

Stimolatore B cellulare (BLyS) e monociti: possibile ruolo nelle malattie autoimmuni ed in particolare nell'artrite reumatoide

*B Lymphocyte stimulator (BLyS) and monocytes: possible role
in autoimmune diseases with a particular reference to rheumatoid arthritis*

L. Quartuccio¹, M. Fabris¹, G. Ferraccioli²

¹Clinica di Reumatologia, Università degli Studi di Udine; ²Clinica di Reumatologia Policlinico Gemelli, Università Cattolica, Roma

SUMMARY

Recently, a new member of the TNF family, BLyS, was identified. This protein, synthesized by myeloid cell lines, specifically interacts with B lymphocytes and increases their life-span. BLyS was studied in the murine models of some autoimmune diseases and it was demonstrated that it has a key role in the B lymphocyte system homeostasis and in the relation between chronic inflammation and the autoimmunity. Analysis of BLyS plasma levels in Systemic Lupus Erythematosus, Sjögren's Syndrome and Rheumatoid Arthritis (RA) has shown that BLyS is higher in a group of patients than in the controls. In RA, BLyS correlates with the disease activity, in particular, with the swollen joints count; so, at least part of the chronic rheumatoid synovitis could be the epiphenomenon of the B cells activation driven by monocyte-macrophage population. More studies are necessary to understand the role of BLyS in the interaction between the monocyte and the B lymphocyte in some autoimmune disease and the possible usefulness of this cytokine as a diagnostic or prognostic marker and/or therapeutic target.

Reumatismo, 2004; 56(3):143-146

INTRODUZIONE

Il Lupus Eritematoso Sistemico (LES) e la Sindrome di Sjögren (SS) sono le due principali malattie autoimmuni in cui l'attivazione B cellulare ha un ruolo fondamentale nella patogenesi e nella persistenza della malattia, come dimostrato dall'importanza degli autoanticorpi, sia nella diagnosi di laboratorio che nella determinazione delle manifestazioni cliniche di queste malattie, e dalla stretta associazione tra i linfomi MALT e la SS (1, 2). Nell'Artrite Reumatoide (AR) la sinovite cronica è caratterizzata da due popolazioni prevalenti, i linfociti T e i monociti-macrofagi (3), la cui stretta collaborazione nel determinismo della flogosi

reumatoide riflette la significativa associazione dell'AR con alcune molecole di istocompatibilità di classe II (MHC II), quali gli HLA DR1 e DR4 (4). Tuttavia recenti indagini istopatologiche hanno dimostrato che almeno in un quarto delle biopsie sinoviali è presente il reperto istologico di centri germinativi, cosiddetti terziari data la loro localizzazione ectopica (5); questi sono la sede specifica dell'attivazione dei linfociti B da parte dell'antigene presentato loro dai linfociti T e dalle cellule dendritiche follicolari. Questa terza popolazione cellulare, almeno in un sottogruppo di pazienti, potrebbe giocare un ruolo tutt'altro che marginale sia nella patogenesi che nella persistenza dell'AR.

In questo contesto, l'identificazione di una molecola espressa e secreta dalle cellule di origine mieloide e attiva selettivamente sui linfociti B può rappresentare il punto di partenza per investigare il grado di cooperazione tra monociti-macrofagi e linfociti B nelle malattie autoimmuni e la relazione tra flogosi cronica e attivazione B cellulare.

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Gianfranco Ferraccioli,
Clinica di Reumatologia, Università Cattolica,
Via Moscati 31, 00168 Roma
E-mail: gf.ferraccioli@rm.unicatt.it

BLyS: UN NUOVO MEMBRO DELLA FAMIGLIA DEL TNF- α

Questa citochina è BLyS (*B-Lymphocyte Stimulator*) (6), una proteina scoperta nel 1999 contemporaneamente da quattro diversi gruppi di ricercatori, attraverso lo screening di una cDNA library per omologia di sequenza col TNF- α . BLyS appartiene, dunque, alla superfamiglia del TNF- β , è una proteina transmembrana di tipo II di 285 aminoacidi, ma esiste anche in forma solubile. Viene sintetizzata principalmente dai monociti-macrofagi e si lega ai suoi tre recettori (TACI, BCMA e BAFF-R) espressi principalmente dai linfociti B CD19+ naïve e di memoria (recentemente l'espressione di TACI è stata dimostrata anche sui linfociti T attivati) (7, 8). Attraverso due fattori di trascrizione nucleare, NF- κ B e Rel-B, esercita due effetti principali:

- a) incrementa il *life-span* delle cellule che producono gli anticorpi e
- b) ne potenzia la funzione di *Antigen Presenting Cell* (APC) (9).

