ruolo dei linfociti B nella patogenesi dell'AR è rappresentato dalla produzione continua di citochine, quali TNF e IL-6, che contribuisce all'insorgenza di un **processo infiammatorio cronico, a cui consegue la progressione del danno articolare nel paziente affetto da AR** (Figura 2)^[6,7].

A ulteriore conferma della correlazione tra linfociti B e progressione del danno articolare è stato dimostrato come il numero di cellule B sia notevolmente aumentato nella sinovia dei pazienti affetti da questa patologia^[2,5-7].

Un altro fenomeno importante è rappresentato dalla sintesi di autoanticorpi diretti contro antigeni “self”^[8].

In soggetti sani, i linfociti B che producono autoanticorpi sono riconosciuti da specifici linfociti T, che ne inducono l'apoptosi. In presenza di patologia autoimmune, invece, il meccanismo di riconoscimento viene alterato: **alcuni linfociti B sfuggono a tale processo, proliferano e si differenziano in plasmacellule produttrici di autoanticorpi**. Questi ultimi vengono sintetizzati in quantità elevate e hanno un'importanza centrale nella patogenesi dell'AR, attraverso una pluralità di meccanismi (Figura 4)^[8].

I due principali, e meglio conosciuti, autoanticorpi associati all'AR sono il **fattore reumatoide** (*rheumatoid factor*, RF) e **gli anticorpi anti-peptide ciclico citrullinato** (*anti-cyclic citrullinated peptide*, anti-CCP), che costituiscono importanti biomarker di questa patologia^[8,9].

Figura 3. Riconoscimento dell'antigene da parte dei linfociti B e rilascio di anticorpi.

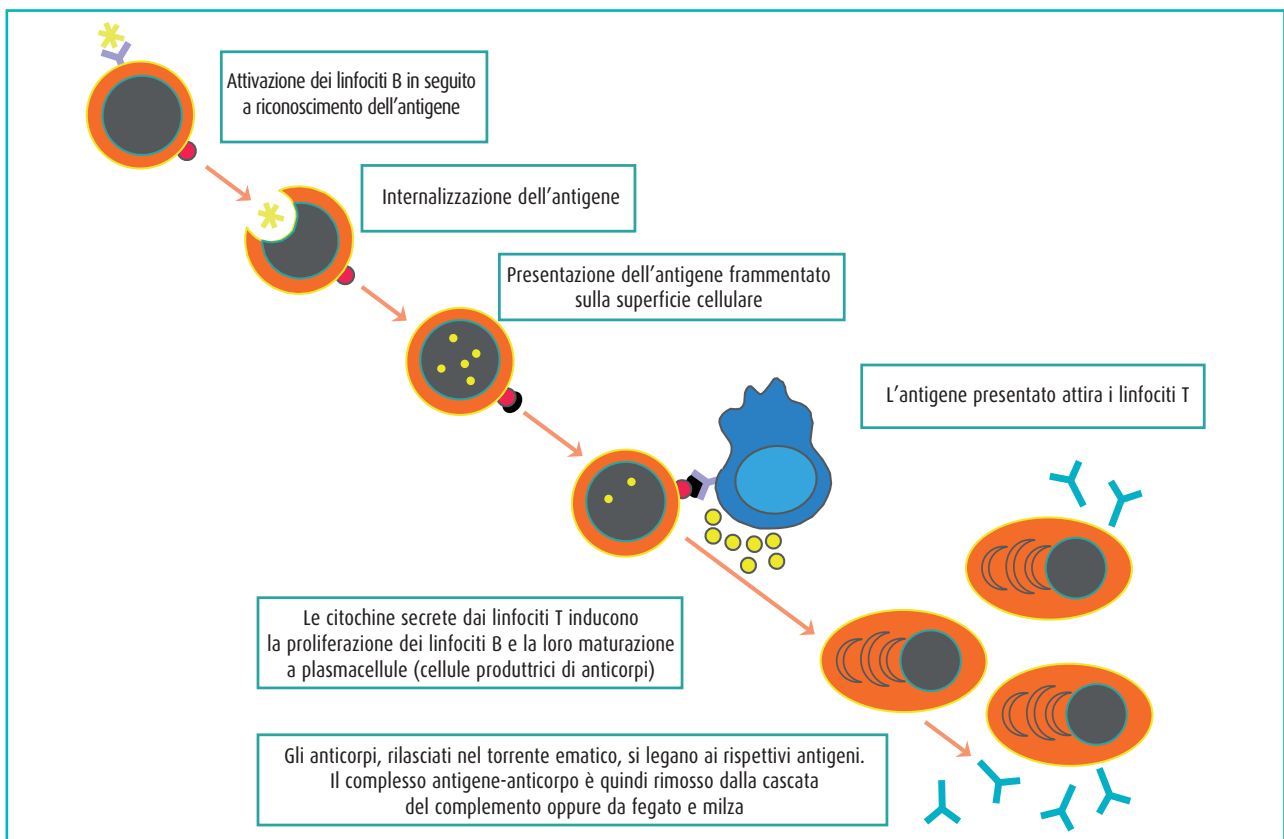


Figura 4. Potenziali meccanismi patogenetici dell'AR mediati dalla produzione di autoanticorpi.

