

Ανοσολογικοί μηχανισμοί στη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα

Η σημασία της ενδοκυτταρικής μετάδοσης σήματος

Χαράλαμπος Παπαγώρας
Ρευματολόγος

Πανεπιστημιακός Υπότροφος Ιατρικής Σχολής ΔΠΘ



Καρπενήσι, 26 Νοεμβρίου 2016

Σύγκρουση συμφερόντων

- Δεν υπάρχει κάποια σύγκρουση συμφερόντων για αυτήν την ομιλία

Εκπαιδευτικές-ερευνητικές-συμβουλευτικές επιχορηγήσεις την τελευταία διετία:

- MSD, Roche, Abbvie, Novartis, Genesis

Περίγραμμα

- Ομοιόσταση του ανοσοποιητικού συστήματος
- Ο ρόλος των κυτταροκινών στην παθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας
- Μονοπάτια μετάδοσης του σήματος στη ρευματοειδή αρθρίτιδα
- Μονοπάτια JAK
- Συμπεράσματα

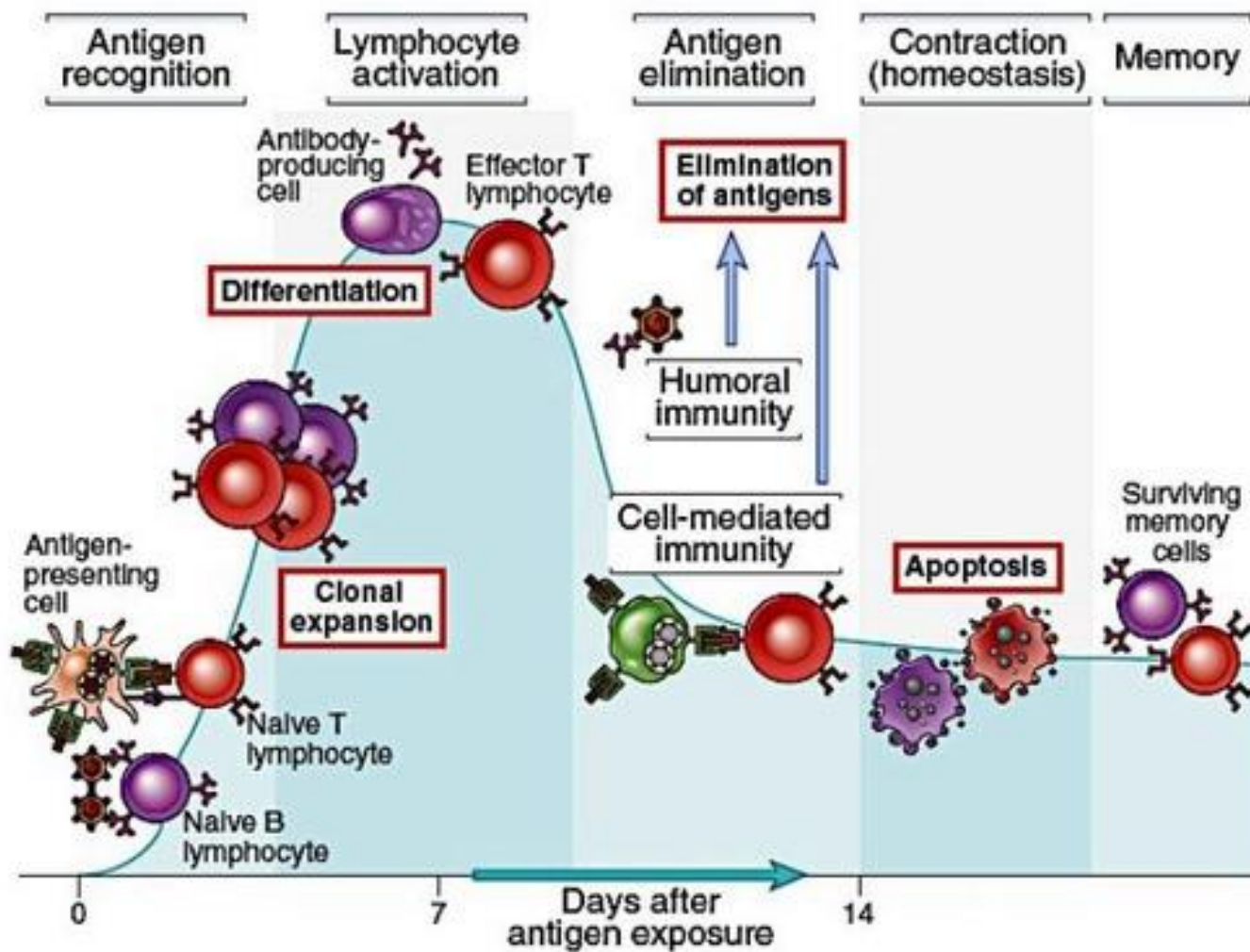


Ομοιότητα του ανοσοποιητικού συστήματος

Ομοιόσταση ανοσοποιητικού συστήματος και αυτοάνοση νόσος

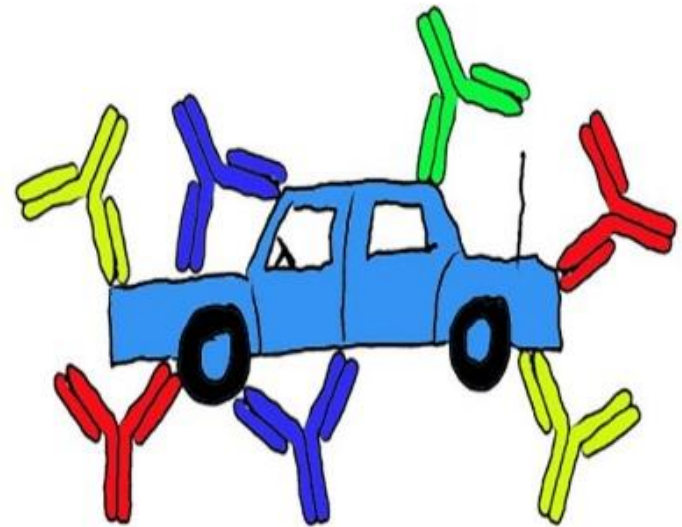
- Η ομοιόσταση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι η ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να ανταποκρίνεται **δυναμικά** στο περιβάλλον με τρόπο τέτοιο ώστε η υγεία και η λειτουργική κατάσταση του ατόμου να **διατηρείται** διαχρονικά
- Παρόλο που **αυτοάνοσα φαινόμενα** εμφανίζονται συχνά σε **υγιή** άτομα, στα **αυτοάνοσα νοσήματα**, όπου ενδέχεται να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο **γενετικοί** και **περιβαλλοντικοί** παράγοντες, παρατηρείται **παθογονόνος αυτοανοσία**, η οποία μπορεί να είναι χυμικής φύσεως ή κυτταροδιαμεσολαβούμενη ή και τα δύο

Η φυσιολογική εξέλιξη της ανοσιακής απάντησης

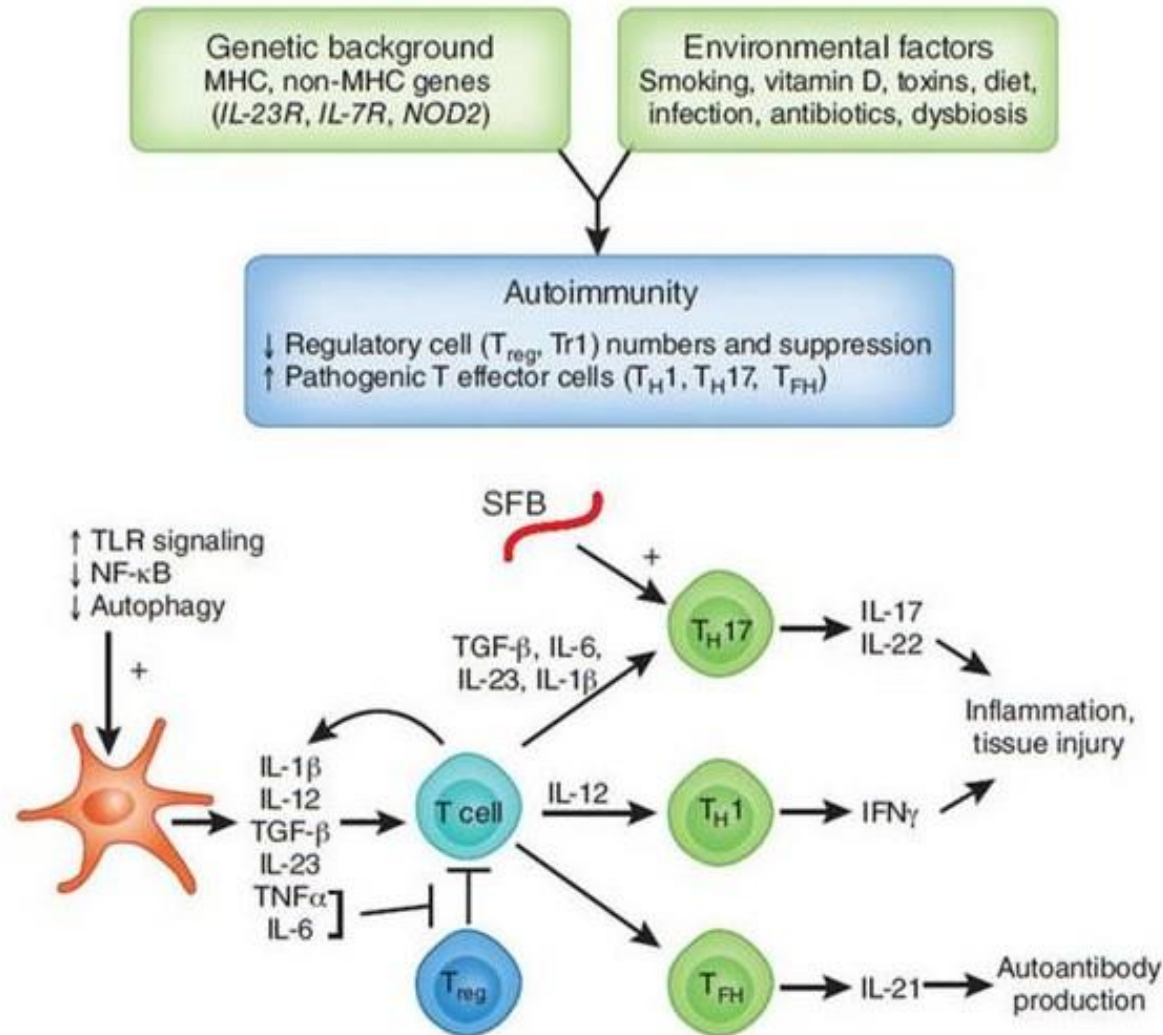


Διαταραχές της ανοσιακής απάντησης

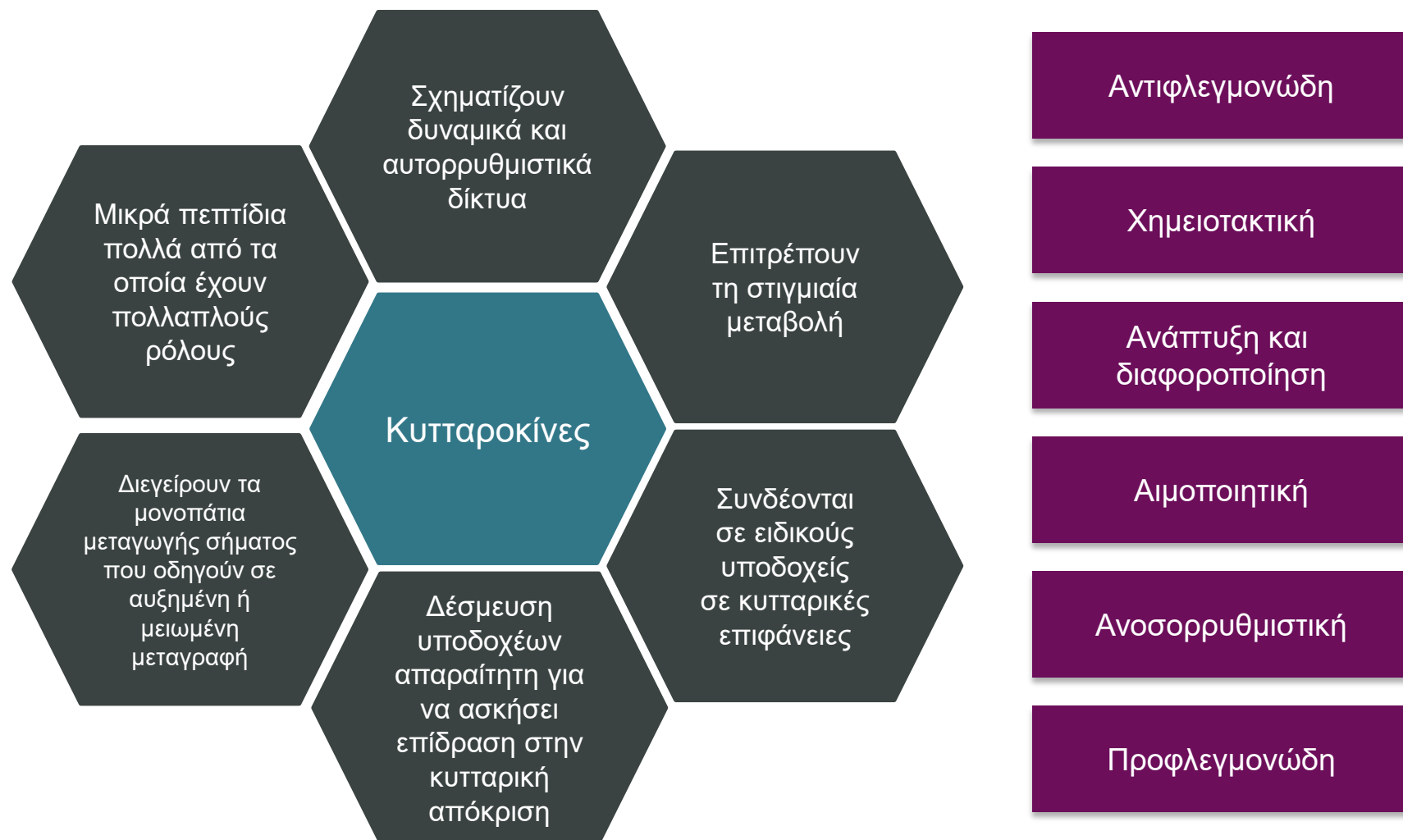
- Ανοσοανεπάρκεια
 - Πολύ λίγη
- Υπερευαισθησία
 - Πάρα πολλή
- Αυτοανοσία
 - Λανθασμένη στόχευση



