

Mechanizm działania przeciwciał monoklonalnych anti-CD20 wykorzystywanych w terapii stwardnienia rozsianego

The mechanism of action of anti-CD20 monoclonal antibodies used in the treatment of multiple sclerosis

Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Warmiński-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Adres do korespondencji: Marcin P. Mycko, Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Warmiński-Mazurski w Olsztynie, ul. Warszawska 30, 10-081 Olsztyn, e-mail: marcin.mycko@uwm.edu.pl

 <https://doi.org/10.15557/AN.2023.0012>

ORCID iD

Marcin P. Mycko <https://orcid.org/0000-0002-2226-1784>

Streszczenie

CD20 znajduje się na powierzchni znaczącej części komórek należących do linii limfocytów B. Choć znaczenie tego białka pozostaje nieznane, obecność CD20 jest znacznikiem dojrzałych, krążących limfocytów B. Przeciwciała monoklonalne przeciwko CD20 są zdolne do szybkiej i efektywnej eliminacji obecnych we krwi limfocytów B. Cztery różne przeciwciała anti-CD20 były testowane w terapii stwardnienia rozsianego: rytuksymab, okrelizumab, ofatumumab i ublituksymab. Wszystkie te cząsteczki to przeciwciała monoklonalne, które choć wiążą się z tym samym białkiem, mają różne cechy molekularne i farmakologiczne. Jedną z takich różnic jest stopień humanizacji ich struktury molekularnej, a także mechanizm usuwania limfocytów B. Wieloośrodkowe próby kliniczne III fazy wykonane z wykorzystaniem każdej z tych cząsteczek zgodnie potwierdziły, że eliminacja komórek z linii B jest skuteczną metodą hamowania postępu stwardnienia rozsianego. Tym samym udowodniono, że limfocyty B są jedną z najważniejszych grup komórek biorących udział w rozwoju i przebiegu stwardnienia rozsianego. Liczne dane *in vitro* i *in vivo* potwierdzają ich rolę w patogenezie tej choroby, pomimo braku dowodów na obecność patogennych autoprzeciwciał u chorych. W obrębie limfocytów B znajduje się jednak wiele różnych populacji komórek o często bardzo różnym działaniu immunomodulatorowym. Dlatego przyszłe terapie stwardnienia rozsianego powinny zmierzać do wyłączenia patogennych grup limfocytów B, nie zaś nieselektywnie eliminować całą ich populację.

Słowa kluczowe: stwardnienie rozsiane, limfocyty B, CD20, przeciwciało monoklonalne

Abstract

CD20 is a transmembrane molecule located on the surface of a major population of cells belonging to the B lymphocyte lineage. Although the significance of this protein remains unknown, the presence of CD20 is a marker for mature circulating B cells. Monoclonal antibodies against CD20 are able to quickly and effectively eliminate circulating B lymphocytes. Four different anti-CD20 antibodies have been studied in the treatment of multiple sclerosis: rituximab, ocrelizumab, ofatumumab and ublituximab. Although all these monoclonal antibodies bind to the same protein, they have different molecular and pharmacological characteristics. One of the important differences between these molecules is the degree of humanisation of their molecular structure, as well as the mechanism of B cell removal. Phase III multicentre clinical trials conducted with each of these antibodies consistently confirmed that the elimination of B cells is an effective method of slowing down the progression of multiple sclerosis. Thus, B cells are considered as main group of immune cells involved in the development and course of multiple sclerosis. Numerous *in vitro* and *in vivo* data confirm the involvement of these cells in the pathogenesis of multiple sclerosis, despite the lack of evidence for the presence of pathogenic autoantibodies in this disease. Nevertheless, B cells represent a mixture of cell populations with different immunomodulatory properties. Therefore, future multiple sclerosis therapies should target the pathogenic groups of B lymphocytes, rather than non-selectively eliminating the entire population of these cells.

Keywords: multiple sclerosis, B cell, CD20, monoclonal antibody

WSTĘP

S twardnienie rozlane (łac. *sclerosis multiplex*, SM) to przewlekła choroba autoimmunologiczna i neurodegeneracyjna ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Schorzenie to najczęściej dotyka młodych dorosłych, w większości przypadków pierwsze objawy manifestują się pomiędzy 20. a 40. rokiem życia (Reich *et al.*, 2018). Najbardziej typową cechą zmian patologicznych u chorych na SM jest pojawianie się ognisk demielinizacyjnych (plak) w istocie białej i szarej w mózgu oraz w rdzeniu kręgowym (Frohman *et al.*, 2006). W fazie ostrej tej choroby aktywne zmiany zapalne w OUN cechuje obecność nacieku zapalnego, powiązanego z rozszczelnieniem bariery krew–mózg. Makrofagi oraz limfocyty T i B przenikają do OUN, gdzie wraz z reaktywnymi astrocytami tworzą ogniska zapalne. Wśród limfocytów naciekających OUN widoczna jest przewaga limfocytów T z ekspresją powierzchniowego antygenu różnicowania komórkowego (*cluster of differentiation*, CD) 8 (T CD8+), limfocytów B, komórek plazmatycznych i limfocytów T CD4+ (Lassmann, 2019). W fazie postępującej SM zapalenie najprawdopodobniej toczy się głównie w obrębie OUN, przy szczelnej barierze krew–mózg (Absinta *et al.*, 2020). Proces zapalny i neurodegeneracyjny w tej fazie podtrzymywany jest przez przewlekle aktywowany mikroglej i makrofagi. Ważną rolę w kontynuacji przewlekłego zapalenia w OUN i wynikającego z tego podstępującego uszkodzenia u chorych na SM odgrywają formujące się w obrębie opon mózgowo-rdzeniowych skupiska limfocytów B (Negron *et al.*, 2020).