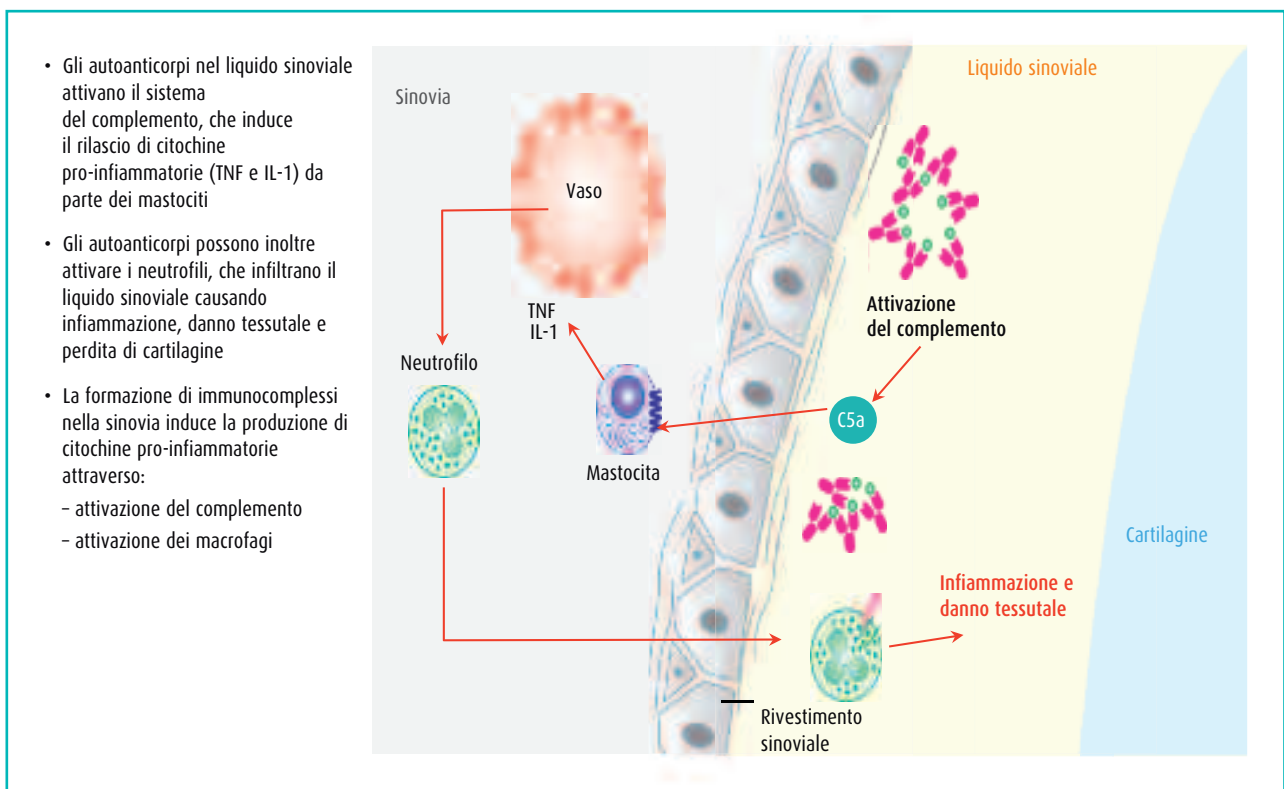
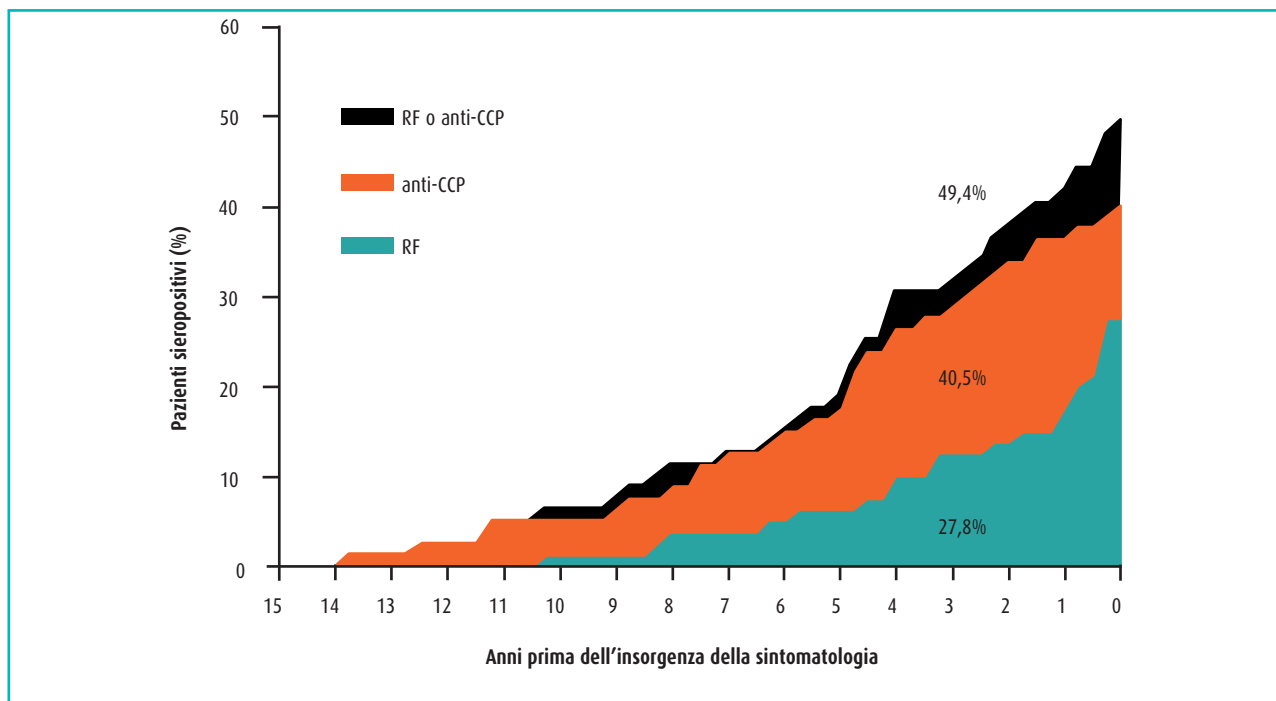