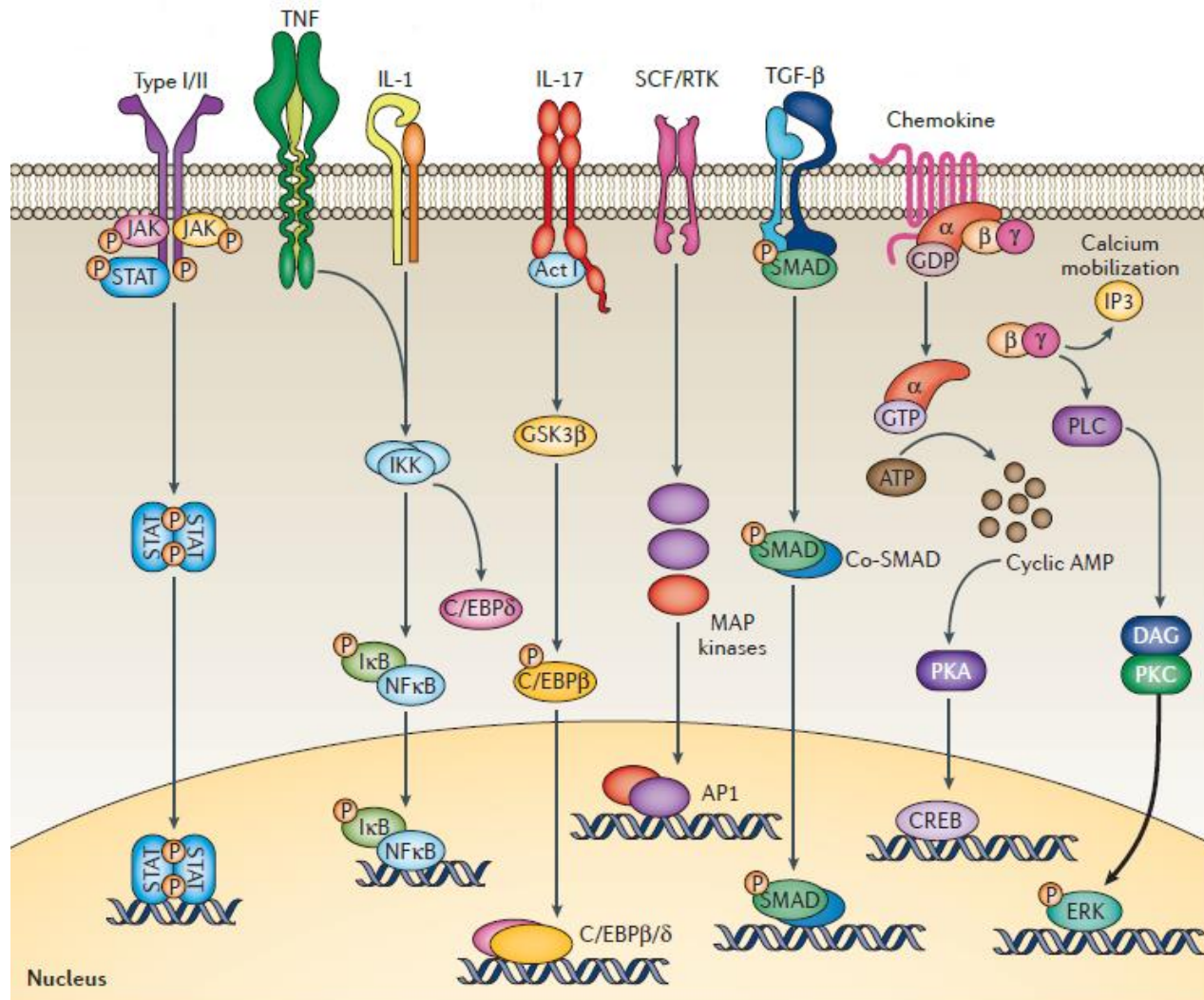
Ανάδυση της Αυτοανοσίας



Οι κυτταροκίνες συμβάλουν στη ρύθμιση πολλών βιολογικών διεργασιών



Αναγνώριση των μονοπατιών ενδοκυττάριας μεταβίβασης



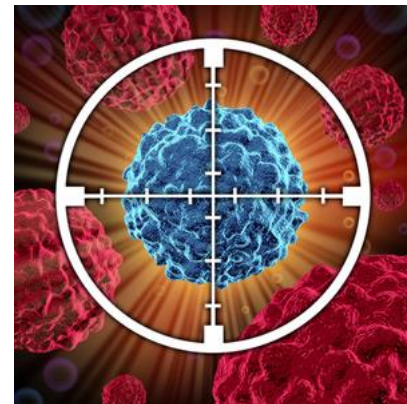
Από τις θεραπείες με “μη-ειδικό” τρόπο δράσης στις “στοχευμένες” θεραπείες των ρευματικών παθήσεων

- Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη
- Γλυκοκορτικοειδή
- Υδροξυχλωροκίνη
- Σουλφασαλαζίνη
- Μεθοτρεξάτη
- Κυκλοσπορίνη Α
- Αζαθειοπρίνη
- Κυκλοφωσφαμίδα



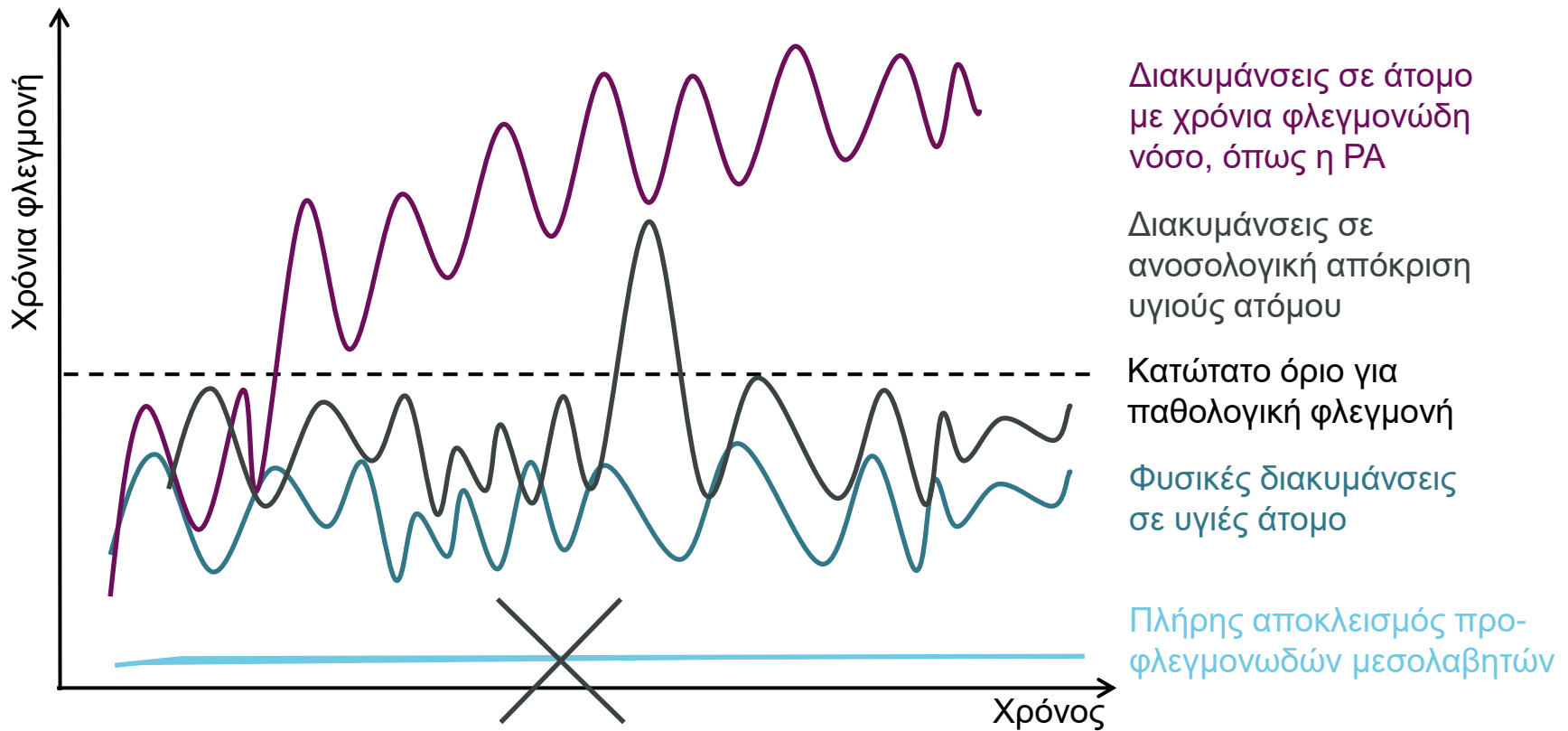
• Αντικυτταροκινικές θεραπείες

- IL-1
- IL-6
- TNF α
- IL-12/23
- IL-17
- BLyS



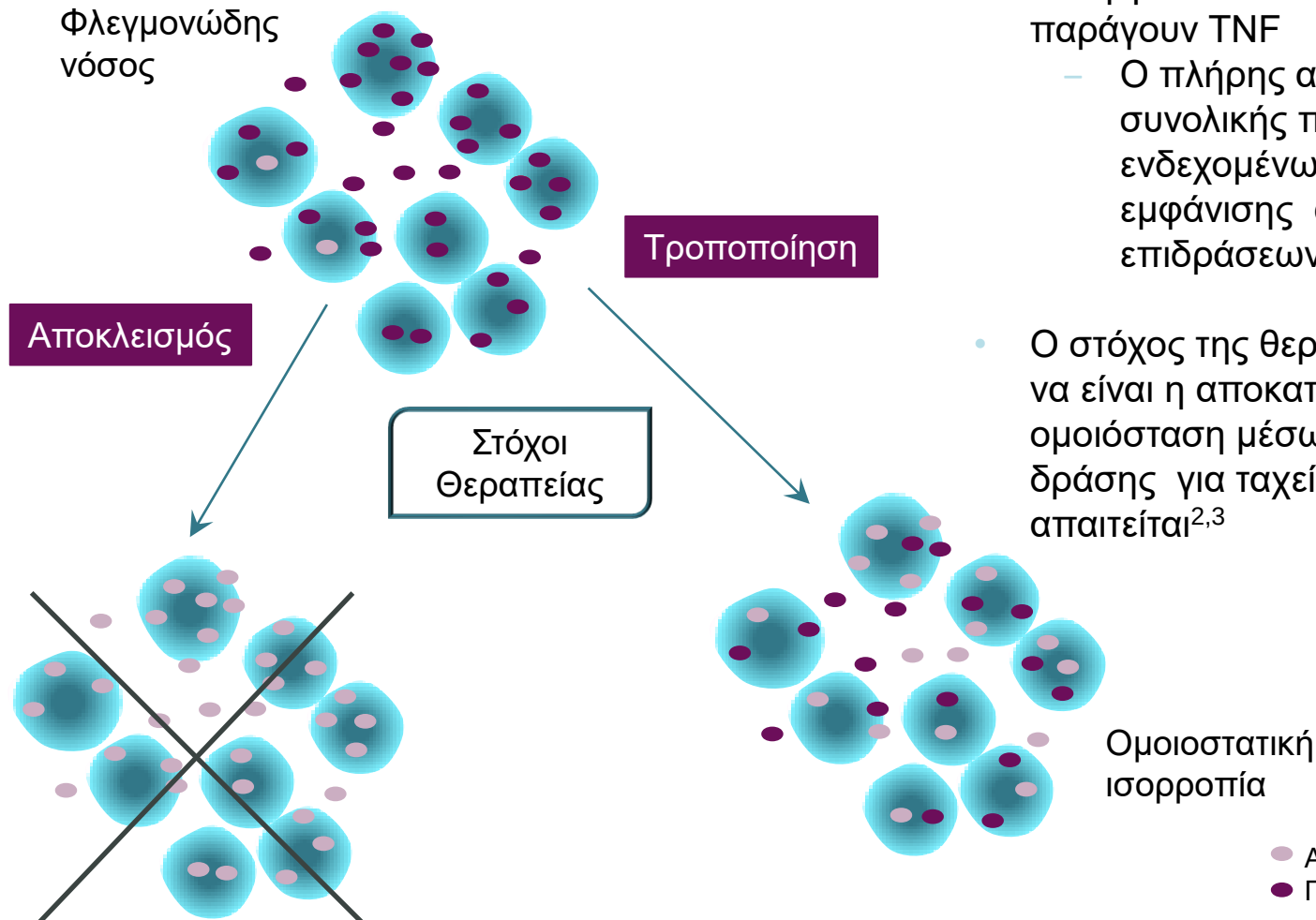
- Θεραπείες κυτταρικής εξάλειψης
- Τροποποιητές συνδιέγερσης
- Τροποποιητές της ενδοκυττάριας μεταβίβασης σήματος
 - Αναστολείς PDE-4
 - Αναστολείς κινασών