Taki scenariusz rozwoju i przebiegu patogenezy SM podkreśla rolę limfocytów T CD4+, T CD8+ i B jako głównych populacji komórek układu immunologicznego odpowiedzialnych za promowanie autoagresywnej demielinizacji. Historycznie główną rolę w rozwoju SM przypisywano autoreaktywnym, rozpoznającym antygeny mielinowe limfocytom T CD4+, zaś limfocyty B uważano za nieistotny, bierny element patogenezy tego schorzenia (Sabatino *et al.*, 2019). Prawdziwe znaczenie tej populacji komórek zaczęto odkrywać wraz z poznaniem efektów działania pierwszych wykorzystywanych w terapii SM leków. Okazało się, iż limfocyty B ulegają modyfikacji w wyniku działania licznych preparatów wykorzystywanych w leczeniu tej choroby, takich jak interferon beta, fingolimod czy kladrybina (Hauser i Cree, 2020). Wreszcie finalnym dowodem na znaczenie limfocytów B w rozwoju SM stały się wyniki prób klinicznych, w których selektywnie eliminowano limfocyty B, wykorzystując przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko CD20. Uzyskane w ten sposób dane przyczyniły się do zmiany rozumienia szlaków rozwoju i przebiegu autoimmunologicznej demielinizacji, stawiając populację limfocytów CD20+ w centrum mechanizmów prowadzących do SM (Bar-Or i Li, 2021).

ROZWÓJ I DOJRZEWANIE LIMFOCYTÓW B

Limfocyty B rozwijają się z hematopoetycznych komórek macierzystych umiejscowionych w szpiku kostnym (Clark

et al., 2014). Powstawanie i różnicowanie tej populacji komórek obejmuje dwie kolejne fazy: 1) dojrzewanie w szpiku kostnym i 2) dojrzewanie w obrębie pozaszpikowych, obwodowych struktur limfatycznych. Etap szpikowy nie jest zależny od antygenowej swoistości limfocytów B, podczas gdy druga faza dojrzewania tych komórek w znacznym stopniu jest poświęcona testowaniu ich zdolności do aktywacji zależnej od ich swoistości antygenowej (Nemazee, 2017). Komórki pro-B (CD19– i CD20–) przekształcają się w komórki pre-B (CD19+ CD20+), które jeszcze w szpiku kostnym różnicują do niedojrzałych limfocytów B – wykazujących ekspresję immunoglobuliny (Ig) M. Komórki te, po przejściu fazy aktywacji przez antygen i przy odpowiednim sygnale czynników kostymulujących, różnicują do dojrzałych limfocytów B (Jones *et al.*, 2020). W obwodowym układzie limfatycznym, po zmianie izotypu Ig, limfocyty B ulegają aktywacji i różnicują do komórek B pamięci (CD27low), wczesnych plazmablastów (CD27high i CD40L+) i dojrzałych plazmablastów (CD27+ CD38+) (Inoue i Kurosaki, 2024). Komórki te migrują do szpiku kostnego, jelit, śledziony, migdałków i mózgu, a ich tkankowa lokalizacja zależy od stymulacji swoistymi czynnikami chemotaktycznymi, chemokinami (np. CXCL12, CCL25 i CCL28). Finalny etap różnicowania linii B obejmuje ewolucję do komórek plazmatycznych, których zadaniem jest efektywna produkcja i wydzielanie dużej liczby przeciwciał. W ten sposób limfocyty B stanowią kluczowy element nabytej odporności typu komórkowego.

Limfocyty B mogą także funkcjonować niezależnie od ich zdolności do swoistej odpowiedzi antygenowej. Komórki te są zdolne do profesjonalnej prezentacji antygenów limfocytom T, zarówno CD4+, jak i CD8+ (Abeles *et al.*, 2023). Co więcej, limfocyty B wykazują zdolność do produkcji i wydzielania znaczącej liczby cytokin, w tym także prozapalnych, nasilając w ten sposób rozwój procesów autoagresji. Liczne dane pokazują, że bezpośrednie interakcje między limfocytami B i T prowadzą do rozwoju procesów autoimmunologicznej demielinizacji (Jelic *et al.*, 2018).

DOWODY DOKUMENTUJĄCE ROLĘ LIMFOCYTÓW B W PRZEBIEGU AUTOIMMUNOLOGICZNEJ DEMIELINIZACJI

Przekonujące dowody uzyskane zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* sytuują limfocyty B jako kluczową populację biorącą udział w rozwoju SM. Już od połowy XX wieku, wraz z opisaniem występowania u pacjentów z SM zjawiska wewnątrzoponowej syntezy immunoglobulin oraz identyfikacją obecności prążków oligoklonalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym, znana była nieprawidłowa funkcja odporności humoralnej w przebiegu tej choroby (Selmaj *et al.*, 2022). Chociaż obecność prążków oligoklonalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym nie jest swoista jedynie dla SM, stwierdza się je u prawie 70% pacjentów z klinicznie izolowanym zespołem i u ponad 90% pacjentów z klinicznie pewnym SM. Stwierdzenie obecności

prążków oligoklonalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym stanowi ciągle bardzo ważny aspekt uwzględniany w aktualnych kryteriach diagnostycznych SM (Thompson *et al.*, 2018). Nieprawidłowa synteza przeciwciał i obecność prążków oligoklonalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SM może się utrzymywać nawet pomimo istotnej deplecji limfocytów B (von Büdingen *et al.*, 2017).