Figura 5. Percentuali cumulative di pazienti sieropositivi per il fattore reumatoide (*rheumatoid factor*, RF) e/o per gli anticorpi anti-peptide ciclico citrullinato (*anti-cyclic citrullinated peptide*, anti-CCP) prima dell'insorgenza della sintomatologia di AR (elaborata graficamente da^[13]).



RF e anti-CCP: biomarker dell'AR

Numerosi studi osservazionali hanno dimostrato come la prevalenza di RF sia pari al 50-66% nei pazienti affetti da AR in fase precoce, *versus* il 7-13% nella popolazione generale; tali valori sono pari, rispettivamente, al 41-48% e al 3-9% per quanto riguarda la presenza di anti-CCP^[10-12]. In un altro studio, che ha valutato 79 pazienti affetti da AR, è stato osservato come la positività per RF e/o anti-CCP possa precedere l'insorgenza della sintomatologia dell'AR anche di 14 anni (Figura 5)^[13].

Una recente metanalisi, condotta sui risultati di 50 studi su RF e di 37 studi su anti-CCP, ha dimostrato come i saggi per entrambi gli anticorpi siano altamente sensibili e specifici per porre diagnosi di AR (Tabella 1)^[14].

È stato inoltre indicato come la positività per RF e anti-CCP rappresenti un importante fattore predittivo di una rapida progressione radiografica dell'AR^[14].

Tabella 1. Sensibilità e specificità di RF e anti-CCP come biomarker dell'AR (elaborata graficamente da^[14])

	RF	Anti-CCP
Sensibilità, % (IC 95%)	69 (68-70)	67 (65-68)
Specificità, % (IC 95%)	85 (84-86)	95 (95-96)

Anti-CCP, anticorpo anti-peptide ciclico citrullinato; IC 95%, intervallo di confidenza al 95%; RF, fattore reumatoide.