Η φλεγμονή παρουσιάζει φυσικές διακυμάνσεις με την πάροδο του χρόνου



Στόχος της θεραπείας είναι η αποκατάσταση των φυσικών διακυμάνσεων κάτω από το κατώτατο όριο

Αποκατάσταση ομοιόστασης: Αποκλεισμός έναντι ρύθμισης



- Η αποτελεσματική αντί-TNF θεραπεία στη ΡΑ επιτυγχάνεται όταν δεν καταργούνται πλήρως τα κύτταρα που παράγουν TNF
 - Ο πλήρης αποκλεισμός της συνολικής παραγωγής TNF ενέχει ενδεχομένως τον κίνδυνο εμφάνισης ανοσοκατασταλτικών επιδράσεων¹
- Ο στόχος της θεραπείας θα πρέπει να είναι η αποκατάσταση της ομοιόστασης μέσω θεραπειών βραχείας δράσης για ταχεία αναστροφή εφόσον απαιτείται^{2,3}

● Αντι-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες
● Προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες

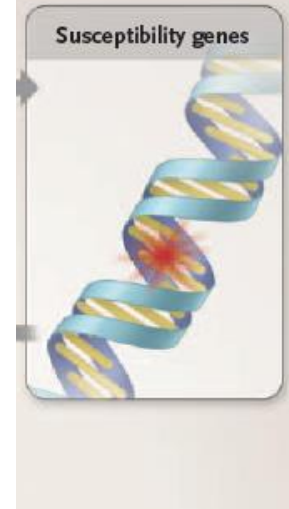
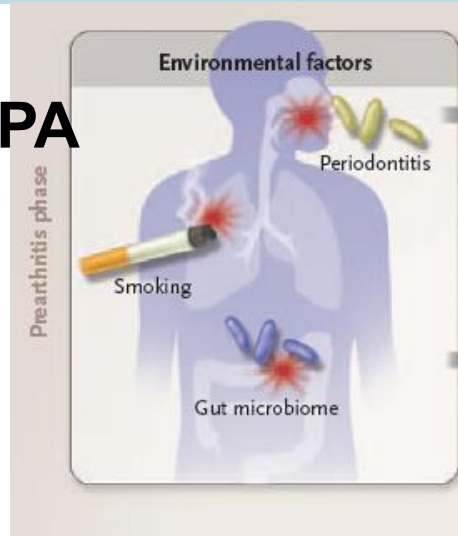
TNF, tumour necrosis factor, παράγοντας νέκρωσης όγκου.

1. Fischer R, et al. *Antibodies* 2015;4:48-70. 2. Curtis JR, et al. *Clin Ther* 2011;33:679–707. 3. Mócsai et al. *BMC Medicine* 2014; 12:43.



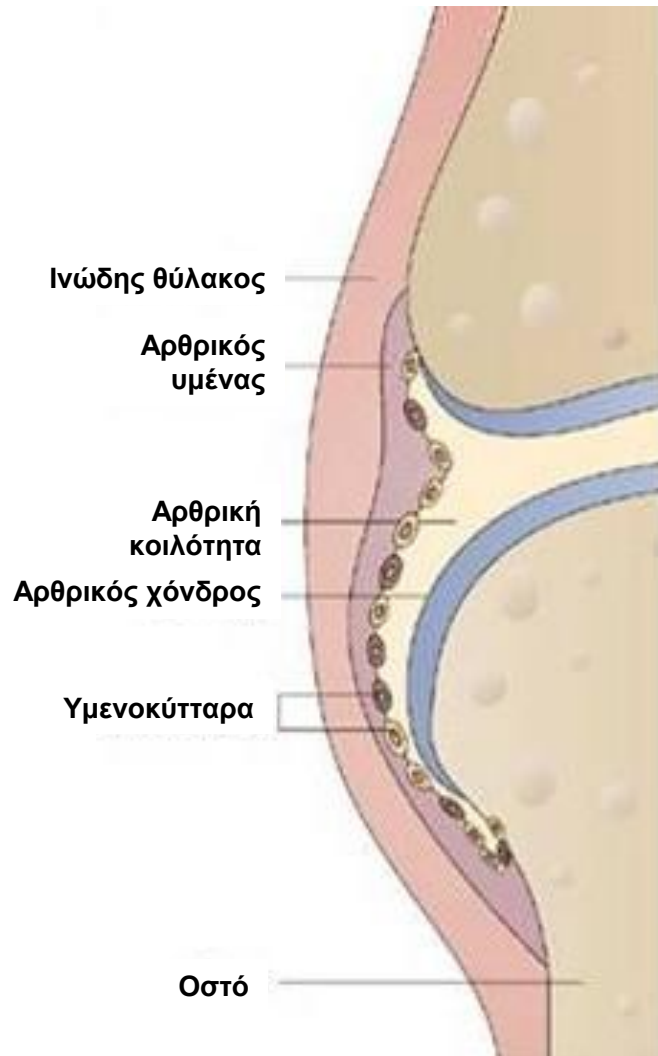
**Ο ρόλος των κυτταροκινών στην
παθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας**

Παθοφυσιολογία της RA



Παθοφυσιολογία της RA

Φυσιολογικό



;