Znaczący udział limfocytów B w rozwoju SM dokumentują szczegółowe badania histopatologiczne zmian w OUN obecnych u tych chorych. Badania OUN u pacjentów z SM wykazały istotne występowanie limfocytów B, komórek plazmatycznych i immunoglobulin. Obecność nacieków zawierających limfocyty B koreluje ze zmianami odpowiedzialnymi za ostrą aktywność kliniczną schorzenia (Lassmann, 2019). W obrębie tych zmian limfocyty B CD20+ znajdują się w przestrzeni okołonaczyniowej dużych żył. Nacieki komórek plazmatycznych są częstsze w przestrzeni okołonaczyniowej i w oponach mózgowo-rdzeniowych u pacjentów z klinicznie przewlekłe postępującymi postaciami SM (Reich *et al.*, 2018). Analizy transkryptomyczne zmian nowych, „ostrych” zmian w OUN wykazywały znacząco podwyższony poziom transkryptów immunoglobulin w porównaniu z przewlekłymi, „cichymi” zmianami (Lock *et al.*, 2002).

Przez wiele lat zainteresowanie udziałem limfocytów B w patogenezie SM było hamowane brakiem dowodów na obecność patogennych autoprzeciwciał w tej chorobie (Höftberger *et al.*, 2022). Pomimo że do dzisiaj nie udowodniono, aby takie przeciwciała były obecne u chorych na SM, kolejne dowody przemawiały jednak za udziałem limfocytów B w rozwoju autoimmunologicznej demielinizacji. Co ciekawe, badania wykorzystujące sekwencjonowanie genów regionu zmiennej łańcucha ciężkiego IgG w limfocytach B od pacjentów z SM ujawniły zdolność dwukierunkowej migracji tych komórek pomiędzy OUN a obwodowym układem odpornościowym (Blauth *et al.*, 2015). W wielu kolejnych badaniach potwierdzono istnienie tych samych klonalnych populacji limfocytów B, wspólnych dla OUN, krwi, szyjnych węzłów chłonnych, opon mózgowo-rdzeniowych i płynu mózgowo-rdzeniowego u chorych na SM. Dane te pokazują, że limfocyty B mogą swobodnie przemieszczać się przez barierę krew-mózg i w ten sposób ponownie trafiać do narządów limfatycznych, aby przejść kolejne hipermutacje somatyczne. Mechanizm ten może pozwalać na modulację swoistości antygenowej limfocytów B, które już wcześniej znajdowały się w OUN, umożliwiając im ucieczkę z tolerancji wobec autoantygenów (Rodríguez-Mogeda *et al.*, 2022). Odkrycia te zmieniają nasz pogląd na sposób, w jaki limfocyty patrolują OUN i jak utrzymywana jest tolerancja obwodowa na antygeny charakterystyczne dla układu nerwowego.

Postuluje się, iż w przebiegu SM limfocyty B mogą wywierać kontrolę czynnościowo upośledzonych regulatorowych limfocytów T (Comi *et al.*, 2021). Nadmiernie aktywowane limfocyty B oddziałują z limfocytami T CD4+ w obrębie węzłów chłonnych i różnicują do komórek B

pamięci, które z kolei przyczyniają się do aktywacji efektorowych limfocytów T CD4+ (Jelcic *et al.*, 2018). Taka nadmierna aktywacja limfocytów T CD4+ może prowadzić do przełamania tolerancji i rozwoju niepohamowanej autoreaktywności przeciwko antygenom mielinowym. Co więcej, patogenne limfocyty B i T, wykazując silną ekspresję receptorów chemokin, cząsteczek adhezyjnych i cytokin prozapalnych, mogą w nadmiernym stopniu przenikać przez barierę krew-mózg i ulegać lokalnej reaktywacji w OUN, przyczyniając się do rozwoju ognisk demielinizacyjnych (Attfield *et al.*, 2022).

Limfocyty B są także zdolne do wspomagania rozwoju ektopowych grudek chłonnych, zaliczanych do trzeciorzędownego typu narządów limfatycznych (Negron *et al.*, 2020). Istotną rolę w tym procesie odgrywa wydzielanie przez limfocyty B cytokin prozapalnych, w tym limfotoksyn i chemokin (Shen i Fillatreau, 2015). Obecność ektopowych grudek chłonnych w OUN u chorych na SM koreluje z przewlekłe postępującymi postaciami tej choroby i z jej wcześniejszym początkiem (Magliozzi *et al.*, 2007). W ten sposób wraz z przebiegiem choroby wpływ limfocytów B na rozwój SM zmieniałby swój charakter, przesuując się z promocji rozszerzenia bariery krew-mózg i sprzyjania rozwojowi ogniskowych nacieków zapalnych na wspieranie autoagresji w obrębie OUN i indukcji procesów neurodegeneracji, w tym atrofii istoty szarej i białej (Bierhansl *et al.*, 2022). Ten typ zapalenia jest szczególnie trudny do leczenia ze względu na utrudnioną penetrację leków przez barierę krew-mózg do OUN.

Najnowsze dane dotyczące czynników ryzyka SM pokazują, iż infekcja wirusem Epsteina-Barr (*Epstein-Barr virus*, EBV) jest zjawiskiem sprzyjającym wystąpieniu tej choroby (Bjornevik *et al.*, 2023). Wykazany został 32-krotny wzrost ryzyka rozwoju SM w następstwie zakażenia EBV. Jest to zbudowany z DNA wirus o silnym tropizmie do limfocytów B (Soldan i Lieberman, 2023). Komórki te stanowią jego główny rezerwuuar podczas latentnej fazy infekcji. Możliwe jest indukowanie przez EBV krzyżowej reakcji antygenowej pomiędzy jednym z jego białek a epitopami pochodzenia astrocytarnego lub oligodendrocytarnego (Lanz *et al.*, 2022). Zakażenie limfocytów B EBV może mieć znaczenie dla rozwoju i postępu SM, a eliminacja limfocytów B zawierających ten patogen mogłaby prowadzić do wyhamowania autoimmunologicznej demielinizacji.