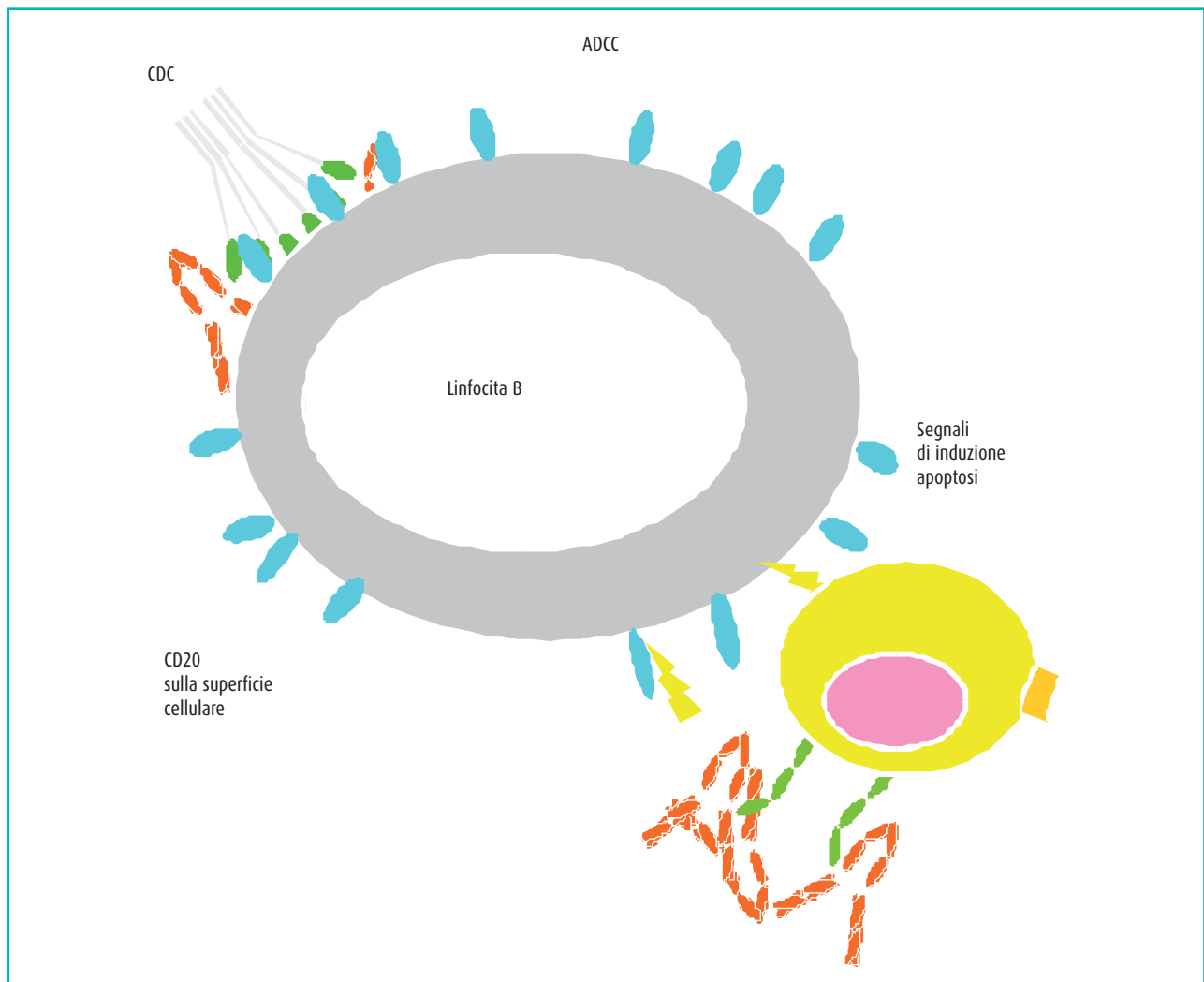
Deplezione dei linfociti B con terapie biologiche

In virtù del ruolo chiave che rivestono nella patogenesi dell'AR, i linfociti B rappresentano un importante target terapeutico per il trattamento di questa patologia. Rituximab è un anticorpo monoclonale, di natura chimerica (la regione costante è umana, mentre quella variabile è murina), in grado di colpire ed eliminare in modo selettivo unicamente i linfociti B che presentano l'antigene superficiale CD20. È da sottolineare come tale antigene sia espresso unicamente nel cor-

so della fase di maturazione dei linfociti B, ma non nelle cellule staminali o in quelle mature, che, pertanto, non sono un bersaglio dell'azione di rituximab, permettendo quindi di preservare la memoria immunologica. Inoltre, malgrado la deplezione delle cellule CD20+, i linfociti B ricompaiono in circolo dopo essersi differenziati dalle cellule staminali e i livelli sierici di immunoglobuline sono mantenuti grazie alla persistenza in circolo delle immunoglobuline preesistenti e delle plasmacellule. La deplezione dei linfociti B perdura per circa 6 mesi dopo il trattamento ed è seguita da una ripopolazione che avviene tra il 9° e il 12° mese dal termine della terapia^[1,15].