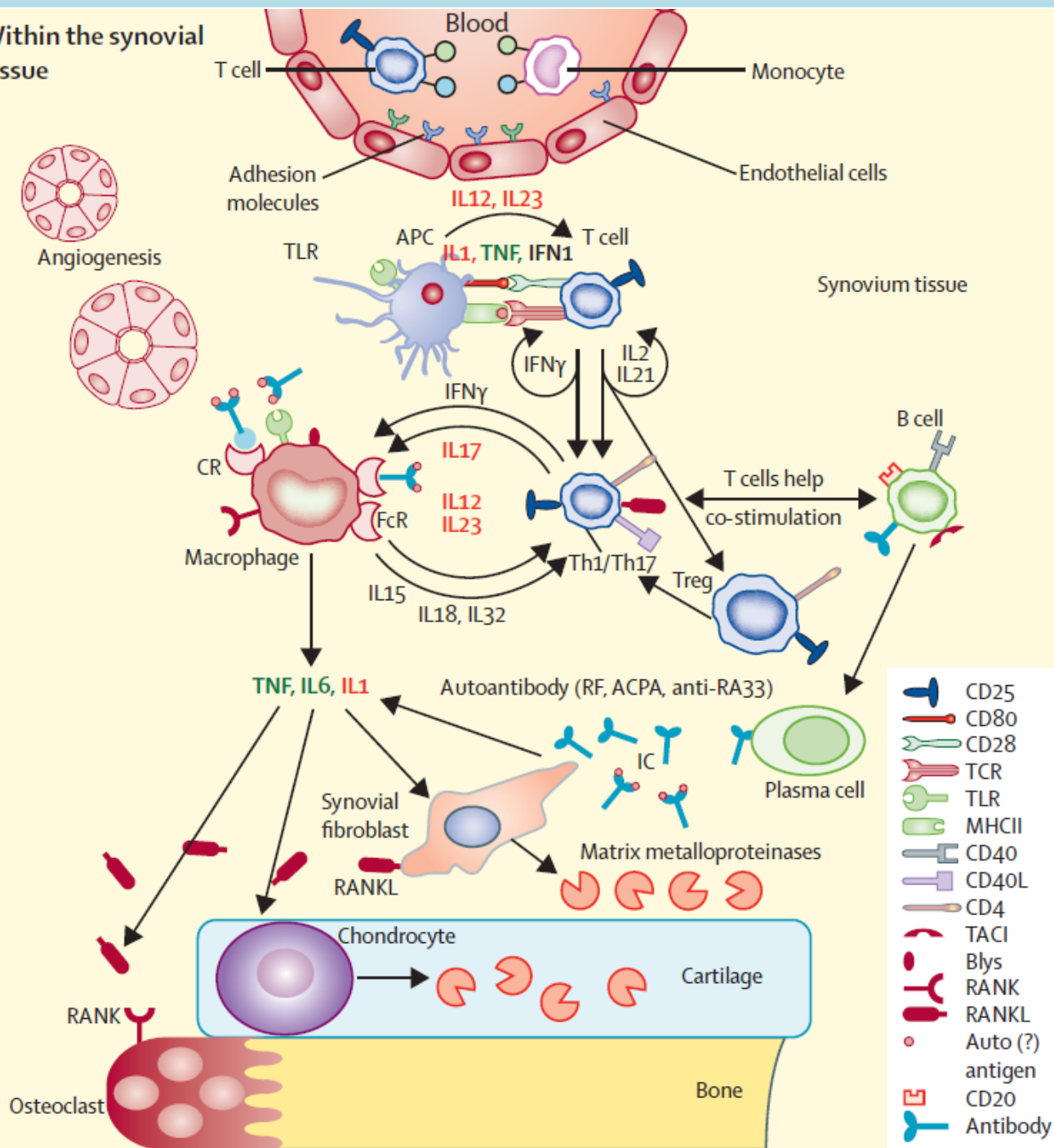
παρο

γαρο

ο

ίς

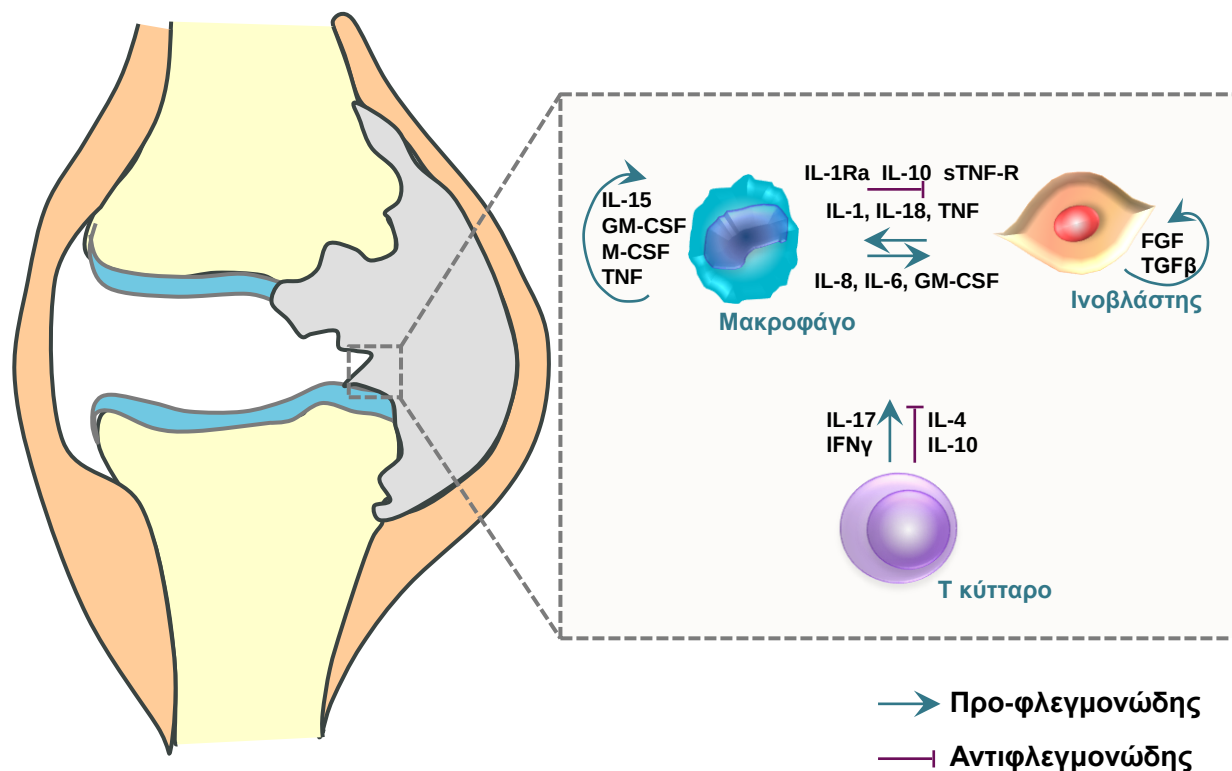
Within the synovial tissue



Πλήθος
κυτταροκινών
εκφράζονται στο
ρευματοειδή υμένα

Smolen JS et
al. Lancet
2016; 388:
2023–38

Οι κυτταροκίνες εμπλέκονται σε κάθε φάση της παθογένειας της ΡΑ



Μετανάστευση κυττάρων
TNF, IL-1, IL-6, IL-18,
VEGF, χυμοκίνες

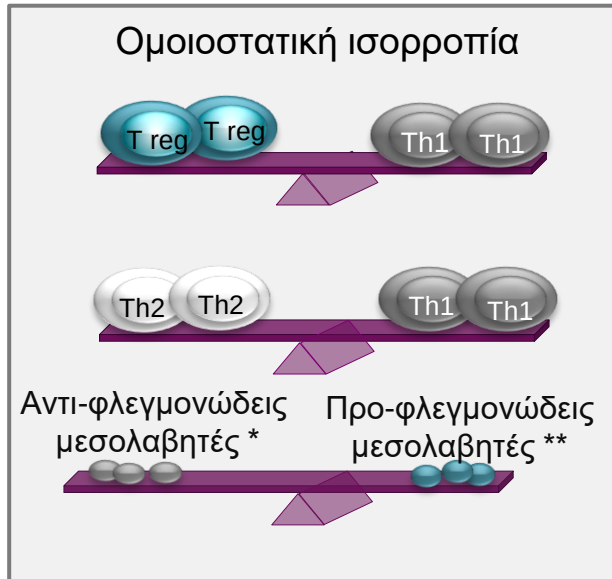
Διατήρηση και
επιβίωση κυττάρων
IFNα/β, IL-15, TNF

Ανοσολογική ενεργοποίηση
και οργάνωση
IL-23, IL-27, IL-12, IL-15,
IL-18, χυμοκίνες, LTα

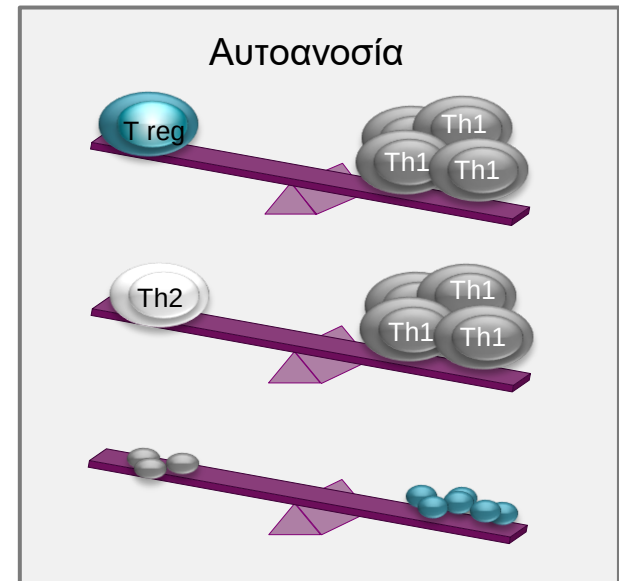
Απόκριση ιστών
IL-17, BMPs, RANKL,
TGFβ, TNF, IL-1

Οι κυτοκίνες επάγουν και καθορίζουν την φλεγμονώδη απόκριση στην ΡΑ

- Ένα σύνθετο δίκτυο κυτταροκινών ισοροπεί και ρυθμίζει τις προ-φλεγμονώδεις και αντι-φλεγμονώδεις επιδράσεις
- Στην ΡΑ, οι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες επικρατούν, αλλά αυτό δεν είναι σταθερό



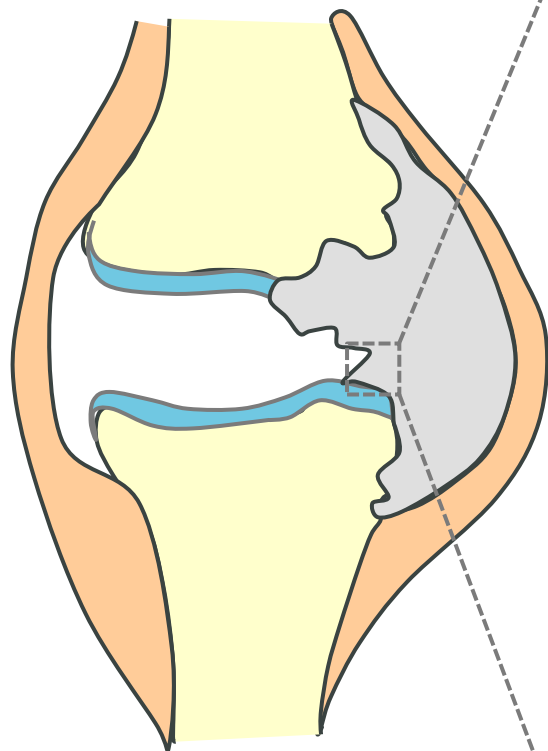
Στόχος της θεραπείας
είναι η αποκατάσταση
της ισορροπίας



**IL-1Ra, IL-18BP, IL-10, TGFβ, IL-11, IL-13; **fTNF, LT, IL-1β, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-23, IFNγ, IFNα.

fTNF, feline tumour necrosis factor; IFN, interferon; IL, interleukin; LT, lymphotoxin; TGF, transforming growth factor; TNF, tumour necrosis factor.

Ο κύκλος της φλεγμονής



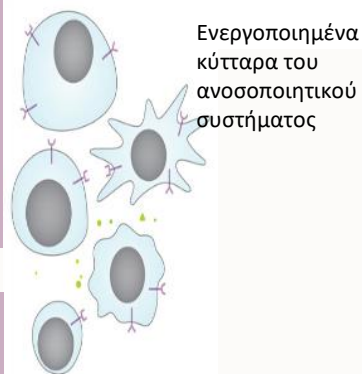
2 Οι κυτταροκίνες ενεργοποιούν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, χρησιμοποιώντας TNF, IL-17, IL-22 κ.λπ

1 Οι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες επιστράτευουν κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στον αρθρικό υμένα

5 Περαιτέρω επιστράτευση και ενεργοποίηση κυττάρων



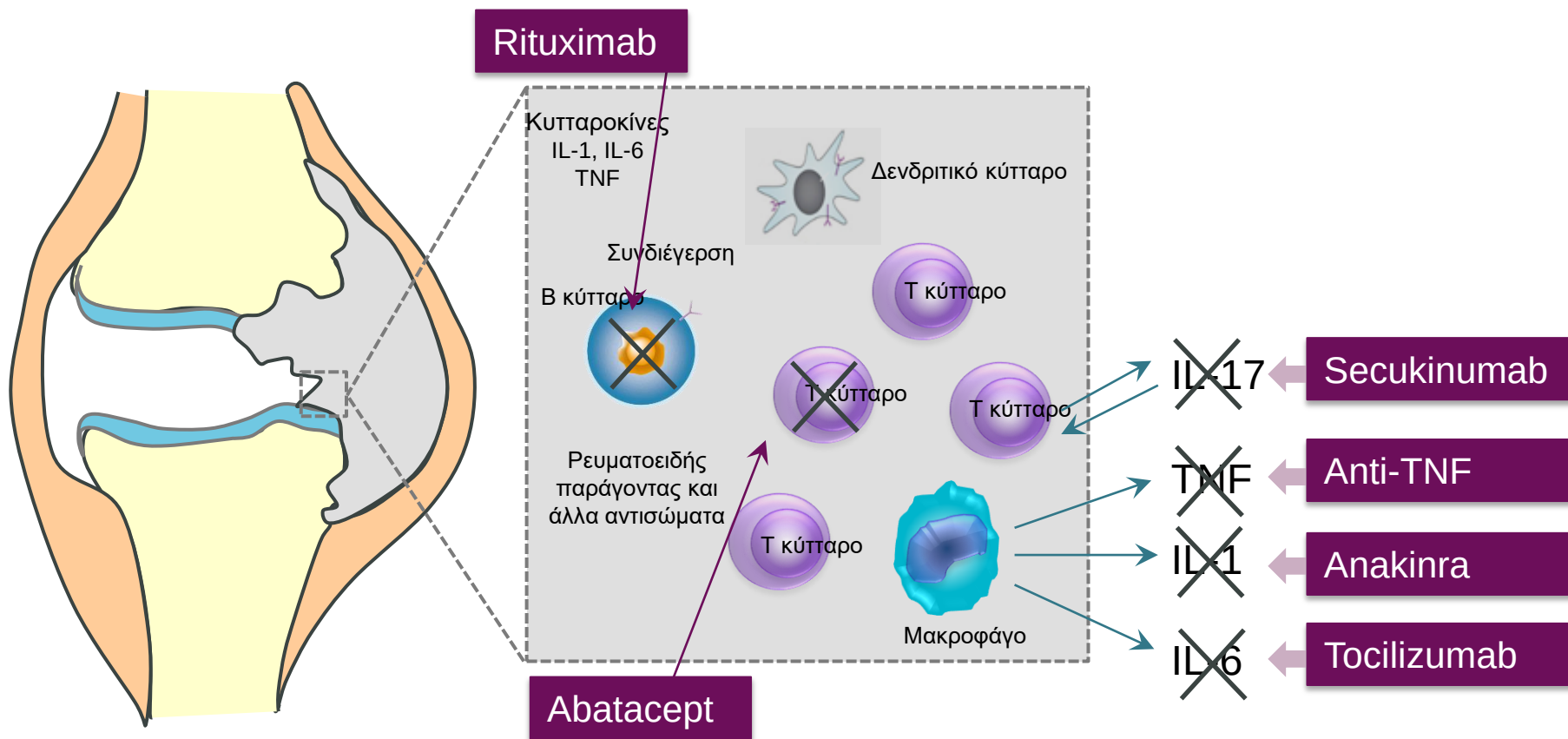
3 Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος αποκρίνονται με την απελευθέρωση κυτταροκινών, συμπεριλαμβανομένων των TNF, IL-15, VEGF, IL-6, IL-17, κλπ