La sintesi e l'espressione di BLyS è modulata sostanzialmente da tre citochine di origine linfomonocitaria: l'interferon (IFN)- γ e l'interleuchina (IL)-10 hanno un effetto di induzione, mentre l'IL-4 esercita un effetto inibitorio (10).

BLyS E I MODELLI MURINI

I dati ottenuti dallo studio dei topi transgenici che iperesprimono BLyS confermano il ruolo chiave svolto da questa citochina nei meccanismi B-dipendenti della risposta immunitaria; infatti, in questi topi sono presenti evidenti segni di iperplasia del comparto B cellulare e iperglobulinemia. Il titolo delle diverse classi di immunoglobuline è aumentato e contestualmente si evidenzia la presenza di linfadenomegalia, splenomegalia, ipertrofia delle placche del Peyer in associazione ad immunocomplessi circolanti, al FR, ad anticorpi anti-dsDNA ed anti-ssDNA, anticorpi antinucleo ed anti-istone (11). Inoltre, in questo modello murino si sviluppa una nefrite caratterizzata da proteinuria, estesi infiltrati leucocitari, segni di vasculite, alterazioni morfologiche dei glomeruli in presenza di immunoprecipitati; più tardivamente compare l'infiltrato infiammatorio a carico delle ghiandole salivari con segni di distruzione delle cellule acinari, che clinicamente si manifesta con l'aumento del volume ghiandolare

e la riduzione della produzione salivare (12). Come controprova del ruolo patogenetico di BLyS nel determinare tipiche manifestazioni di malattie autoimmuni, la somministrazione di anticorpi che bloccano il recettore TACI nei topi del ceppo NZBWF1, modello murino di LES, ha prodotto una riduzione della proteinuria, un aumento della sopravvivenza, in concomitanza ad un decremento dei livelli di linfociti B circolanti, come si osserva anche nei topi knockout per BLyS, nei quali si dimostra l'abolizione delle risposte anticorpali T-dipendente e T-indipendente (13, 8).

BLyS ED AUTOIMMUNITÀ

I modelli murini di LES, i ceppi NZBWF1 e MRL-*lpr/lpr*, mostrano elevati livelli di BLyS nel siero e, come detto sopra, la neutralizzazione di questa citochina con anticorpi specifici migliora il quadro clinico (13, 14); analogamente la comparsa della flogosi e dell'erosione articolare che si osservano nel modello murino di artrite infiammatoria non infettiva, cioè l'artrite indotta dalla somministrazione di collagene di tipo II, viene bloccata dal trattamento con proteine chimeriche TACI-Ig prima o dopo l'induzione della malattia (15).

Nell'uomo, l'analisi dei livelli di BLyS nel siero dei pazienti con gravi malattie autoimmuni caratterizzate dalla espansione del compartimento B cellulare come il LES, la SS e l'AR, ha rivelato più elevati livelli di BLyS rispetto ai controlli (16-18, 12). In particolare, in una coorte di 55 pazienti abbiamo dimostrato che in un quinto di essi (21,8%) i livelli plasmatici di BLyS sono superiori al cut off di normalità; inoltre, i livelli plasmatici di BLyS correlano con l'attività di malattia (DAS) e con il numero delle articolazioni tumefatte (19). Questo potrebbe riflettere il ruolo diretto, "disease driver" nella flogosi cronica di BLyS o rispecchiare semplicemente come dato laboratoristico l'infiammazione cronica; tuttavia, poiché, da un lato, l'espressione di BLyS è comunque legata alla flogosi cronica e, dall'altro, l'infezione cronica è un possibile meccanismo eziopatogenetico di queste malattie, è plausibile ipotizzare che sia proprio l'infezione cronica a condizionare un rilascio sostenuto di BLyS tale da scatenare l'autoimmunità, in particolare in presenza di un *background* genetico predisponente (20). Infatti, la classe di cellule B principalmente implicata nello sviluppo dell'autoimmunità appare essere il linfocita B MZ (Marginal Zone) sple-

nico, dal momento che (a) nei modelli murini di LES e nei topi BLyS-Tg che sviluppano sialoadenite cronica una larga parte dei cloni autoreattivi sono costituiti da cellule con fenotipo MZ-like e (b) le cellule MZ mediano una risposta anticorpale rapida proprio contro antigeni batterici e gli anticorpi prodotti potrebbero *cross-reagire* con autoantigeni. Questi linfociti B che appaiono così critici nell'autoimmunità si differenziano a partire dai linfociti B T2; BLyS esercita il suo effetto, in particolare, proprio su questa classe di linfociti immaturi, che risulta aumentata di numero nei topi BLyS-Tg e presente in modo abnorme sia nel sangue periferico che nei linfonodi: l'effetto antiapoptotico di BLyS, dunque, si traduce, probabilmente, nella sopravvivenza anche dei cloni autoreattivi dei linfociti B T2, che poi maturano e vanno a far parte del pool dei linfociti B circolanti (21-23).