Figura 6. Triplice meccanismo d'azione di rituximab.

ADCC, citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*); CDC, citotossicità complemento-dipendente (*complement-dependent cytotoxicity*).



L'interazione di rituximab con CD20 induce una rapida e marcata deplezione dei linfociti B attraverso un triplice meccanismo d'azione (**Figura 6**)^[16]:

- **citotossicità complemento-dipendente** (*complement-dependent cytotoxicity, CDC*): legandosi a CD20, rituximab interagisce con il sistema del complemento, attivandolo e determinando lisi dei linfociti B per formazione di pori nella membrana cellulare;
- **citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente** (*antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC*): il legame di rituximab a CD20 favorisce il reclutamento di cellule *natural killer*, citotossiche sui linfociti B attraverso una serie di mediatori proteici;
- **induzione dell'apoptosi**: l'interazione di rituximab con CD20 innesca dei meccanismi di *signalling* intracellulari che inducono direttamente l'apoptosi dei linfociti B.

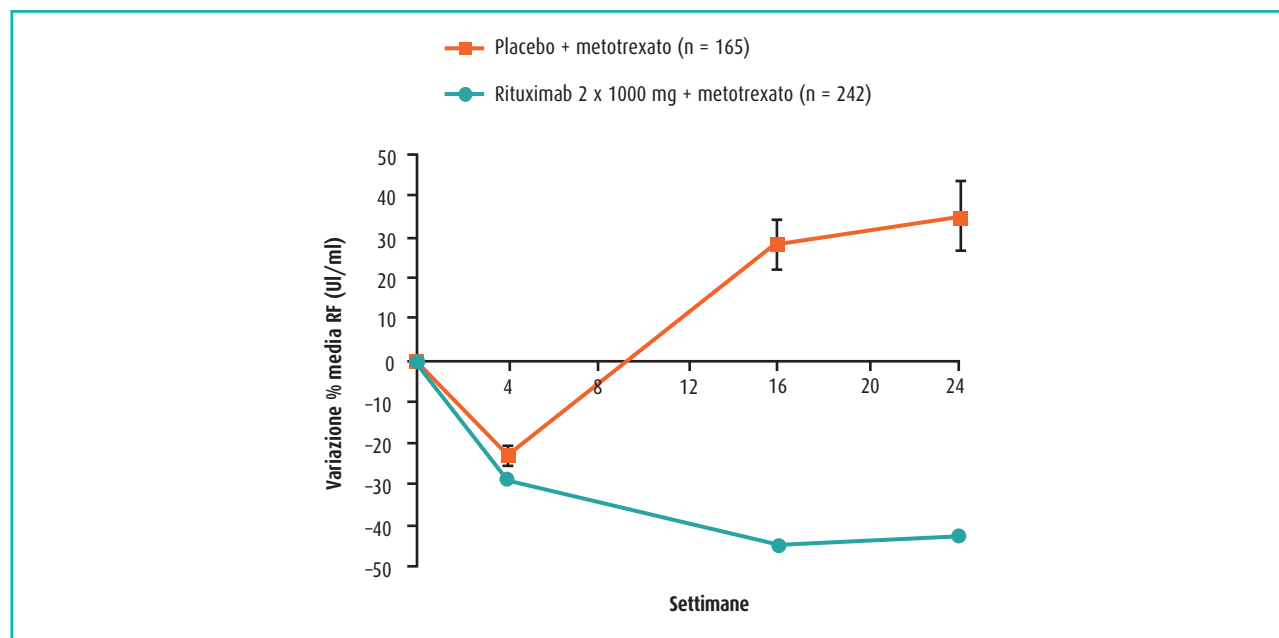
Rituximab e riduzione dei biomarker dell'AR

L'effetto di rituximab sulla riduzione della concentrazione di RF e anti-CCP in pazienti affetti da AR è stata valutata attraverso numerosi *trials* clinici.

Nello studio multicentrico **REFLEX** (*Randomized Evaluation of Long-Term Efficacy of Rituximab in RA*), con disegno randomizzato in doppio cieco, la somministrazione di rituximab ha determinato una marcata riduzione della concentrazione di RF, rispetto a quanto osservato nei pazienti che assumevano solo metotrexato (**Figura 7**)^[17].