4 Παραγωγή περαιτέρω προ-φλεγμονωδών σημάτων από ιστούς όπως ο οστεώνας



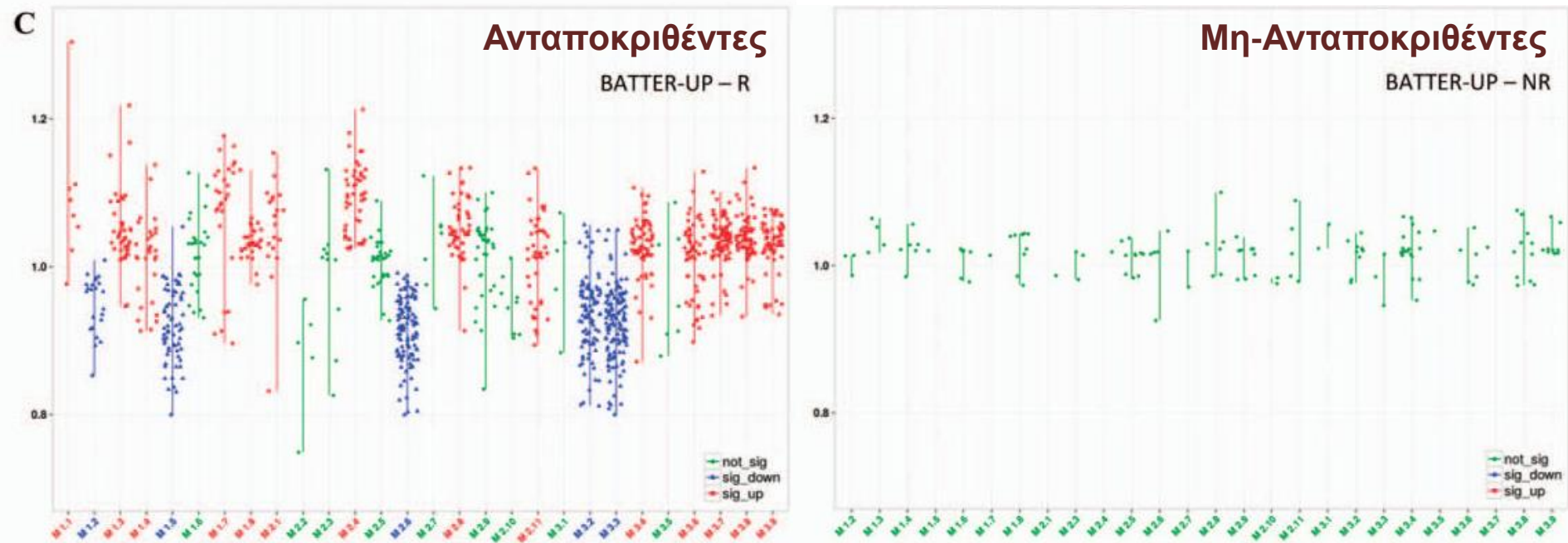
Υπάρχουν αρκετοί εξωκυτταρικοί στόχοι



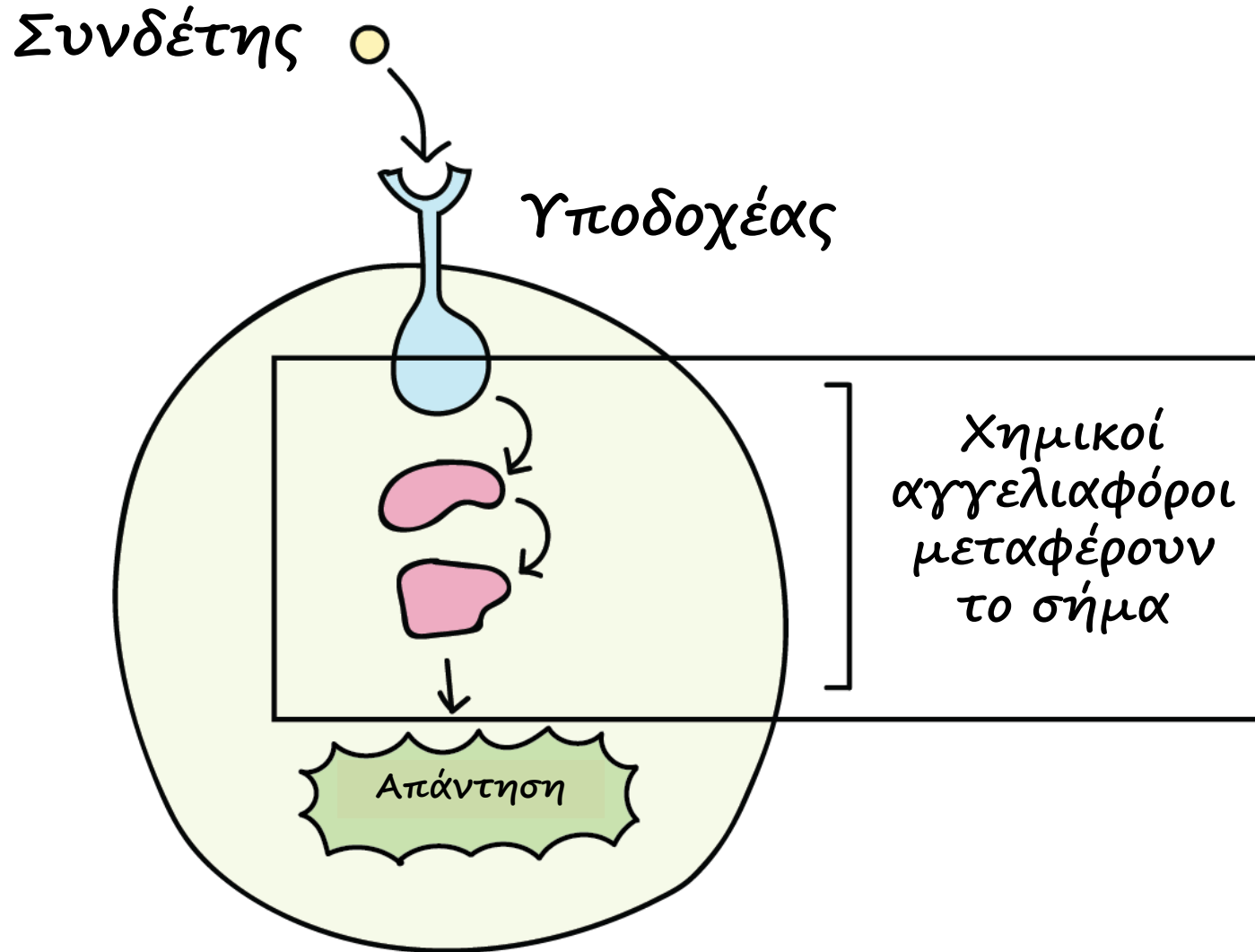
Οι βιολογικοί παράγοντες στοχεύουν τα εξωκυτταρικά συστατικά του καταρράκτη της φλεγμονής

Οι εξωκυττάριες θεραπείες προκαλούν ενδοκυττάριες μεταβολές

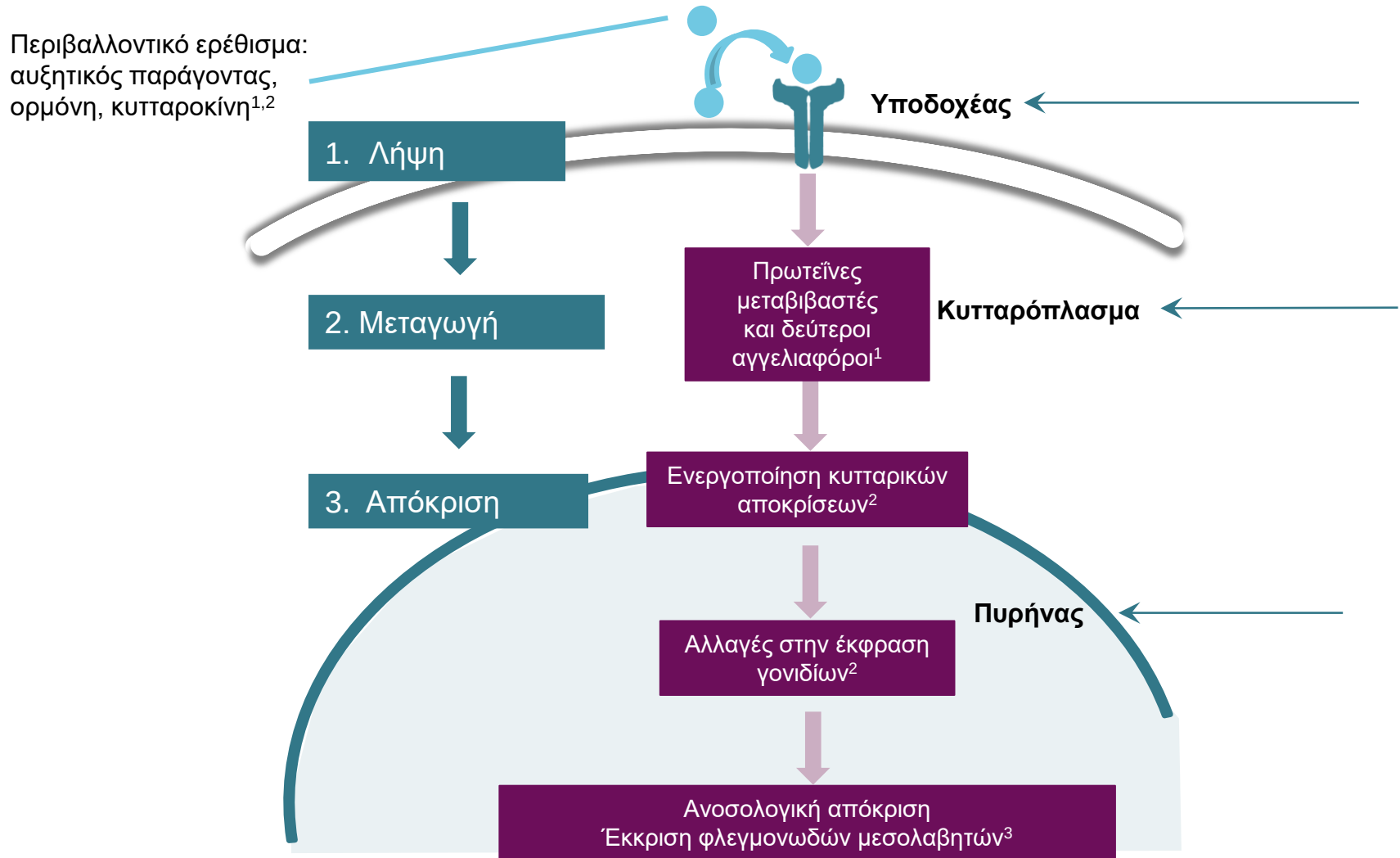
Μεταβολή στη μεταγραφή ομάδων γονιδίων σε κύτταρα του περιφερικού αίματος ασθενών με RA μετά 14 εβδομάδες αντι-TNFα θεραπείας ανάλογα με την κλινική ανταπόκριση



...μέσω οδών ενδοκυττάριας μετάδοσης του σήματος



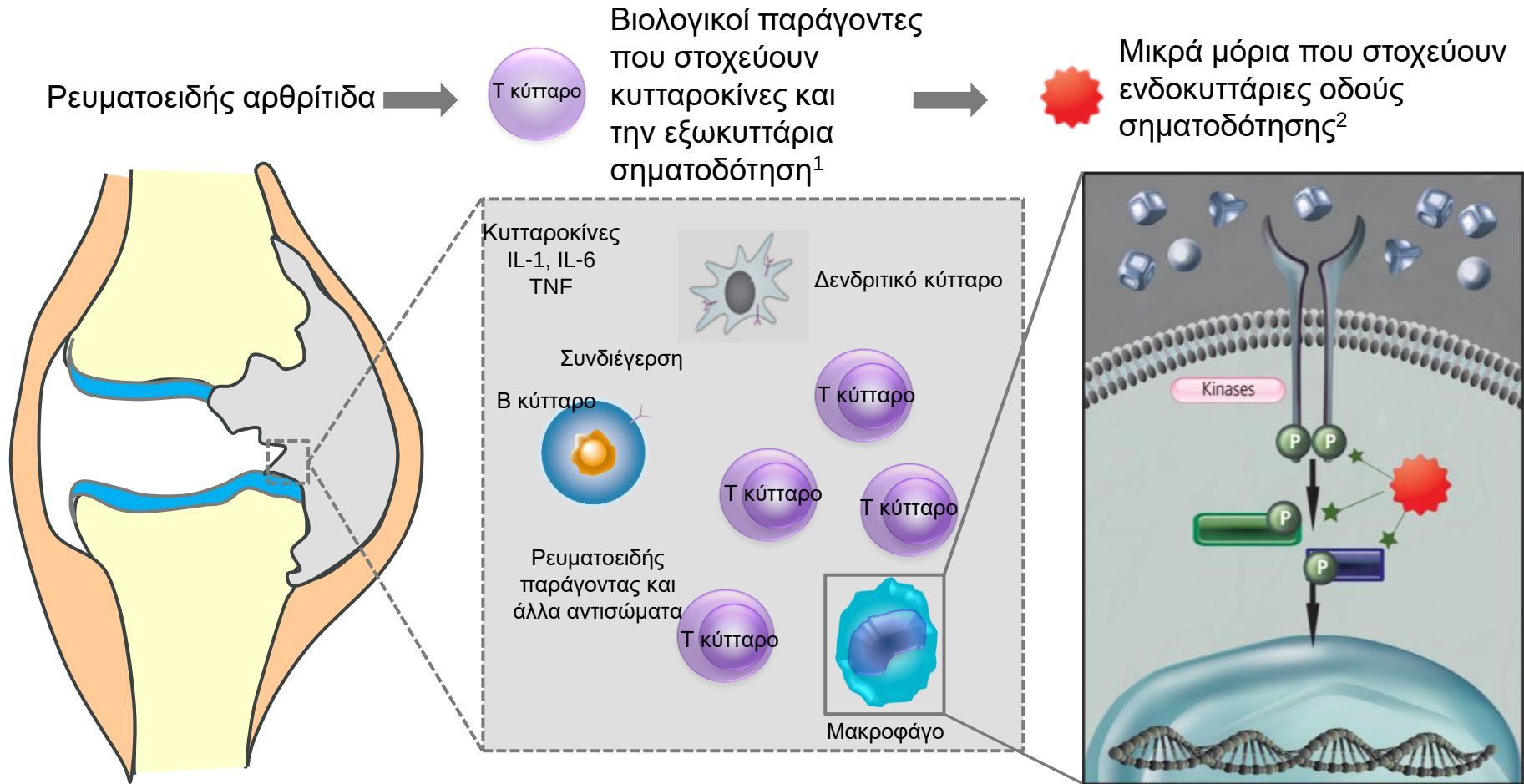
Από εξωκυττάρια σε ενδοκυττάρια: Μεταγωγή σήματος



1. Scatizzi JC, et al. In: Firestein GS, et al. Kelley's Textbook of Rheumatology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009.

