

# ANTIKROPPAR MOT TNF $\alpha$ ETT AVGÖRANDE FRAMSTEG

**Även om inga avgörande, stora framsteg har gjorts under de senaste 20 årens reumafarmakologiska forskning, har ändå några nya behandlingsprinciper visat sig lovande, särskilt vid svårbehandlad, tidig reumatoid artrit. Resultaten av kliniska studier med anti-TNF $\alpha$ -antikroppar är det största genombrottet hittills.**

**Denna översikt syftar till att belysa de senaste årens snabba framsteg inom cytokinmodulerande antireumatisk terapi.**

Reumatoid artrit (RA) har en etablerad plats bland de stora folksjukdomarna. Den orsakar en avsevärd invaliditet och ett enormt, ofta tålmodigt buret, lidande. Även om prognosen med åren något har förbättrats, så att sjukdomen inte längre är det inkurabla gissel som beskrivs i gamla läkarböcker, har de senaste 20 årens intensiva reuma-farmakologiska forskning inte lyckats göra några avgörande framsteg.

Den nya medicinen Tenidap (Pfizer), som kombinerar cyklo-oxygenasinhibition med vissa cytokininhibitoriska effekter, saknar inte anhängare, men kliniska studier har hittills inte kunnat visa att den är mer effektiv än ens de svagaste av dagens remissionsinducerande läkemedel. Tillsammans med renala biverkningar i form av proteinuri har detta lett till svårigheter att få Tenidap registrerat som ett antireumatiskt preparat, i USA såväl som i flertalet europeiska länder.

Kombinationsbehandling med dagens mest potenta farmaka – som metotrexat, sulfasalazin och cyklosporin A – förespråkas av en del amerikanska reumatologer, men biverkningarna är ett

stort problem. Dessa läkemedel består alla av små molekyler som sannolikt har multipla verkningsmekanismer avseende både positiva (sjukdomsremitterande) och negativa (biverknings-) effekter.

En mer specifik intervention blir möjlig om man använder monoklonala antikroppar mot någon specifik sjukdomsmediator, eller utnyttjar någon av kroppens egna antiinflammatoriska mediatorer. Avsevärd forskning pågår inom detta område. Det går att urskilja två viktiga skolor vad gäller denna biologiska terapi mot RA och andra kroniska inflammatoriska sjukdomar: terapi riktad mot T-celler och terapi riktad mot aktiverade makrofager och deras proinflammatoriska cytokiner.

## T-cellen som terapeutiskt mål

I många år har T-lymfocyten ansetts vara den viktigaste pådrivaren av den reumatoida inflammationen. Den har rentav liknats vid dirigenten för en orkester som med sina cytokinmediatorer styr makrofager, synoviocyter och B-celler [1]. Det är oomstritt att T-cellen är essentiell för initieringen av den reumatoida inflammationsprocessen. I norra Europa är RA länkad till MHC (major histocompatibility complex) klass II-allelen DR4, medan sjukdomen i andra delar av världen – bl a Israel, delar av Indien och delar av Sydeuropa – är länkad till DR-1-allelen. Detta betyder dock inte att det finns två olika former av RA, eftersom den tredje hypervariabla regionen av HLA-DRB-1-kedjan är identisk i HLA-DR-4 och HLA-DR-1-molekylerna. Associationen mellan HLA-DR-alleler och RA utgör ett starkt bevis för att T-cellen spelar en viktig roll i något stadium av sjukdomsinitieringen [2].

Diskordansen vad gäller utveckling av RA hos enäggstvillingar [3] bevisar emellertid att icke-genetiska faktorer också spelar en roll. Man har i många år spekulerat i att något virus skulle vara inblandat som en exogen faktor, men bevisning saknas ännu för att utpeka vilket det i så fall skulle röra sig om [2, 4]. En tilltalande hypotes är att ett ännu okänt, artritogent agens presenteras av antigenpresenterande celler, varefter

hjälp-T-cellerna aktiveras och producerar cytokiner som interleukin-2 och interferon- $\alpha$ , vilka inducerar T-cellsproliferation och makrofagaktivering.