Analogamente, in un studio volto all'identificazione di possibili predittori di risposta clinica, Thurlings et al. hanno dimostrato che in segui-

Figura 7. Variazione della concentrazione del fattore reumatoide (RF), in seguito a somministrazione di rituximab (1000 mg nei giorni 1 e 15) o placebo, in pazienti affetti da AR trattati con metotrexato nel corso dello studio REFLEX (modificata graficamente da^[17]).



to a trattamento con rituximab i livelli sierici di RF IgM e di anti-CCP presentano una significativa riduzione rispettivamente alla 24^a e alla 36^a settimana (Figura 8)^[18].

Le evidenze cliniche a oggi disponibili dimostrano, quindi, come **rituximab determini una riduzione significativa del RF e dell'anti-CCP, in pazienti affetti da AR in fase precoce o avanzata.**

Biomarker e risposta clinica a rituximab

L'efficacia di rituximab è stata valutata nel corso di numerosi studi clinici, come il REFLEX, il DANCER, il SERENE/MIRROR e l'IMAGE^[17-21]. In particolare, è stato valutato se la positività per RF e/o anti-CCP all'inizio del trattamento con rituximab potesse influenzare gli *outcomes* clinici.

Nel corso dello studio REFLEX, condotto in pazienti con risposta inadeguata alla terapia con anti-TNF, la somministrazione di rituximab in associazione a metotrexato ha determinato percentuali di risposta clinica (valutazione secondo l'*American College of Rheumatology*, ACR), significativamente superiori rispetto al solo metotrexato^[17].

Figura 8. Variazione della concentrazione di fattore reumatoide (RF) [A] e anticorpi anti-peptide ciclico citrullinato (anti-CCP) [B], in seguito a somministrazione di rituximab (1000 mg nei giorni 1 e 15), in pazienti affetti da AR (elaborata graficamente da^[18]).