Kolejna biologiczna rola limfocytów B to zdolność do wytwarzania i wydzielania cytokin immunoregulacyjnych. Profilowanie syntezy mediatorów reakcji immunologicznej doprowadziło do rozpoznania różnych podtypów limfocytów B wytwarzających cytokiny prozapalne lub regulatorowe (Bar-Or i Li, 2021). Stwierdzono, że podtyp komórek B pamięci, który wytwarza prozapalną cytokinę, GM-CSF występuje częściej u pacjentów z SM (Li *et al.*, 2015). Opisano także istnienie grupy regulatorowych limfocytów B (Bregs), które wykazują potencjał immunosupresyjny. Komórki te są na przykład zdolne do wydzielania interleukiny 10 i interleukiny 35, znaczących czynników przeciwzapalnych

(Catalán *et al.*, 2021). Oznacza to, że nieselektywna deplecja liczby limfocytów B u chorych na SM może również prowadzić do negatywnych skutków, na przykład poprzez uszczerplenie populacji Bregs. Przyszłe terapie SM powinny więc zmierzać do bardziej selektywnej manipulacji tą populacją limfocytów, aby wybiórczo usunąć lub dezaktywować jedynie patogenne komórki.

FARMAKOKINETYKA I FARMAKODYNAMIKA PRZECIWCIAŁ MONOKLONALNYCH ANTY-CD20 W TERAPII SM

Przeciwciała monoklonalne anti-CD20 są skierowane przeciwko CD20 – białku błony komórkowej znajdującemu się powszechnie na komórkach z linii limfocytów B (Lee *et al.*, 2021). CD20 ma cztery helisy transbłonowe z dwiema pętlami zewnątrzkomórkowymi. Białko to prawdopodobnie formuje na powierzchni komórki w postaci zwartej, owalnej, dimerycznej struktury. Dokładna rola CD20 pozostaje nieznana. Jest ono zaangażowane w aktywację i proliferację limfocytów B i możliwe, że białko to pełni funkcję kanału jonowego albo że w inny sposób uczestniczy w regulacji uwalniania wapnia z limfocytów B po aktywacji ich receptora (Cragg *et al.*, 2005). CD20 jest markerem komórek linii B ulegającym ekspresji podczas różnicowania komórek do późnego stadium pre-B, wspólnym dla populacji limfocytów B zarówno naiwnych, jak i komórek pamięci. Populacje linii B, które nie mają na swojej powierzchni CD20 – komórki pro-B i terminalnie zróżnicowane komórki plazmatyczne – są oszczędzone przed deplecją w wyniku działania anti-CD20 (de Sèze *et al.*, 2023). Ponieważ prekursorzy limfocytów B w szpiku kostnym są stale odtwarzane, możliwe jest odbudowanie całej linii limfocytów B po jej eliminacji w wyniku działania przeciwciał monoklonalnych anti-CD20. Do czasu odbudowy limfocytów B komórki plazmatyczne kontynuują produkcję przeciwciał, podtrzymując wcześniej istniejącą odporność humoralną (Sabatino *et al.*, 2019).

W terapii SM przebadano cztery różne przeciwciała monoklonalne anti-CD20: rituksymab, okrelizumab, ofatumumab i ublituksymab (tab. 1). Chociaż wszystkie te przeciwciała monoklonalne wiążą się z tym samym białkiem, mają różne cechy molekularne i farmakologiczne (de Sèze *et al.*, 2023). Rituksymab to mysio-ludzkie chimeryczne przeciwciało monoklonalne klasy IgG1, wiążące się z resztami aminokwasowymi 168–175 na dużej pętli zewnątrzkomórkowej CD20 (Hawker *et al.*, 2009; Svenningsson *et al.*, 2022). Okrelizumab jest humanizowanym, glikozylowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, którego celem jest duża pętla zewnątrzkomórkowa CD20 w obrębie reszt aminokwasowych 165–180 (Hauser *et al.*, 2017; Montalban *et al.*, 2017). Przeciwciało to ma więc odrębny epitop na powierzchni CD20, który częściowo pokrywa się z epitopem wykorzystywanym przez rituksymab. Ofatumumab jest w pełni ludzkim przeciwciałem klasy IgG1, które wiąże się z sekwencjami małych (reszty aminokwasowe 74–80) i dużych (reszty aminokwasowe 145–161) pętli zewnątrzkomórkowych CD20 (Hauser *et al.*, 2020). Ublituksymab jest chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 z glikozylowanym segmentem Fc, który zwiększa powinowactwo do klasy IIIa receptora dla Fc; to przeciwciało wiąże się z resztami aminokwasowymi 158–159 i 168–171 na dużej pętli zewnątrzkomórkowej CD20 (Steinman *et al.*, 2022). Humanizacja przeciwciała monoklonalnego zmniejsza ryzyko odpowiedzi immunologicznej przeciwko takiej cząsteczce, która zmniejszałaby skuteczność terapii i zwiększałaby ryzyko zdarzeń niepożądanych (Pucca *et al.*, 2019). Zgodnie z tym w badaniu z wykorzystaniem rytuksymabu stwierdzono większy odsetek przeciwciał neutralizujących w porównaniu z kluczowym badaniem oceniającym działanie okrelizumabu (Bar-Or *et al.*, 2021). Mysie chimeryczne przeciwciała monoklonalne (rytuksymab i ublituksymab) mają więc większy potencjał indukowania neutralizującej je odpowiedzi immunologicznej w porównaniu z humanizowanymi i w pełni ludzkimi przeciwciałami (okrelizumabem i ofatumumabem).