Under 1990-talet har emellertid många forskare ifrågasatt T-cells centrala roll vid etablerad RA [5]. Det har visats att T-cellerna i den reumatoida synovitvävnaden förefaller inaktiva och har klart nedsatt proliferations svar då de stimuleras med antigen eller mitogena substanser. Inte heller har någon korrelation mellan T-cellsinfiltration i synovian och inflammatorisk aktivitet ledande till broskdestruktion kunnat påvisas [6]. Det har rentav spekulerats i att den reumatoida T-cellspopulationen skulle vara anerg vid etablerad sjukdom [7]. De viktiga makrofagproducerade cytokinerna tumörnekrosfaktor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) [8] och interleukin-10 [9] har båda visats kunna nedreglera T-cellsaktiviteten; särskilt den förstnämnda av dessa är överproducerad vid RA.

En annan slående observation är att T-cellsytokiner interleukin-2 och interferon- $\gamma$  endast med största svårighet kan påvisas i reumatoid synovialvävnad eller exsudat [5, 10]. Det har inväntats att T-cellerna inte behöver producera stora mängder cytokiner för att driva inflammationsprocessen vidare, eftersom de verkar på kort distans, men vid andra typer av T-cellsberoende inflammation har dessa cytokiner med lätthet kunnat påvisas [7].

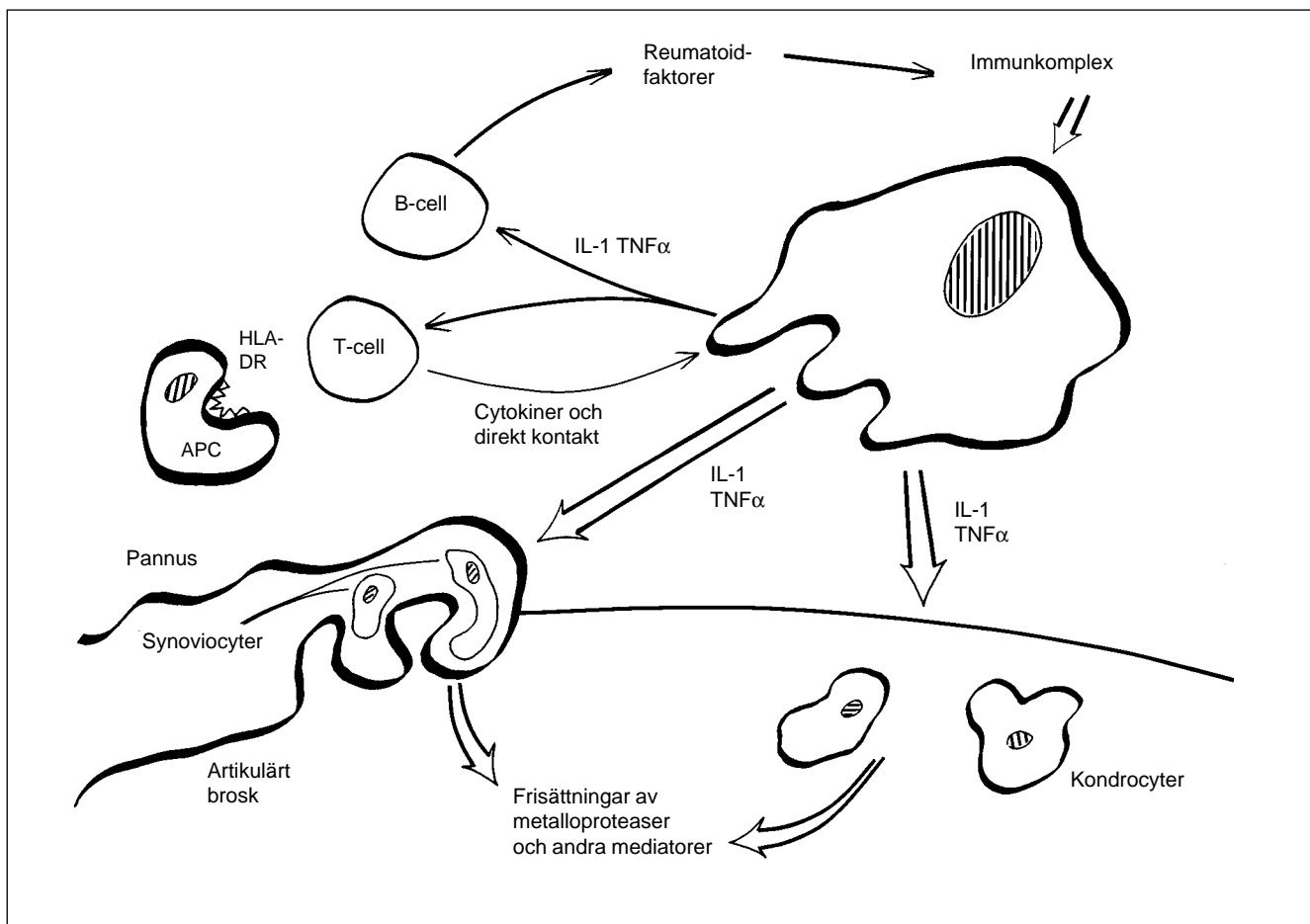
Den viktigaste måltavlan för anti-T-cellsterapi vid RA har varit CD4, en cellytemarkör som uttrycks av CD4 plus hjälp-T-celler. Stort arbete har lagts ned på att framställa monoklonala antikroppar mot CD4, och tidiga observationer i djurmodeller för RA gav upphov till viss optimism. Dessa antikroppar fungerar onekligen även på människa, eftersom en minskning av antalet cirkulerande CD4/T-celler ses inom några timmar efter att de har infunderats; fem dagar efter behandlingen ses ett klart minskat antal T-celler i synovialvävnaden [11, 12].