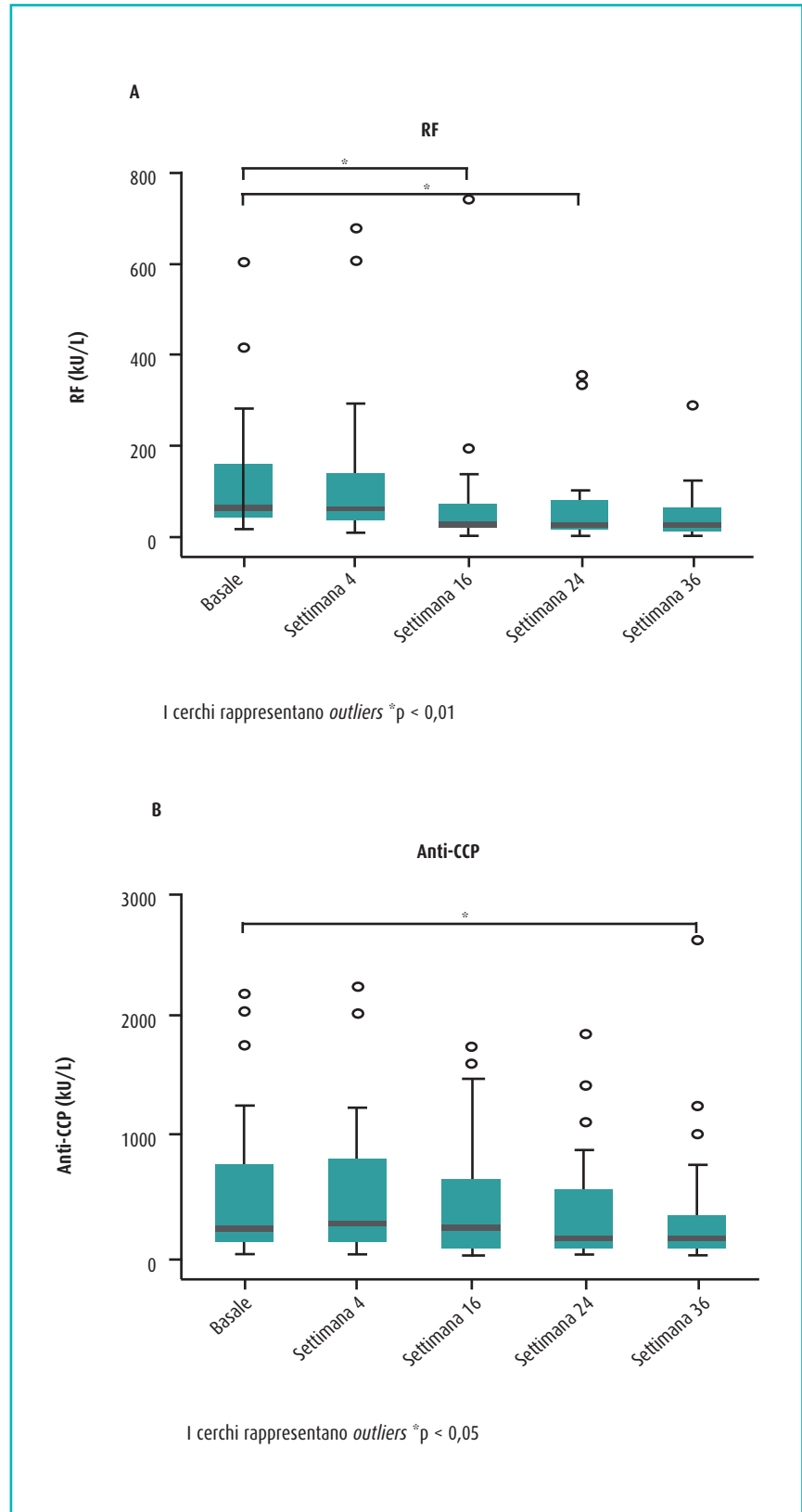
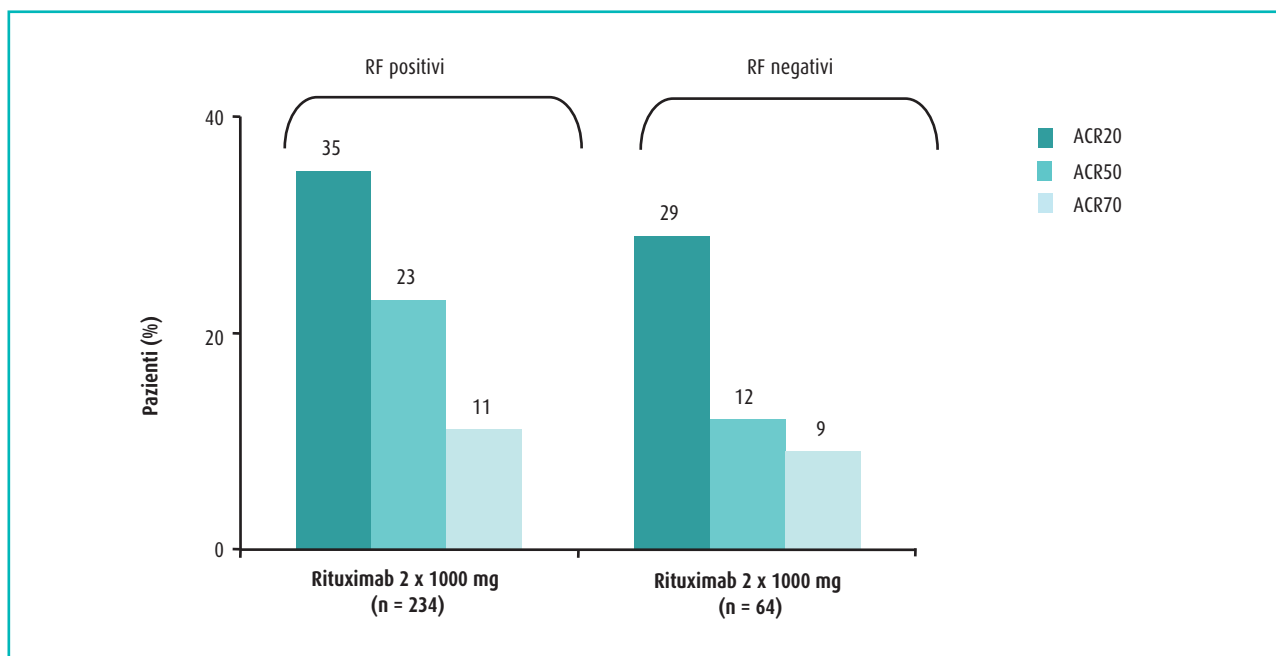


Figura 9. Percentuali di risposta ACR, *placebo-adjusted*, in seguito a somministrazione di rituximab (1000 mg ai giorni 1 e 15) in pazienti RF positivi e RF negativi arruolati nello studio REFLEX (elaborata graficamente da^[17,22]).



Sebbene l'efficacia di rituximab sia stata dimostrata in tutti i pazienti inclusi nello studio, la stratificazione dei risultati sulla base della positività per il RF, dopo 24 settimane, ha evidenziato una **maggiore efficacia di rituximab** nei pazienti sieropositivi rispetto ai pazienti sieronegativi (**Figura 9**)^[17,22].