Lek	Budowa	Mechanizm eliminacji limfocytów B	Dawkowanie w leczeniu SM	Publikacja wyników badań III fazy
Rytuksymab	Chimeryczne mysio-ludzkie przeciwciało IgG1	Cytotoksyczność komórkowa zależna od dopełniacza > cytotoksyczność zależna od przeciwciał	2× 1000 mg <i>i.v.</i> co 2 tygodnie albo 1000 mg <i>i.v.</i> , potem 500 mg <i>i.v.</i> co 6 miesięcy	OLYMPUS – Hawker <i>et al.</i> , 2009 RIFUND-MS – Svenningsson <i>et al.</i> , 2022
Okrelizumab	Humanizowane przeciwciało IgG1	Cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał > cytotoksyczność zależna od dopełniacza	2× 300 mg <i>i.v.</i> w odstępie 2 tygodni, potem 600 mg co 24 tygodnie <i>i.v.</i>	OPERA I – Hauser <i>et al.</i> , 2017 OPERA II – Hauser <i>et al.</i> , 2017 ORATORIO – Montalban <i>et al.</i> , 2017
Ofatumumab	Ludzkie przeciwciało IgG1	Cytotoksyczność komórkowa zależna od dopełniacza > cytotoksyczność zależna od przeciwciał	20 mg <i>s.c.</i> dnia 1., 7. i 14., potem 20 mg <i>s.c.</i> co 4 tygodnie	ASCLEPIOS I – Hauser <i>et al.</i> , 2020 ASCLEPIOS II – Hauser <i>et al.</i> , 2020
Ublituksymab	Chimeryczne mysio-ludzkie przeciwciało IgG1	Cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał > cytotoksyczność zależna od dopełniacza	150 mg <i>i.v.</i> dnia 1., potem 450 mg <i>i.v.</i> w dniu 15. i w tygodniu 24., 48. i 72.	ULTIMATE I – Steinman <i>et al.</i> , 2022 ULTIMATE II – Steinman <i>et al.</i> , 2022

Tab. 1. Charakterystyka porównawcza przeciwciał anti-CD20 wykorzystywanych w terapii SM

Przeciwciała monoklonalne anti-CD20 są zdolne do szybkiej i efektywnej deplecji krążących we krwi limfocytów B, wykorzystując trzy różne mechanizmy: cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał, cytotoksyczność zależną od dopełniacza i indukcję apoptozy (de Sèze *et al.*, 2023). W wyniku podania przeciwciał anti-CD20 krążące we krwi limfocyty B (około 2% całej populacji tych komórek) zostają wyeliminowane. Nie wiemy, jak bardzo po podaniu anti-CD20 deplecji ulegają limfocyty B w szpiku kostnym i innych narządach limfatycznych. Istnieją jedynie ograniczone dane dotyczące stopnia zmniejszenia liczby limfocytów B w narządach limfatycznych i pochodzą one głównie z badań na zwierzętach bądź z obserwacji z udziałem ludzi z innymi niż SM chorobami autoimmunologicznymi leczonymi rituksymabem (Zhong *et al.*, 2020). Badania te sugerują, iż limfocyty B zlokalizowane w szpiku kostnym, śledzionie i w węzłach chłonnych mogą być mniej podatne na deplecję niż komórki krążące we krwi. Prawdopodobnie także komórki B pamięci zlokalizowane w narządach obwodowych mogą skuteczniej uniknąć eliminacji przy podawaniu anti-CD20 (Baker *et al.*, 2017).

Początkową dawkę okrelizumabu podaje się w dwóch oddzielnych wlewach dożylnych po 300 mg w odstępie 2 tygodni; kolejne dawki podaje się w postaci pojedynczego wlewu dożylnego 600 mg co 24 tygodnie (Hauser *et al.*, 2017; Montalban *et al.*, 2017). Okres półtrwania tego leku wynosi 26 dni, a parametry farmakokinetyczne są typowe dla przeciwciała monoklonalnego klasy IgG1. W porównaniu z rituksymabem, mechanizm działania okrelizumabu bardziej wykorzystuje cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał, a mniej – cytotoksyczność zależną od dopełniacza (Mancinelli *et al.*, 2021). Podawanie okrelizumabu prowadzi do szybkiej i całkowitej eliminacji znajdujących się we krwi limfocytów B w ciągu 2 tygodni. Odtworzenie krążącej populacji limfocytów B jest powolne, a mediana czasu wymaganego dla rekonstrukcji tej populacji wynosi ponad 15 miesięcy. Bardzo mała liczba krążących limfocytów B, które można wykryć w trakcie eliminacji, zwykle wykazuje fenotyp prekursora komórek plazmatycznych. Po fazie eliminacji rekonstrukcja limfocytów B rozpoczyna się od naiwnych i niedojrzałych limfocytów, podczas gdy komórki B pamięci i plazmablasty wykazują powolne i opóźnione odtwarzanie (de Sèze *et al.*, 2023).