Det kliniska svaret på anti-CD4-behandlingen har emellertid varit klen; två stora, väl utförda studier [12, 13], den ena endast användande patienter med tidig RA, har misslyckats att påvi-

## Författare

JAN BONDESON

med dr, fil lic, institutionen för cell- och molekylärbiologi, Lunds universitet.



Figur 1. Makrofagens roll i den reumatoida inflammationsprocessen.

sa någon signifikant klinisk effekt av dessa antikroppar vid RA. Detta är naturligtvis ett starkt argument såväl mot CD4/T-cellernas centrala ställning vid etablerad RA som mot konceptet att antireumatisk terapi bör riktas endast mot T-celler och att andra inflammatoriska celler är oviktiga.

### Makrofagen som terapeutiskt mål

Den reumatoida synovian är rikligt försedd med aktiverade makrofager. I flera studier av synovialbiopsier från reumatiker har en klar korrelation kunnat påvisas mellan antalet makrofager och deras uttryck av aktiveringsmärkörer å ena sidan och inflammatorisk aktivitet och broskerosion å den andra [6].

De två viktiga makrofagproducerade cytokinerna interleukin-1 (IL-1) och tumörnekrosfaktor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) har en nyckelroll i den reumatoida inflammationen [14, 15]. De aktiverar B-celler att producera antikroppar och reumatoidfaktor, och kondrocyter och synoviocyter att producera broskdestruerande metalloproteaser (Figur 1).

Det är bevisat att IL-1 och TNF $\alpha$  produceras i ökad mängd vid RA. Särskilt viktigt är att aktiverade makrofa-

ger på gränsen mellan brosk och pannus uttrycker rikligt med IL-1 och TNF $\alpha$  [15]. Likaledes är det av betydelse att flera remissionsinducerande antireumatiska preparat – såsom auranofin, Tenidap och antimalariamedel – tycks inhibera induktionen av IL-1 och TNF $\alpha$  i makrofager, vilket är en ledtråd till deras verkningsmekanism vid RA [16, 17].