Nel complesso, queste osservazioni suggeriscono come **pazienti affetti da AR e sieropositivi per RF, che pertanto presentano una forma più aggressiva di patologia, possano trarre maggiore beneficio dal trattamento con rituximab**^[21].

Conclusioni

I linfociti B giocano un ruolo centrale nella risposta immunitaria e, di conseguenza, **nella patogenesi di malattie autoimmuni come l'AR**. Tale effetto viene esercitato attraverso una pluralità di meccanismi, come la produzione di autoanticorpi, la secrezione di citochine pro-infiammatorie, l'attivazione dei linfociti T. **Gli autoanticorpi, in particolare il RF e gli anti-CCP, sono presenti nella maggior parte dei pazienti affetti da AR e rappresentano importanti biomarker della patologia e della sua progressione.**

Rituximab, un anticorpo monoclonale chimerico, lega in modo selettivo i linfociti B che presentano l'antigene CD20. Quest'ultimo è espresso unicamente dalle cellule in fase di maturazione: le cellule staminali e le plasmacellule non subiscono invece l'azione di rituximab e permettono di mantenere la memoria immunologica.

Nei pazienti trattati con rituximab si osserva la deplezione dei linfociti B CD20-positivi e una riduzione dei titoli autoanticorpali.

Pertanto **l'efficacia di rituximab**, sebbene evidente sia nei pazienti positivi sia in quelli negativi, **risulta ancora più marcata nei soggetti positivi per RF e/o anti-CCP**, che generalmente presentano una forma più aggressiva della patologia.

La terapia B-depletiva rappresenta una valida opzione in pazienti affetti da AR e, in particolare, rituximab si delinea come strategia terapeutica particolarmente vantaggiosa in pazienti positivi per RF e/o anti-CCP.

Bibliografia

1. Gibbons LJ, Hyrich KL. Biologic therapy for rheumatoid arthritis: clinical efficacy and predictors of response. *BioDrugs* 2009; 23: 111-24
2. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343: 37-49
3. Imboden JB. The immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 417-34
4. Arkfeld DG. The potential utility of B cell-directed biologic therapy in autoimmune diseases. *Rheumatol Int* 2008; 28: 205-15
5. Silverman GJ, Weisman S. Rituximab therapy and autoimmune disorders: prospects for anti-B cell therapy. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1484-92
6. Duddy ME, Alter A, Bar-Or A. Distinct profiles of human B cell effector cytokines: a role in immune regulation? *J Immunol* 2004; 172: 3422-7
7. Lund FE, Garvy BA, Randall TD, Harris DP. Regulatory roles for cytokine-producing B cells in infection and autoimmune disease. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8: 25-54
8. Silverman GJ, Carson DA. Roles of B cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2003; 5 (Suppl. 4): S1-6
9. Sutton B, Corper A, Bonagura V, Taussig M. The structure and origin of rheumatoid factors. *Immunol Today* 2000; 21: 177-83
10. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, et al. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2000; 2: 236-43
11. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-63
12. Jansen LMA, van der Horst-Bruinsma I, van Schaardenburg D, et al. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29: 2074-6
13. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 380-6
14. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007; 146: 797-808
15. Leandro MJ, de la Torre I. Translational Mini-Review Series on B Cell-Directed Therapies: The pathogenic role of B cells in autoantibody-associated autoimmune diseases—lessons from B cell-depletion therapy. *Clin Exp Immunol* 2009; 157: 191-7
16. Taylor RP, Lindorfer MA. Immunotherapeutic mechanisms of anti-CD20 monoclonal antibodies. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 444-9
17. Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, et al.; RE-FLEX Trial Group. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2793-806
18. Thurlings RM, Vos K, Wijbrandts CA, et al. Synovial tissue response to rituximab: mechanism of action and identification of biomarkers of response. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 917-25
19. Emery P, Fleischmann R, Filipowicz-Sosnowska A, et al.; DANCER Study Group. The efficacy and safety of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment: results of a phase IIB randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1390-400
20. Isaacs JD, Olech E, Tak PP, et al. Autoantibody-positive rheumatoid arthritis (RA) patients (PTS) have enhanced clinical response to rituximab (RTX) when compared with seronegative patients. EULAR meeting 2009 (Abstract FRI0256)
21. Mariette X, Kivitz A, Isaacs JD, et al. Effectiveness of Rituximab (RTX) + Methotrexate (MTX) in Patients (pts) with Early Active Rheumatoid Arthritis (RA) and Disease Characteristics Associated with Poor Outcomes. ACR meeting 2009; Presentation Number: 1687
22. Roche. Data onfile