Białko CD20 występuje także na powierzchni subpopulacji limfocytów T (limfocyty T CD3+CD20dim). Komórki te stanowią niewielki odsetek wszystkich krążących limfocytów T, ale podawano, iż ich liczba jest zwiększona u pacjentów z SM (Ochs *et al.*, 2022; Shinoda *et al.*, 2023). Chociaż znaczenie patofizjologiczne limfocytów T wykazujących ekspresję CD20 pozostaje nieznane, wykazano zmniejszenie liczby tych komórek podczas leczenia rituksymabem. Możliwe, iż eliminacja limfocytów T z ekspresją CD20 przyczynia się do korzystnego efektu terapeutycznego przeciwciał monoklonalnych anti-CD20 u chorych na SM.

UTRZYMANIE ODPORNOŚCI U CHORYCH LECZONYCH ANTY-CD20 – MOŻLIWE KONSEKWENCJE W STRATEGII SZCZEPIEŃ

Ochrona przed rozwojem pełnoobjawowych infekcji, którym można zapobiegać poprzez szczepienie, to ważny aspekt leczenia SM, na przykład celem uniknięcia indukcji rzutu choroby. Doprowadzenie do produkcji neutralizujących przeciwciał jest podstawą ochronnego mechanizmu działania szczepień. Limfocyty B pamięci odgrywają kluczową rolę w uzyskaniu i utrzymaniu skutecznej immunizacji w wyniku szczepień. Komórki te różnicują do dwóch długożyjących populacji: komórek plazmatycznych (CD20 negatywnych) wydzielających ochronne przeciwciała oraz komórek B pamięci (CD20+), które są zdolne do szybkiej reakcji w wyniku zakażenia patogenem, przeciwko któremu podawana była szczepionka (Attfield *et al.*, 2022). Tym samym zagadnienie skuteczności podawania szczepionek u chorych leczonych przeciwciałami monoklonalnymi anti-CD20, w tym otrzymujących okrelizumab, jest bardzo istotne.

Komórki plazmatyczne, główna populacja odpowiedzialna za utrzymanie produkcji przeciwciał, nie mają na swojej powierzchni CD20 i nie są celem terapii anti-CD20 (de Sèze *et al.*, 2023). Co więcej, znajdujące się w węzłach chłonnych i innych narządach limfatycznych limfocyty B CD20+ mogą uniknąć eliminacji pomimo podania dożylnego anti-CD20. Komórki plazmatyczne przeżywają pod nieobecność komórek B pamięci (Lee *et al.*, 2021). Przy ponownej ekspozycji na antygen komórki B pamięci mogą ponownie przedostać się do węzłów chłonnych i różnicować się do komórek plazmatycznych, zapewniając odpowiedź na ponowną infekcję oraz drugą linię obrony przed wariantami pierwotnych patogenów, jeśli neutralizacja przez już obecne w surowicy przeciwciała okaże się niewystarczająca. Dodatkowo limfocyty T, szczególnie T CD4+, są bardzo ważne dla rozwoju i utrzymania skutecznej odporności humoralnej przeciwko infekcjom, a komórki te nie są bezpośrednio usuwane w trakcie terapii anti-CD20. Wszystkie te dane sugerują, iż pomimo znaczącej ingerencji w populację limfocytów B terapię anti-CD20 nie muszą prowadzić do utraty wcześniej wytworzonych ochronnych mechanizmów humoralnych ani uniemożliwiać wytworzenia nowych ochronnych produkcji przeciwciał w trakcie kolejnych szczepień. W randomizowanym, otwartym badaniu VELOCE celem bezpośrednio wykazania, jak wygląda rozwój odpowiedzi humoralnej, chorym na SM leczonym okrelizumabem podano cztery różne antygeny (Bar-Or *et al.*, 2020). Okazało się, iż podawanie anti-CD20 nie wpływało na istniejącą wcześniej odporność humoralną przeciwko testowanym antygenom, zaś w przypadku nowych epitopów występowało wytwarzanie, choć osłabione, świeżej odpowiedzi immunoglobulinowej. Podobnie kolejne badanie oceniające odpowiedź immunologiczną po szczepieniu szczepionką anti-SARS-CoV-2, BNT162b2, u chorych przyjmujących okrelizumab pokazało, iż humoralna odpowiedź wywołana tą wakcynacją była osłabiona u większości pacjentów

leczonych tym lekiem, ale dochodziło do rozwoju swoistych przeciwciał (Achiron *et al.*, 2021). Zaleca się, aby szczepienia u chorych przyjmujących okrelizumab były opóźnione o co najmniej kilka tygodni od przyjęcia kolejnej dawki leku (Tur *et al.*, 2022).