Medan en del forskare har framhållit IL-1 och TNF $\alpha$  som viktiga terapeutiska mål vid RA har andra, med viss rätt, påpekat att dessa cytokiners funktioner i betydande grad överlappar varandra: om den ena av dem skulle neutraliseras genom antikroppsterapi, eller på annat sätt, skulle den andra överta dess proinflammatoriska funktioner. Anti-cytokinterapi vid septisk chock har heller inte varit någon succé: IL-1-receptorantagonisten hade inte någon signifikant effekt i en stor studie, trots att tidigare experimentella data indikerat motsatsen [18].

Det finns även teoretiska argument mot användningen av denna receptorantagonist: för att blockera IL-1:s bindning till sin receptor måste den blockera mer än 98 procent av receptorerna och således vara närvarande i 100–1 000 gånger högre molar koncentration än IL-1 [14]. Dessutom måste den, på grund av sin korta halveringstid i cir-

kulationen, injiceras med täta mellanrum.

Hittills finns ingen dubbelblind, placebokontrollerad studie av IL-1-receptorantagonisten vid RA publicerad. En preliminär undersökning [19] talar för att dagliga injektioner hjälper bättre än injektioner givna en gång i veckan, men resultaten är inte omedelbart imponerande.

Professorerna Marc Feldmann och Ravinder Maini och deras stora forskargrupp vid Kennedy Institute of Rheumatology i London har i en lång rad publikationer utforskat förhållandet mellan IL-1, TNF $\alpha$  och de andra cytokinerna vid RA. I ett cellkultursystem av mononukleära celler från reumatoid synovium visade det sig att TNF $\alpha$  var den viktigaste induktorn av IL-1, IL-6, IL-8 och GM-CSF [15, 20]. Behandling med antikroppar mot TNF $\alpha$  inhiberade syntesen av dessa andra tre cytokiner. Dessa resultat talar för att TNF var den centrala sjukdomsmediatorn vid RA: från toppen av den proinflammatoriska »cytokinkaskaden» (Figur 2) kunde den styra de underordnade cytokinerna.

Studier i den transgena muslinjen Tg 1947, som överuttrycker den humana TNF $\alpha$ -molekylen, stöder uppfattningen att detta cytokin är centralt för utvecklingen av RA. Dessa möss utvecklar vid 3–4 veckors ålder en kronisk in-

flammatrisk polyartrit med pannusbildning, brosk- och bendestruktion [21]. Tillförsel av antikroppar mot humant TNF $\alpha$  fick artritsjukdomen att gå i remission; detta talar för att överproduktionen av TNF $\alpha$  verkligen var sjukdomsorsaken.

Eftersom överproduktion av TNF $\alpha$  förekom i alla de reumatiska gnagarnas organ är det märkligt att de alltid utvecklade en artritsjukdom, men i övrigt tedde sig friska; man kan fråga sig om ledvävnaden på något sätt är extremt känslig för detta cytokins proinflammatoriska effekter.

### Nya terapeutiska idéer

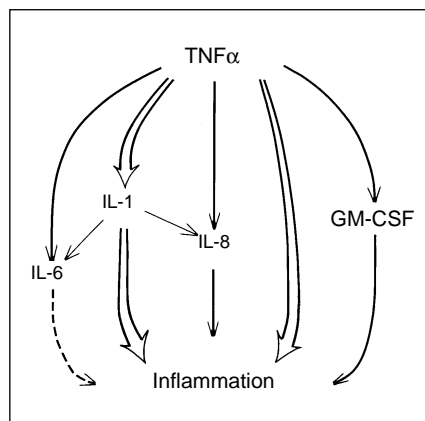
Efter det att monoklonala antikroppar mot TNF $\alpha$  hade haft utomordentligt goda effekter i en modell med muskollagenartrit igångsattes vid Kennedy Institute of Rheumatology den första öppna studien av dessa antikroppar vid RA. Resultaten var spektakulära, med mycket dramatiska kliniska remissioner hos de 20 behandlade patienterna [22].