2. Murphy K, et al. In: Janeway's Immunobiology. 7th ed. NY: Garland; 2008:1–38. 3. Mavers M, et al. *Curr Rheum Rep* 2009;11:378–385.

Τα ενδοκυττάρια μονοπάτια μπορούν να στοχευθούν από μικρά μόρια



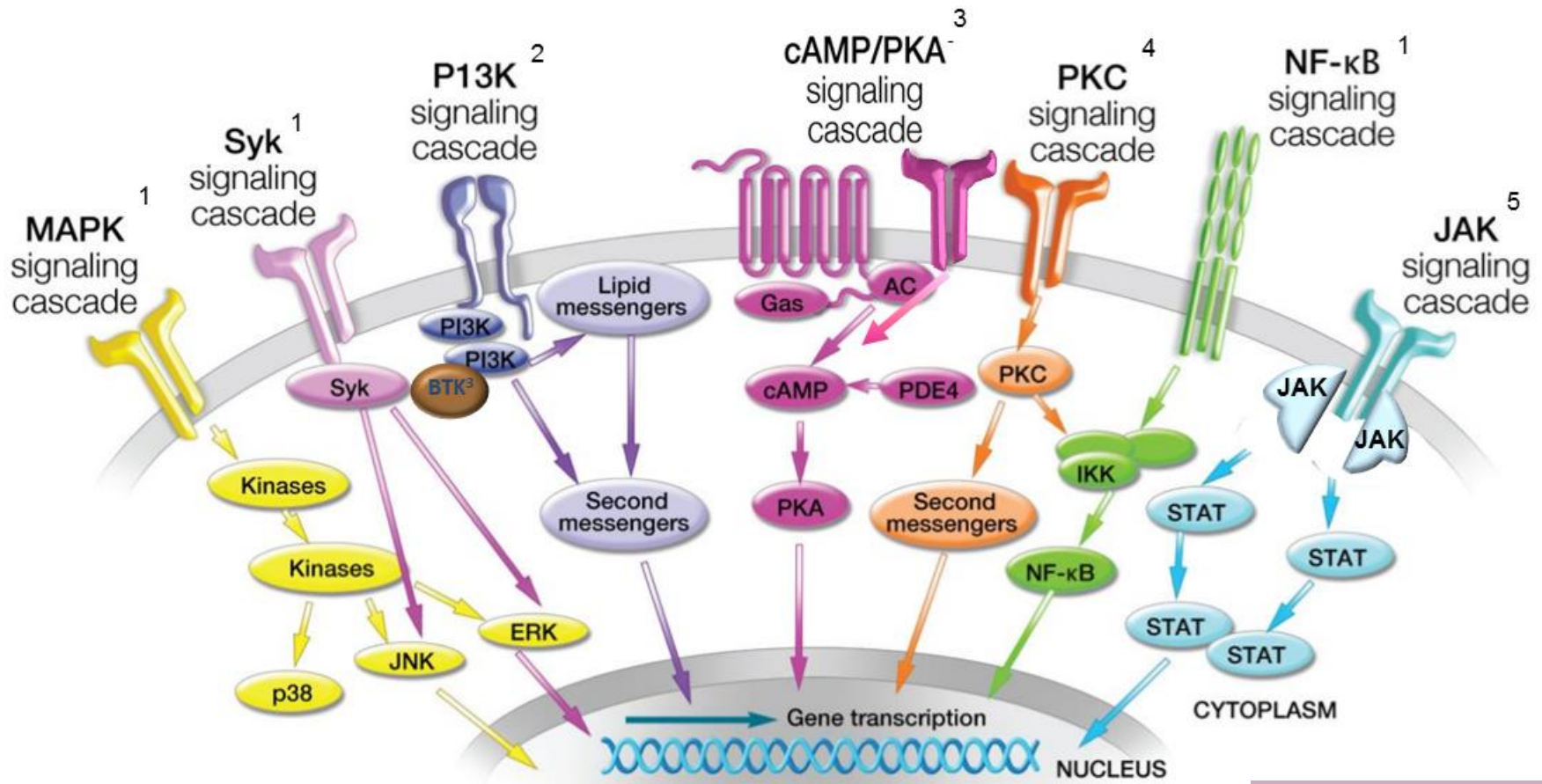
Ο καταρράκτης της φλεγμονής συνεχίζει μέσα στο κύτταρο

IL, interleukin, P, phosphate; TNF, tumour necrosis factor.

1. Smolen JS et al. *Ann Rheum Dis* 2014;73(1):3-5. 2. Mócsai et al. *BMC Medicine* 2014, 12:43.

Figure adapted from <http://www.medical-artist.com/scientific-illustrations.html>.

Υπάρχουν πολλά μονοπάτια σηματοδότησης των κυτταροκινών στη ΡΑ



AC, adenylyl cyclase; BTK, Bruton tyrosine kinase; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; ERK, extracellular-signal-regulated kinases; IKK, κB kinase; JAK, Janus kinase; JNK, c-Jun NH2-terminal kinase; MAPK, mitogen-activated protein kinase; NF-κB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated T cells; PDE4, phosphodiesterase 4; PI3K, phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase; PKC, protein kinase C; STAT, signal transducer and activator of transcription.

1. Mavers M, et al. *Curr Rheum Rep* 2009;11:378–385. 2. Rommel C, et al. *Nat Rev Immunol* 2007;7:191–201. 3. Taskén K, et al. *Physiol Rev* 2004;84:137–167. 4. Baier G, et al. *Curr Opin Cell Biol* 2009;21:262–267. 5. O'Sullivan LA, et al. *Molec Immunol* 2007; 44:2497–2506.

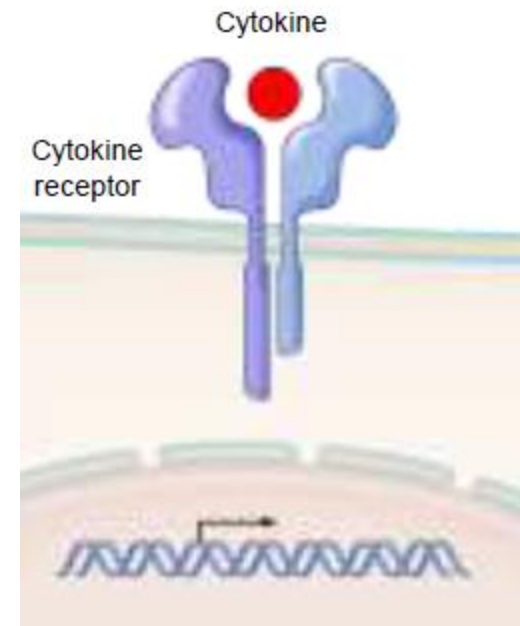
Τα **μονοπάτια σηματοδότησης** των κυτταροκινών εμπλέκονται άμεσα σε πολλές διεργασίες που σχετίζονται με την παθολογία της ΡΑ

IL-οποιαδήποτε & το ανθρώπινο «κίνωμα»

Πάνω από 200 κυτταροκίνες

Πάνω από 500 κινάσες

Υπάρχει κάποια λογική;



Υπερ-οικογένειες υποδοχέων κυτταροκίνης: Μεταβίβαση πληροφοριών στο κύτταρο

Υποδοχέας
κυτταροκινών
τύπου I/II¹

TNFR¹

Toll / IL-1R²

GPCR¹

Υποδοχέας
κινάσης
σερίνης/
θρεονίνης¹

Υποδοχέας
κινάσης της
τυροσίνης³

IL-2, IFNs

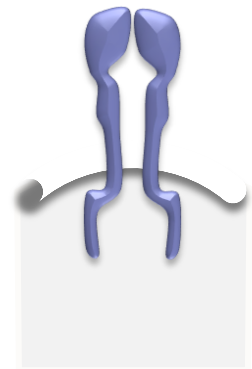
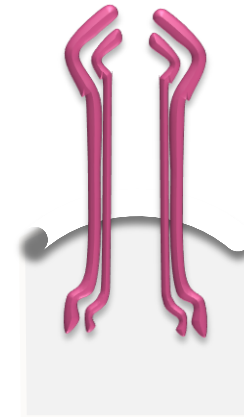
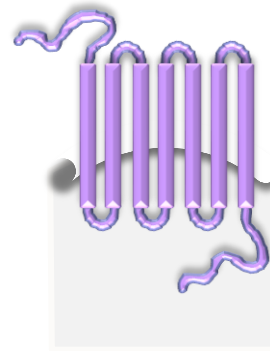
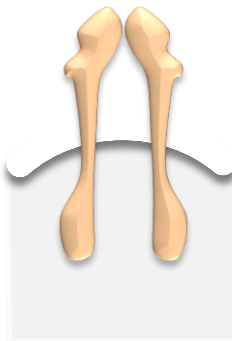
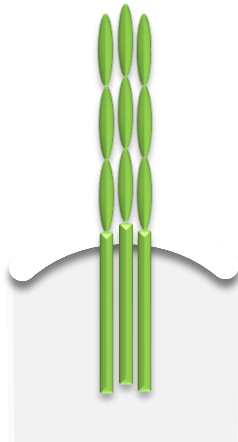
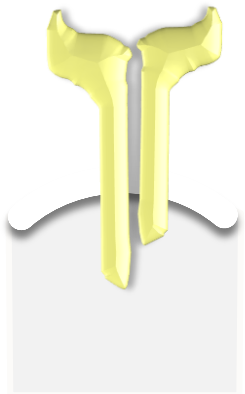
TNF

IL-1

Χημειοκίνες

TGFβ

PDGF



NI

NI

NI

NI

I

I

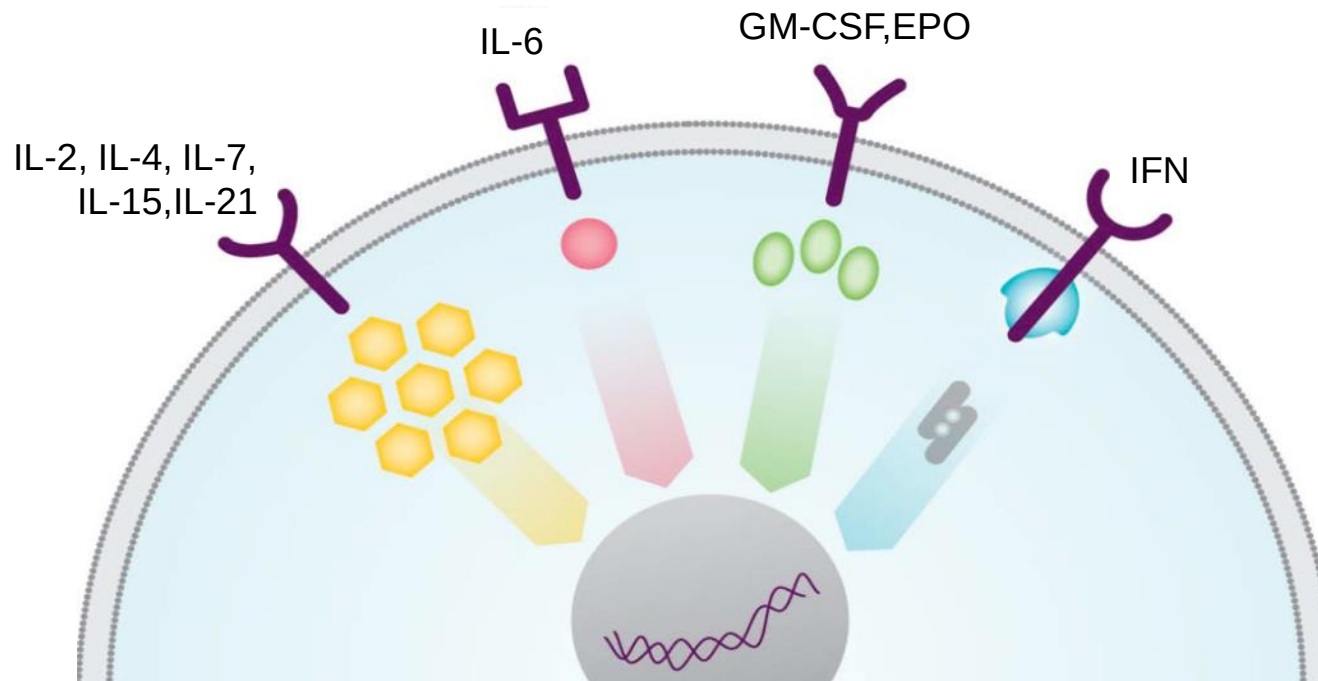
Πολλοί υποδοχείς κυτταροκινών στερούνται ενδογενούς δραστηριότητας κινάσης

GPCR: Υποδοχέας που συνδέεται με G-πρωτεΐνες, IFN: ιντερφερόνη, IL: ιντερλευκίνη, I: ενδογενής, NI: μη-ενδογενής, PDGF: αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια, TGF:αυξητικός παράγοντας όγκου, TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου, TNFR: υποδοχέας παράγοντα νέκρωσης όγκου.