PODSUMOWANIE

Skuteczność przeciwciał monoklonalnych anti-CD20, w tym okrelizumabu, w terapii SM została przekonująco wykazana i potwierdzona w licznych randomizowanych, wielośrodkowych próbach klinicznych (Hauser *et al.*, 2020, 2017; Hawker *et al.*, 2009; Montalban *et al.*, 2017; Steinman *et al.*, 2022; Svenningsson *et al.*, 2022). Wykazano, że wczesne rozpoczęcie terapii anti-CD20 poprawia wyniki leczenia chorych na SM, w tym zmniejsza ryzyko rzutów i spowalnia narastanie niepełnosprawności. Co więcej, terapie te mogą zapewnić większą ochronę przed pogorszeniem związanym z rzutem choroby i postępowaniem niepełnosprawności niezależnym od rzutów. Dane te dobitnie potwierdzają rolę limfocytów B jako kluczowej grupy regulującej rozwój i przebieg autoimmunologicznej demielinizacji. Komórki te obecnie są uważane za jedną z najważniejszych populacji immunologicznych zaangażowanych w rozwój SM (Attfield *et al.*, 2022). Uważa się, że limfocyty B uczestniczą w procesach przełamania tolerancji i w indukcji autoagresji przeciwko epitopom mielin, zarówno w obwodowym układzie immunologicznym, jak i w obrębie OUN. Komórki te prawdopodobnie migrują do i z OUN i mogą pośredniczyć w utrzymaniu procesów autoagresji w przebiegu SM w obu tych obszarach. Odrębne cechy molekularne i farmakologiczne rytuksymabu, okrelizumabu, ofatumumabu i ublituksymabu dostarczają ważnych informacji na temat ich mechanizmów działania. Różnice w budowie tych cząsteczek mają wpływ na skuteczność deplecji limfocytów B, siłę działania, dawkowanie, immunogenność, reakcje związane z podawaniem leków i ryzyko infekcji (de Sèze *et al.*, 2023). Obecne schematy dawkowania rytuksymabu, okrelizumabu, ofatumumabu i ublituksymabu w SM powodują prawie całkowitą deplecję krążących limfocytów B. To tak znaczne zmniejszenie liczby obwodowych limfocytów B także wpływa na populację komórek osiadłych w narządach. Nie wiemy jednak, czy w przypadku SM konieczne jest tak znaczne zmniejszenie liczby limfocytów B. Sugeruje się, że równie dobry efekt kliniczny można by uzyskać, stosując schematy leczenia bardziej oszczędzające krążące limfocyty B (Rolfes i Meuth, 2022). Wreszcie limfocyty B zawierają także populacje o możliwym działaniu przeciwzapalnym, potencjalnie hamującym przebieg SM. Dalszy rozwój wiedzy na temat roli limfocytów B w patogenezie SM i poszukiwanie kolejnych metod terapeutycznej manipulacji tą populacją komórek powinny przynieść skuteczniejsze i bezpieczniejsze sposoby leczenia SM w porównaniu z obecnie stosowaną globalną eliminacją limfocytów B za pomocą przeciwciał monoklonalnych anti-CD20.

Podsumowując, terapie anti-CD20, w tym zastosowanie okrelizumabu, stanowią wielki krok naprzód w leczeniu SM. Dalsza optymalizacja tego leczenia i gromadzenie długoterminowych danych dotyczących bezpieczeństwa oraz znalezienie strategii minimalizujących zdarzenia niepożądane tej formy terapii SM będą bardzo istotne dla optymalizacji przyszłych protokołów leczenia tej choroby.

Konflikt interesów

Autor nie zgłasza żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Wkład autorów

Koncepcja i projekt badania; gromadzenie i/lub zestawianie danych; analiza i interpretacja danych; napisanie artykułu; krytyczne zrecenzowanie artykułu; zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu: MPM.

Piśmiennictwo

- Abeles I, Palma C, Meednu N *et al.*: B cell-directed therapy in autoimmunity. *Annu Rev Immunol* 2023. DOI: 10.1146/annurev-immunol-083122-044829.
- Absinta M, Lassmann H, Trapp BD: Mechanisms underlying progression in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2020; 33: 277–285.
- Achiron A, Mandel M, Dreyer-Alster S *et al.*: Humoral immune response to COVID-19 mRNA vaccine in patients with multiple sclerosis treated with high-efficacy disease-modifying therapies. *Ther Adv Neurol Disord* 2021; 14: 17562864211012835.
- Attfield KE, Jensen LT, Kaufmann M *et al.*: The immunology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 2022; 22: 734–750.
- Baker D, Marta M, Pryce G *et al.*: Memory B cells are major targets for effective immunotherapy in relapsing multiple sclerosis. *EBioMedicine* 2017; 16: 41–50.
- Bar-Or A, Li R: Cellular immunology of relapsing multiple sclerosis: interactions, checks, and balances. *Lancet Neurol* 2021; 20: 470–483.
- Bar-Or A, Calkwood JC, Chognot C *et al.*: Effect of ocrelizumab on vaccine responses in patients with multiple sclerosis: the VELOCE study. *Neurology* 2020; 95: e1999–e2008.
- Bar-Or A, O'Brien SM, Sweeney ML *et al.*: Clinical perspectives on the molecular and pharmacological attributes of anti-CD20 therapies for multiple sclerosis. *CNS Drugs* 2021; 35: 985–997.
- Bierhansl L, Hartung HP, Aktas O *et al.*: Thinking outside the box: non-canonical targets in multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov* 2022; 21: 578–600.
- Bjornevik K, Münz C, Cohen JI *et al.*: Epstein-Barr virus as a leading cause of multiple sclerosis: mechanisms and implications. *Nat Rev Neurol* 2023; 19: 160–171.
- Blauth K, Owens GP, Bennett JL: The ins and outs of B cells in multiple sclerosis. *Front Immunol* 2015; 6: 565.
- von Büdingen HC, Bischof A, Eggers EL *et al.*: Onset of secondary progressive MS after long-term rituximab therapy – a case report. *Ann Clin Transl Neurol* 2017; 4: 46–52.
- Catalán D, Mansilla MA, Ferrier A *et al.*: Immunosuppressive mechanisms of regulatory B cells. *Front Immunol* 2021; 12: 611795.
- Clark MR, Mandal M, Ochiai K *et al.*: Orchestrating B cell lymphopoiesis through interplay of IL-7 receptor and pre-B cell receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 69–80.
- Comi G, Bar-Or A, Lassmann H *et al.*, Expert Panel of the 27th Annual Meeting of the European Charcot Foundation: Role of B cells in multiple sclerosis and related disorders. *Ann Neurol* 2021; 89: 13–23.
- Cragg MS, Walshe CA, Ivanov AO *et al.*: The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8: 140–174.