En större, dubbelblind, placebokontrollerad studie har sedan utförts, i vilken den terapeutiska effekten var tydligt signifikant. Hela 73 patienter ingick i denna studie. De indelades dels i en placebogrupp, dels i två grupper vilka tillfördes en låg respektive en hög dos av den humaniserade mus-anti-TNF $\alpha$ -antikroppen cA2. Karakteristiskt var att nivåerna av C-reaktivt protein (CRP) och andra inflammatoriska markörer sjönk hastigt. Mätt med de så kallade Pauluskriterierna var antikropparna mot TNF $\alpha$  mer effektiva än konventionella antireumatiska droger som metotrexat och salazopyrin [23].

De huvudsakliga problemen med anti-TNF $\alpha$ -behandling vid RA är dels att antikropparna ännu så länge är alltför dyra för att kunna användas i stor skala, dels att regelbundna infusioner krävs eftersom deras effekt avtar efter fyra till fem veckor. Även med en humaniserad antikropp som cA2 finns risken för immunisering av patienten vid regelbundna infusioner.

cA2-antikroppsterapien genomgår nu en rigorös långtidsstudie, där 100 patienter behandlas med månatliga infusioner och såväl terapivar som säkerhetsaspekter följs. Studien beräknas pågå i två till tre år och kommer att ligga till grund för en eventuell licensiering av dessa antikroppar som en ny antireumatisk behandlingsprincip, i första hand riktad mot svårbehandlad, tidig RA.

En annan intressant idé från Kennedy Institute är att det antiinflammatoriska cytokinet interleukin-10 (IL-10), som är en potent inhibitor av produktionen av IL-1 och TNF $\alpha$  i makrofager, skulle kunna användas vid RA. Resultat från muskollagenartritmodellen är po-



Figur 2. Den proinflammatoriska cytokinkaskaden vid RA.

sitiva och talar för att behandling med IL-10 i denna modell är likvärdig den med anti-TNF $\alpha$ -antikropparna. Behandling med både IL-10 och anti-TNF $\alpha$ -antikroppar resulterade i en måttlig additiv effekt snarare än en synergistisk effekt, vilket talar för att IL-10 i huvudsak verkar genom inhibition av TNF $\alpha$  [24].

En annan skola inom den experimentella reumatologin framhåller IL-1-receptorantagonisten som en lämplig terapeutisk molekyl vid RA. De kliniska studierna med subkutan tillförsel av denna molekyl [18] har hittills inte imponerat, men det har med viss rätt framhållits [25] att man genom att använda genterapi dels skulle slippa de dagliga injektionerna, dels skulle uppnå högre lokala koncentrationer av IL-1-receptorantagonisten. Adenovirusmedierad intraartikulär genterapi med IL-1-receptorantagonisten resulterade i en kaninmodell i att proteinet i fråga uttrycktes av både typ A- och typ B-synoviocyter [26] och hade en broskprotektiv effekt, medan den antiinflammatoriska effekten var mer tveksam [27].

Nu planeras en human studie, där synoviocyter tas från reumatiker i samband med ledkirurgi och utanför kroppen infekteras med ett adenovirus som överför genen för IL-1-receptorantagonisten [25]. Synoviocyterna skall sedan injiceras i metakarpofalangealederna en viss tid innan patienten genomgår proteskirurgi, varefter synovialhistologi och terapeutiskt svar kan jämföras.

Svagheten i denna studie ligger dels i att lederen som är så starkt destruerade att proteskirurgi övervägs knappast är någon bra modell för tidig RA, dels i att intraartikulär genterapi av detta slag inte tar hänsyn till RA-sjukdomens systemiska karaktär.

Resultaten av de kliniska studierna av anti-TNF $\alpha$ -antikroppar är definitivt det största framsteget inom antireumatisk terapi på många år. De talar för att den inflammatoriska processen vid RA,

trots sin skenbara komplexitet, till stora delar medieras av detta enda cytokin. Behandlingen med monoklonala antikroppar mot TNF $\alpha$  har visat sig vara utomordentligt säker och biverkningsfri, vilket är ytterligare en fördel gentemot de konventionella preparaten.