CONCLUSIONE

Le informazioni che l'identificazione e lo studio di una molecola come BLyS possono fornire, riguardano le malattie autoimmuni sia da un punto di vista strettamente biologico, poiché possono aprire nuove prospettive di ricerca riguardo all'eziopatogenesi di tali malattie, sia da un punto di vista cli-

nico, poiché individuano nuovi possibili *marker* di malattia e *target* terapeutici specifici.

La relazione che sta emergendo tra BLyS e l'autoimmunità pone l'accento sulla stretta interrelazione tra i meccanismi che regolano la sopravvivenza cellulare e i processi che modulano l'immunotolleranza. Recentemente, infatti, è stato evidenziato che il segnale mediato dal B Cell Receptor (BCR) è selettivamente accoppiato all'espressione del recettore di BLyS, Bcmd/BR3, il che induce a ritenere che BLyS possa in qualche modo alterare la soglia del segnale del BCR e, quindi, modulare uno dei meccanismi fondamentali della tolleranza periferica, cioè l'affinità del riconoscimento dell'antigene (Fig. 1) (24).

Il ruolo cruciale che questa citochina sembra avere soprattutto nelle malattie autoimmuni B-mediate e l'efficacia degli anticorpi anti-BLyS nei modelli murini impone uno studio attento dei meccanismi che regolano l'espressione e la secrezione di BLyS nella prospettiva di poterne modulare i livelli plasmatici e, in questo modo, agire sulla perdita dell'immunotolleranza. Attualmente, non sono disponibili terapie in grado di modulare la sintesi e la secrezione di BLyS, tuttavia la FDA ha approvato la sperimentazione da parte dello *Human Genome Sciences* di *Lymphostat-B*, l'anticorpo monoclonale anti-BLyS, nel trattamento di alcune malattie autoimmuni.

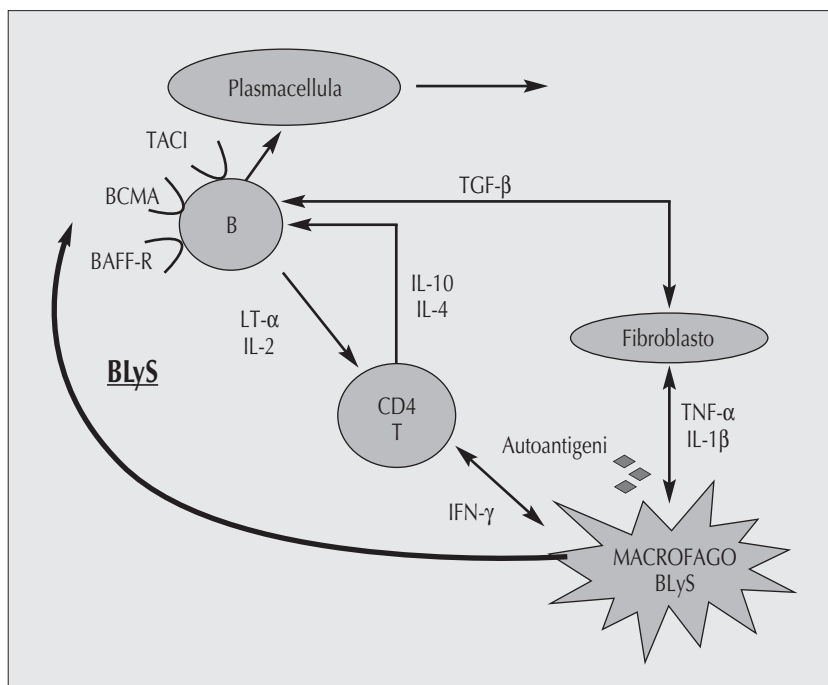


Figura 1 - Ruolo dei linfociti B nella sinovite cronica reumatoide. L'attivazione dei linfociti T e B potrebbe innescare un circolo vizioso che si automantiene attraverso la liberazione di autoantigeni, la proliferazione fibroblastica e l'attivazione macrofagica e che esita nella sinovite cronica reumatoide e, quindi, nella distruzione tissutale.