1. Murphy K, et al. Janeway's Immunobiology. 7th ed. NY: Garland; 2008. 2. McInnes IB. In: Firestein GS, et al, eds. Kelley's Textbook of Rheumatology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009:367–377. 3. Schlessinger J. *Cell* 2000;103:211–225. Figure from Baker SJ, et al. *Oncogene* 2007;26:6724–6737.

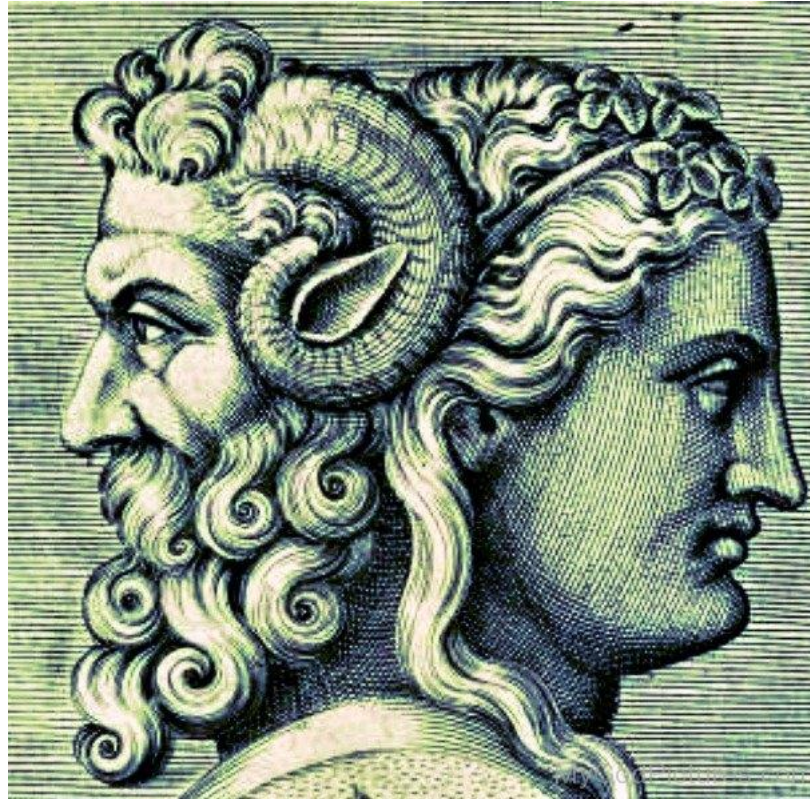
Σηματοδότηση υποδοχέα κυτταροκινών μέσω ενδοκυττάριων κινάσων τυροσίνης

- Για υποδοχείς χωρίς ενδογενή δραστηριότητα κινάσης, οι σχετιζόμενες κινάσες της τυροσίνης, όπως οι JAKs, απαιτούνται για τη μετάδοση σημάτων από το εξωκυττάριο περιβάλλον στον πυρήνα^{1,2}



Οι JAK είναι σημαντικές για την ενδοκυττάρια μετάδοση σήματος

ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ JAK (Janus Kinase)

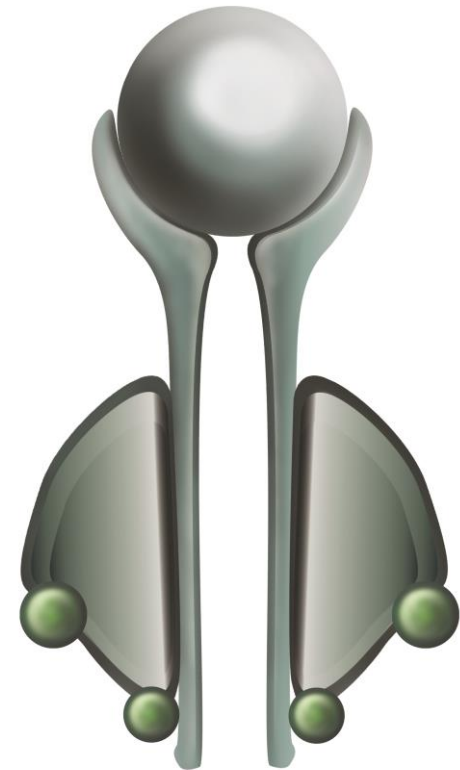


Ιανός



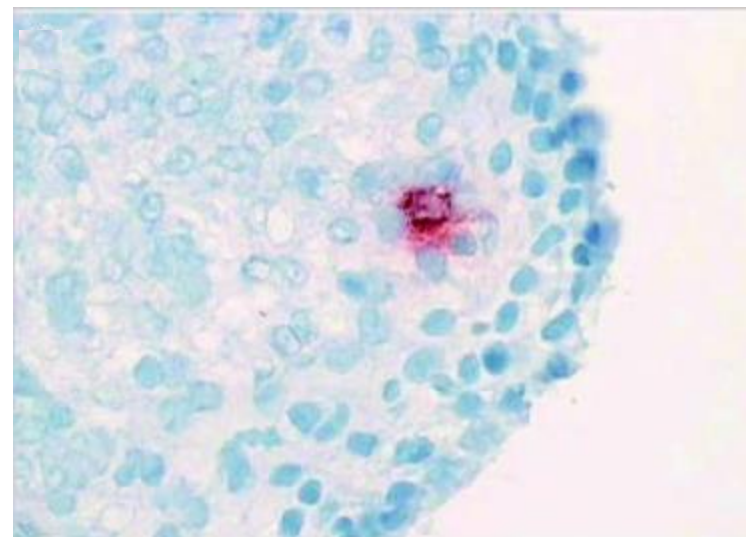
Κινάσες της οικογένειας Janus (JAKs)

- Μία υποομάδα των πρωτεϊνικών κινασών τυροσίνης που δεν αποτελούν υποδοχείς από μόνες τους^{1,2}
 - JAK1, JAK2, JAK3, and TYK2
- Χαρακτηρίζονται από δύο γειτονικά τμήματα κινάσης (JH1 και JH2)³
- Εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη, την επιβίωση, την εξέλιξη και τη διαφοροποίηση των κυττάρων¹
- Απαραίτητες για τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και αιμοποιητικού συστήματος¹



Κυτταρική κατανομή των JAK

- JAK1, JAK2, και TYK2 εκφράζονται παντού στα θηλαστικά¹
- Η JAK3 έχει περιορισμένη έκφραση, κυρίως σε κύτταρα αιματοποιητικής προέλευσης^{2,3}
- Σε κυτταρικό επίπεδο, οι JAKs εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, ενδόσωμα και στην πλασματική μεμβράνη, μαζί με τους αντίστοιχους υποδοχείς τους⁴
- Η JAK3 έχει εντοπιστεί σε δένδριτικά κύτταρα στον αρθρικό υμένα με PA⁵



Δείγμα βιοψίας αρθρικού υμένα με χρώση για JAK3⁵

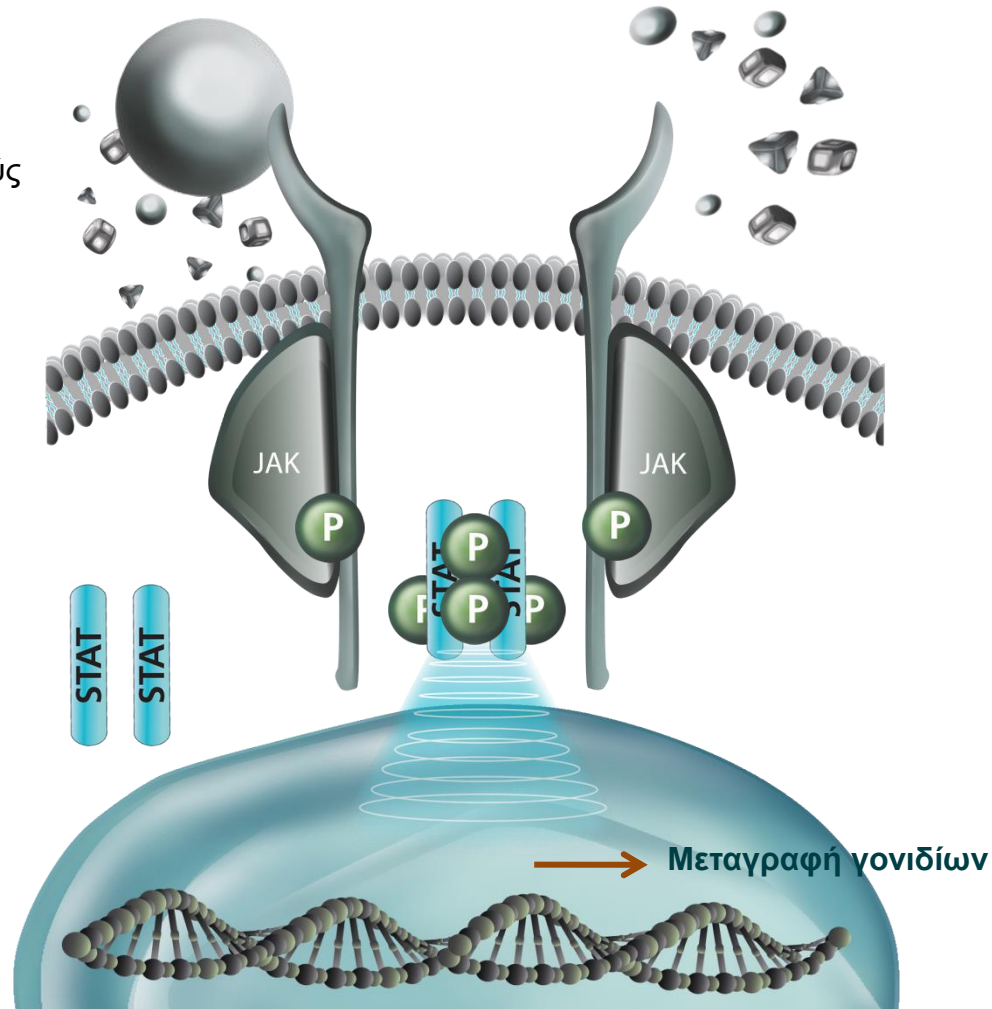
Table 2 | **JAKs associated with human disease**

JAK	Disease(s) associated with gain of function	Disease(s) associated with loss of function
JAK1	Acute lymphoblastic leukaemia, acute myelogenous leukaemia, solid organ malignancies	N/A
JAK2	Polycythemia vera, myelofibrosis, essential thrombocythemia, hypercoagulable state, somatic mutations associated with acute and chronic haematologic malignancies	N/A
JAK3	Acute megakaryoblastic leukaemia, T-cell leukaemias and lymphomas	SCID, Jacobsen syndrome
TYK2	Cutaneous lymphoproliferative disorders, T-cell leukaemias	Primary immunodeficiency

Η δέσμευση των υποδοχέων κυτταροκίνης ενεργοποιεί τα μονοπάτια σηματοδότησης JAK

- Ταχεία μετάδοση σήματος από τη μεμβράνη στον πυρήνα:
 - Οι κυτταροκίνες δεσμεύουν τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς που συνδέονται με τις JAK
- Η σύνδεση ενεργοποιεί τις JAK
- Οι JAK φωσφορυλιώνουν τους υποδοχείς
- Οι STAT δεσμεύονται στους υποδοχείς
- Οι JAK φωσφορυλιώνουν τις STAT
- Οι STAT μεταφέρονται στον πυρήνα
- Οι STAT δεσμεύουν DNA και ενεργοποιούν τη μεταγραφή για την παραγωγή πρωτεϊνών που μεσολαβούν στις ανοσολογικές αποκρίσεις/ φλεγμονή