- Frohman EM, Racke MK, Raine CS: Multiple sclerosis – the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 2006; 354: 942–955.
- Hauser SL, Cree BAC: Treatment of multiple sclerosis: a review. *Am J Med* 2020; 133: 1380–1390.e2.
- Hauser SL, Bar-Or A, Cohen JA et al.; ASCLEPIOS I and ASCLEPIOS II Trial Groups: Ofatumumab versus teriflunomide in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2020; 383: 546–557.
- Hauser SL, Bar-Or A, Comi G et al.; OPERA I and OPERA II Clinical Investigators: Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 221–234.
- Hawker K, O'Connor P, Freedman MS et al.; OLYMPUS trial group: Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol* 2009; 66: 460–471.
- Höftberger R, Lassmann H, Berger T et al.: Pathogenic autoantibodies in multiple sclerosis – from a simple idea to a complex concept. *Nat Rev Neurol* 2022; 18: 681–688.
- Inoue T, Kurosaki T: Memory B cells. *Nat Rev Immunol* 2024; 24: 5–17.
- Jelcic I, Al Nimer F, Wang J et al.: Memory B cells activate brain-homing, autoreactive CD4⁺ T cells in multiple sclerosis. *Cell* 2018; 175: 85–100.e23.
- Jones K, Savulescu AF, Brombacher F et al.: Immunoglobulin M in health and diseases: how far have we come and what next? *Front Immunol* 2020; 11: 595535.
- Lanz TV, Brewer RC, Ho PP et al.: Clonally expanded B cells in multiple sclerosis bind EBV EBNA1 and GlialCAM. *Nature* 2022; 603: 321–327.
- Lassmann H: Pathogenic mechanisms associated with different clinical courses of multiple sclerosis. *Front Immunol* 2019; 9: 3116.
- Lee DSW, Rojas OL, Gommerman JL: B cell depletion therapies in autoimmune disease: advances and mechanistic insights. *Nat Rev Drug Discov* 2021; 20: 179–199.
- Li R, Rezk A, Miyazaki Y et al.; Canadian B cells in MS Team: Proinflammatory GM-CSF-producing B cells in multiple sclerosis and B cell depletion therapy. *Sci Transl Med* 2015; 7: 310ra166.
- Lock C, Hermans G, Pedotti R et al.: Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 2002; 8: 500–508.
- Magliozzi R, Howell O, Vora A et al.: Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain* 2007; 130: 1089–1104.
- Mancinelli CR, Rossi N, Capra R: Ocrelizumab for the treatment of multiple sclerosis: safety, efficacy, and pharmacology. *Ther Clin Risk Manag* 2021; 17: 765–776.
- Montalban X, Hauser SL, Kappos L et al.; ORATORIO Clinical Investigators: Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 209–220.
- Negron A, Stüve O, Forsthuber TG: Ectopic lymphoid follicles in multiple sclerosis: centers for disease control? *Front Neurol* 2020; 11: 607766.
- Nemazee D: Mechanisms of central tolerance for B cells. *Nat Rev Immunol* 2017; 17: 281–294.
- Ochs J, Nissimov N, Torke S et al.: Proinflammatory CD20⁺ T cells contribute to CNS-directed autoimmunity. *Sci Transl Med* 2022; 14: eabi4632.
- Pucca MB, Cerni FA, Janke R et al.: History of envenoming therapy and current perspectives. *Front Immunol* 2019; 10: 1598.
- Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA: Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2018; 378: 169–180.
- Rodriguez-Mogeda C, Rodriguez-Lorenzo S, Attia J et al.: Breaching brain barriers: B cell migration in multiple sclerosis. *Biomolecules* 2022; 12: 800.
- Rolfes L, Meuth SG: Stable multiple sclerosis patients on anti-CD20 therapy should go on extended interval dosing – “Yes”. *Mult Scler* 2022; 28: 691–693.
- Sabatino JJ Jr, Zamvil SS, Hauser SL: B-cell therapies in multiple sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019; 9: a032037.
- Selmaj KW, Mycko MP, Furlan R et al.: Fluid phase biomarkers in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2022; 35: 286–292.
- de Sèze J, Maillart E, Gueguen A et al.: Anti-CD20 therapies in multiple sclerosis: from pathology to the clinic. *Front Immunol* 2023; 14: 1004795.
- Shen P, Fillatreau S: Antibody-independent functions of B cells: a focus on cytokines. *Nat Rev Immunol* 2015; 15: 441–451.
- Shinoda K, Li R, Rezk A et al.: Differential effects of anti-CD20 therapy on CD4 and CD8 T cells and implication of CD20-expressing CD8 T cells in MS disease activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2023; 120: e2207291120.
- Soldan SS, Lieberman PM: Epstein–Barr virus and multiple sclerosis. *Nat Rev Microbiol* 2023; 21: 51–64.
- Steinman L, Fox E, Hartung HP et al.; ULTIMATE I and ULTIMATE II Investigators: Ublituximab versus teriflunomide in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2022; 387: 704–714.
- Svenningsson A, Frisell T, Burman J et al.: Safety and efficacy of rituximab versus dimethyl fumarate in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis or clinically isolated syndrome in Sweden: a rater-blinded, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Neurol* 2022; 21: 693–703.
- Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F et al.: Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 2018; 17: 162–173.
- Tur C, Dubessy AL, Otero-Romero S et al.: The risk of infections for multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder disease-modifying treatments: Eighth European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis Focused Workshop Review. April 2021. *Mult Scler* 2022; 28: 1424–1456.
- Zhong M, van der Walt A, Campagna MP et al.: The pharmacogenetics of rituximab: potential implications for anti-CD20 therapies in multiple sclerosis. *Neurotherapeutics* 2020; 17: 1768–1784.