RIASSUNTO

Recentemente, è stato identificato un nuovo membro della famiglia del TNF- α : BLYS. Questa citochina di origine monocitaria agisce elettivamente sui linfociti B, incrementandone il life-span. Lo studio del BLYS nei modelli murini di alcune malattie autoimmuni ha evidenziato il ruolo chiave di questa citochina nell'omeostasi del compartimento B cellulare e nel legame tra flogosi cronica e modulazione dell'autoimmunità. L'analisi dei livelli plasmatici di BLYS nel Lupus Eritematoso Sistemico (LES), nella sindrome di Sjögren (SS) e nell'Artrite Reumatoide (AR) ha evidenziato che in un gruppo di pazienti BLYS mostra livelli superiori al cut off di normalità. Nell'AR, BLYS correla con l'attività di malattia (DAS) ed in particolare col numero di articolazioni tumefatte; questo induce a considerare che, almeno in un sottogruppo di pazienti, la sinovite cronica reumatoide costituisca l'epifenomeno dell'attivazione B linfoide guidata dalla popolazione monocito-macrofagica. Ulteriori studi chiariranno il ruolo di BLYS nelle malattie autoimmuni B-mediate, ed il suo possibile utilizzo sia come marker diagnostico e/o prognostico sia come target terapeutico.

Parole chiave - BLYS, cellule B, monociti, artrite reumatoide.

Key words - BLYS, B cells, monocytes, rheumatoid arthritis.

BIBLIOGRAFIA

- Liou SN, Kovacs B, Dennis G, Kammer GM, Tsokos GC. B cells from patients with systemic lupus erythematosus display abnormal antigen receptor-mediated early signal transduction events. *J Clin Invest* 1996; 98: 2549-57.
- Mariette X. Gougerot-Sjögren syndrome. Risk of lymphoma. *Presse Med* 1999; 28: 1214-8.
- Panayi GS. T-cell-dependent pathways in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9: 236-40.
- Lanchbury JS. The HLA association with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheum* 1992; 10: 301-9.
- Stiehl P. Histopathological classification of synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis. In: *Surgical Pathology Update 2001-18th European Congress of Pathology*. ABW, Berlin: 281-3.
- Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P, et al. BLYS: a member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999; 285: 260-3.
- Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, Yu GL, Aggarwal BB. Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor-kappaB, and c-Jun NH2-terminal kinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 15978-81.
- Von Bulow GU, van Deursen JM, Bram RJ. Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity* 2001; 14: 573-82.
- Marsters SA, Yan M, Pitti RM, Haas PE, Dixit VM, Ashkenazi A. Interaction of the TNF homologues BLYS and APRIL with the TNF receptor homologues BCMA and TACI. *Curr Biol* 2000; 10: 785-8.
- Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 2001; 97: 198-204.
- Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, Ambrose C, Baetscher M, Schneider P, et al. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med* 1999; 190: 1697-710.
- Groom J, Kalled SL, Cutler AH, Olson C, Woodcock SA, Schneider P, et al. Association of BAFF/BLYS overexpression and altered B cell differentiation with Sjögren's syndrome. *J Clin Invest* 2002; 109: 59-68.
- Gross JA, Dillon SR, Mudri S, Johnston J, Littau A, Roque R, et al. TACI-Ig neutralizes molecules critical for B cell development and autoimmune disease. Impaired B cell maturation in mice lacking BlyS. *Immunity* 2001; 15: 289-302.
- Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon SR, Madden K, et al. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature* 2000; 404: 995-9.
- Wang H, Marsters SA, Baker T, Chan B, Lee WP, Fu L, et al. TACI-ligand interactions are required for cell activation and collagen-induced arthritis in mice. *Nature Immunology* 2001; 2: 632-7.
- Dorner T, Putterman C. B cell, BAFF/zTNF4, TACI, and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res* 2001; 3: 197-9.
- Stohl W. Systemic lupus erythematosus: a BLYSless disease of too much BLYS protein. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 522-8.
- Mariette X. The level of BLYS (BAFF) correlates with the titre of autoantibodies in human Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 168-71.
- Fabris M et al. Correlazione tra BLYS plasmatico, TNFR2 solubile e attività di malattia in pazienti con artrite reumatoide. Abstract n°72 presentato al 40° Congresso Nazionale della Società Italiana di Reumatologia (SIR).
- Mackay F, Schneider P, Rennert P, Browning J. BAFF and APRIL: a tutorial on B cell survival. *Ann Rev Immunol* 2003; 21: 231-26.
- Batten M, Groom J, Cachero TG, Qian F, Schneider P, Tschopp J, et al. BAFF mediates survival of peripheral immature B lymphocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 1453-66.
- Martin F, Kearney JF. Marginal-zone B cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 323-35.
- Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 465-75.
- Smith HS, Cancro MP. Integrating B cell homeostasis and selection with BLYS. *Arch Immunol Ther Exp* 2003; 51: 209-18.