Frågan är emellertid hur dessa framsteg på bästa sätt skall kunna utnyttjas. En djärv idé är att utnyttja kunskaperna för att använda systemisk, cytokinmodulerande genterapi mot RA. Adenovirus ter sig som den mest lämpliga vektorn härvidlag. Särskilt IL-10, men även olika TNF $\alpha$ -inhibitorer, skulle mycket väl kunna överföras på genterapeutisk väg, vilket skulle kunna vara ett praktiskt sätt att utnyttja de oerhörda framstegen inom cytokin- och molekylärbiologi. Inga regelrätta kliniska försök, varken på människa eller mus, finns rapporterade, men experimentella arbeten har demonstrerat att adenovirusmedierad överföring av en gen kodande för en mus-TNF $\alpha$ -inhibitor resulterade i effektiv blockad av TNF-aktivitet i flera veckors tid [28].

En annan möjlighet är att överföra genen för den inhibitoriska molekylen I-kappa-B, som inaktiverar den proinflammatoriska transkriptionsfaktorn NF-kappa-B. Genterapi av detta slag har visat sig ha starka antiinflammatoriska effekter i endotelceller [29]. En annan väg är att använda så kallad ex vivo-genterapi, där inflammatoriska celler från patienten modifieras genetiskt och sedan re-implanteras [30].

En lösning på »reumatismens gåta» torde knappast komma inom detta sekel, men perspektivet inom en 15–20-årsperiod ter sig lovande. Mycket talar för att behandlingspyramiden vid RA inom en inte alltför avlägsen framtid kommer att te sig lika ålderstigen som de pyramider som de gamla egyptierna byggde.

### Referenser

1. Panayi GS, Lanchbury JS, Kingsley GH. The importance of the T cell in initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 729-35.
2. Harris ED. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. *N Engl J Med* 1990; 322: 1277-89.
3. Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, Holligan S, Carthy D, Farhan A et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 903-7.
5. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum* 1990; 33: 769-73.
6. Mulherin D, Fitzgerald O, Bresnihan B. Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 115-24.
10. Ulfgren AK, Lindblad S, Klareskog L, Andersson J, Andersson U. Detection of cytokine producing cells in the synovial mem-

- brane from patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 654-61.
12. Van der Lubbe PA, Dijkmans BAC, Markusse HM, Nässander U, Breedveld FC. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of CD4 monoclonal antibody therapy in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1079-1106.
  14. Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor  $\alpha$  in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 151-60.
  15. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann Rev Immunol* 1996; 14: 397-440.
  16. Bondeson J. Effects of disease-modifying antirheumatic drugs on macrophage signal transduction and the induction of proinflammatory cytokines [dissertation]. Lund: Lunds universitet, 1996.
  17. Bondeson J. The mechanisms of action of disease-modifying antirheumatic drugs. A review with emphasis on macrophage signal transduction and the induction of proinflammatory cytokines. *Gen Pharmacol*. Under publ.
  19. Campion GV, Lebsack ME, Lookabaugh J, Gordon G, Catalano M and the IL-1Ra Arthritis Study Group. Dose-range and dose-frequency study of recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1092-1101.
  20. Brennan FM, Chantry D, Jackson A, Maini R, Feldmann M. Inhibitory effect of TNF $\alpha$  antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1989; 2: 244-7.
  21. Plows D, Probert L, Georgopoulos S, Alexopoulou L, Kollias G. The role of tumour necrosis factor (TNF) in arthritis: studies in transgenic mice. *Rheumatology in Europe* 1995; 24 (2 suppl): 51-4.
  22. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Katsikis P et al. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1681-90.
  23. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS et al. Randomized double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor  $\alpha$  (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1994; 344: 1105-10.
  24. Walmsley M, Katsikis PD, Abney E, Parry S, Williams RO, Maini RN et al. IL-10 inhibits progression of established collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 495-503.
  25. Kolls J, Peppel K, Silva M, Beutler B. Prolonged and effective blockade of tumor necrosis factor activity through adenovirus-mediated gene transfer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 215-9.
  29. Wrighton CJ, Hofer-Warbinek R, Moll T, Eytner R, Bach FH, de Martin R. Inhibition of endothelial cell activation by adenovirus-mediated expression of IkBa, an inhibitor of the transcription factor NF-kB. *J Exp Med* 1996; 183: 1013-22.
  30. Chernajovsky Y, Feldmann M, Maini RN. Gene therapy of rheumatoid arthritis via cytokine regulation: future perspectives. *Br Med Bull* 1995; 51: 503-16.

*En fullständig referenslista kan rekvireras från Jan Bondeson, Institutionen för cell- och molekylärbiologi, Lunds universitet, Box 94, 221 00 Lund.*

*Se även medicinsk kommentar i detta nummer.*

## Summary

### New ways of treating rheumatoid arthritis (1 and 2)

Jan Bondeson

*Läkartidningen* 1996; 93: 42-5.

This review, which is the second part of an abstract from a book-length work in English [16, 17], describes the great advances made in the treatment of rheumatoid arthritis. After the failure of anti-CD4 therapy, the macrophage has gained prominence as the prime mover in rheumatoid synovitis. The proinflammatory, macrophage-derived cytokine tumor necrosis factor  $\alpha$  has in particular been implicated as an important therapeutic target. The clinical trials carried out with antibodies against this cytokine, as well as various approaches towards cytokine-modulating gene therapy in rheumatoid arthritis, are described.

## SMITTYNYTT

### HIV-utbrott i Vitryssland

Vid ett möte i Riga i mitten av december beskrev deltagare från Vitryssland och personal från UNAIDS ett tidigare endast ryktesvis omnämnt utbrott av HIV-infektion i Svetlogorsk i sydöstra Vitryssland. Staden har en befolkning på endast 70 000 personer, av vilka dock flera tusen uppgavs vara injektionsmissbrukare. Uppenbarligen framställde man där en egen opiumdekokt från vallmo som antingen importerats eller möjligen odlats på platsen. Injektionsvätskan förefaller därför vara måttligt ren, och flera dödsfall vid injektion rapporterades också.

Från början av 1996 provtogs ett 25-tal injektionsmissbrukare varje månad för HIV, utan att någon var positiv. I maj/juni kom det första positiva provet, och man startade då en mer omfattande provtagning. I september hade 200 positiva personer rapporterats och i början av december 750, av totalt ca 1 500 provtagna.

Detta utbrott visar än en gång hur snabbt HIV kan spridas när det kommer in i en missbrukarpopulation. Liknande höga incidenser finns rapporterade från Edinburgh, Bangkok, och även från heroinmissbrukare i Stockholm. Diskussionen på mötet handlade om hur man med rådgivning, uppsökande verksamhet och utdelning av rena sprutor skulle kunna hejda utbrottet i Svetlogorsk.

### Shigellos från Gambia

Minst sex svenska resenärer till Gambia har kommit hem med dysenteri under första hälften av december. Av fyra typade stammar var tre sonnei, och en dysenteriae typ 4. Smittkällan var den 16 december ännu inte lokaliserad, så fler fall kan bli aktuella.

### Vaccination inför Hajj

Vi vill påminna om att pilgrimssången till Mecka nu närmar sig. Hajj, arabiska för denna vallfärd, infaller inte förrän i april, men början av året är högsäsong även för Umrah-resor. Saudiska myndigheter kräver intyg på att inresande är vaccinerade mot meningokocker grupp A och C. Vaccinationen skall ha givits mer än 10 dagar men mindre än 3 år före ankomsten. (För barn under 2 år gäller speciella regler.)

*Epidemiologiska enheten,  
Smittskyddsinstitutet*