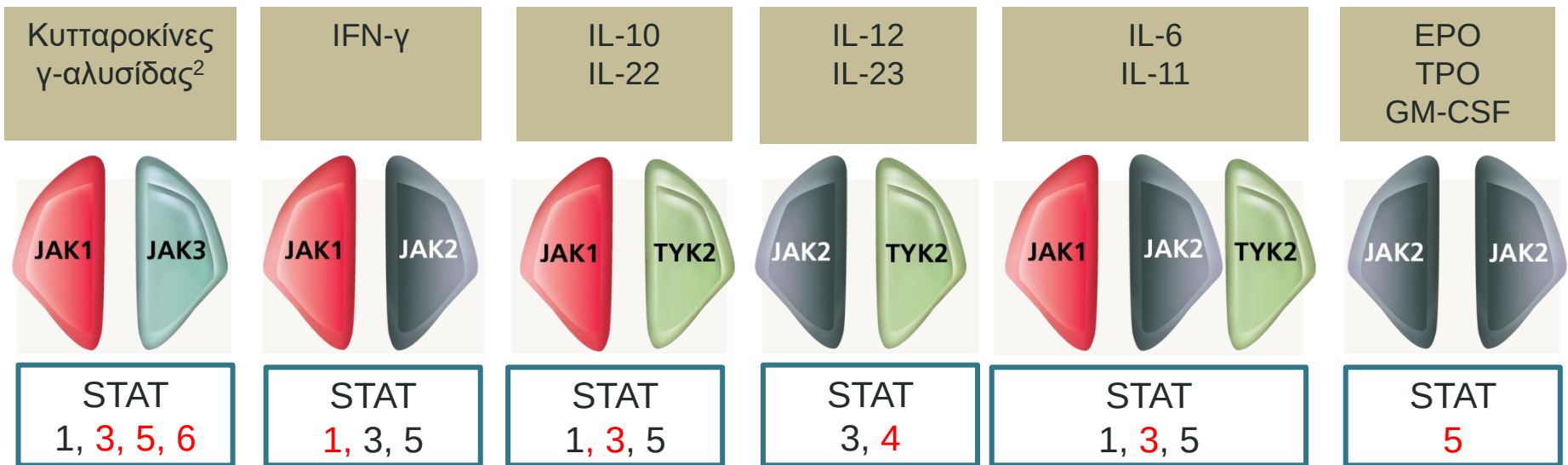
Οι JAK ενεργοποιούν τις STAT, οι οποίες στη συνέχεια ενεργούν ως μεταγραφικοί παράγοντες



Τα μονοπάτια μετάδοσης του σήματος JAK/STAT

- Υπάρχουν τέσσερα μέλη της οικογένειας JAK: JAK1, JAK2, JAK3, και TYK2

Παράδειγμα κυτταροκινών που σηματοδοτούν μέσω συνδυασμών JAK/STAT¹⁻³



Κόκκινο = επικρατέστεροι STAT

Η μελλοντική έρευνα μπορεί να βοηθήσει στην πρόβλεψη των επιδράσεων της αναστολής JAK σε διαφορετικούς ασθενείς και να επιτρέψει στους γιατρούς να λαμβάνουν τεκμηριωμένες αποφάσεις σχετικά με το ποιο ζεύγος JAK πρέπει να στοχεύουν σε κάθε ασθενή⁴

EPO, erythropoietin; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; IFN, interferon; IL, interleukin; JAK, Janus kinase; STAT, signal transducer and activator of transcription; TPO, thrombopoietin; TYK, tyrosine kinase.

1. O'Sullivan LA, et al. *Mol Immunol* 2007;44:2497–2506. 2. Ghoreschi K, et al. *Immunol Rev* 2009;228:273–287. 3. Sanjabi S, et al. *Curr Opin Pharmacol* 2009;9:447–453. 4. Chizzolini C, et al. *Arthritis Res Ther* 2009;11:246.

- γc family: IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15
- gp130 family: IL-6, IL-11, OSM, LIF
- IFN α/β , IFN γ , IL-10

Jak1

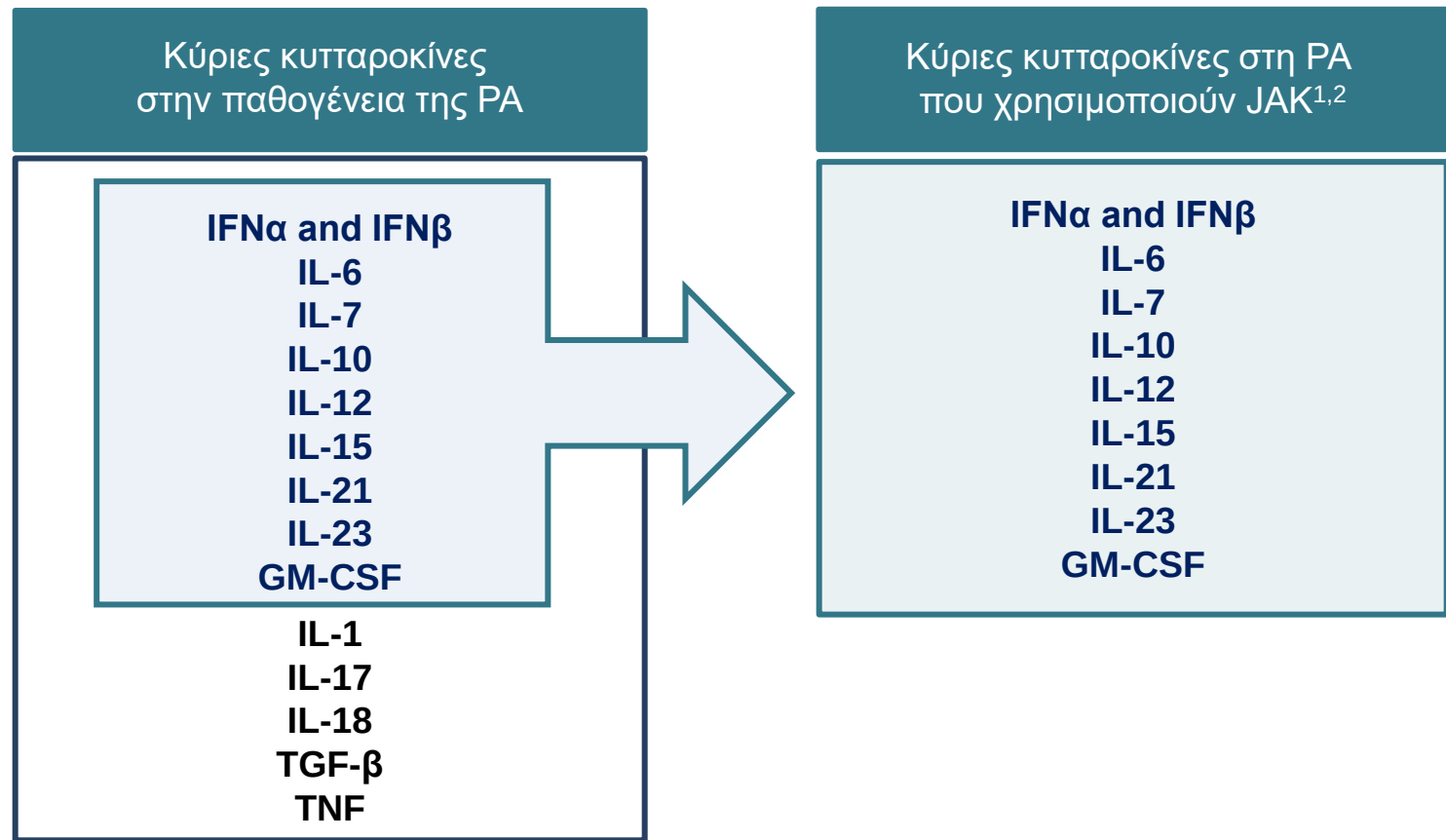
Jak2

- gp130 family: IL-6, IL-11, OSM, LIF
- βc family-IL-3, IL-5, GM-CSF
- EPO, TPO, IFN γ
- IL12/IL23

Jak3

- γc family-IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15

Ποιες κυτταροκίνες απαιτούν JAK κινάσες για την ενδοκυττάρια μετάδοση σήματος;



Ένα σημαντικό υποσύνολο προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών χρησιμοποιούν μονοπάτια JAK

GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; IFN, interferon; IL, interleukin; JAK, Janus kinase; TGF, transforming growth factor; TNF, tumour necrosis factor.

1. O'Sullivan LA, et al. *Mol Immunol* 2007;44:2497–2506. 2. Riese RJ, et al. *Best Pract Clin Res Rheumatol* 2010;24:513–526.

Κυτταροκίνες στη ΡΑ που αναστέλλονται από Jakinibs

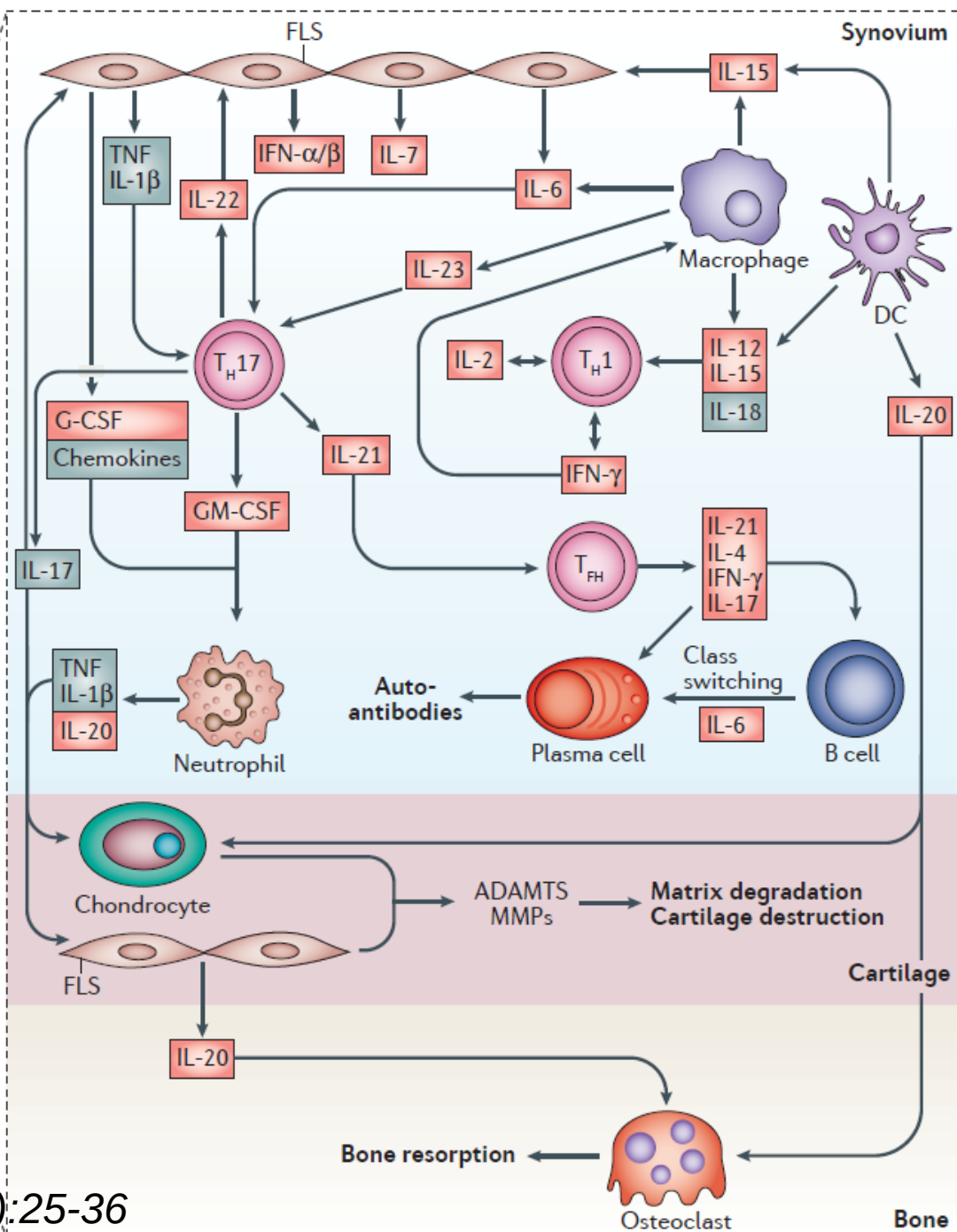
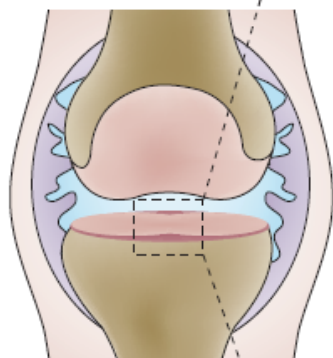


Table 4 | Jakinibs being investigated for rheumatologic diseases

Drug	Target(s)	Status	Disease(s)
Ruxolitinib (INC424)	JAK1, JAK2	FDA approved	RA
		Phase II	Various cancers
		Phase IIb	Psoriasis (topical)
Tofacitinib (CP690550)	JAK3, JAK1, JAK2	FDA approved	RA
		Phase III	Psoriasis, ulcerative colitis
		Phase II	Spondyloarthritis, JIA
Oclacitinib (PF03394197)	JAK1	FDA approved	Canine allergic dermatitis
ABT494	JAK1	Phase II	RA, Crohn disease
Baricitinib (INCB28050, LY3009104)	JAK1, JAK2	Phase II	RA, psoriasis, diabetic nephropathy, autoinflammatory disease
Filgotinib (GLPG0634)	JAK1	Phase II	RA, Crohn disease
INCB039110	JAK1, JAK2	Phase II	Psoriasis, RA
Peficitinib (ASP015K)	pan-JAK	Phase II	Psoriasis, RA
R333	JAK/SYK	Phase II	Discoid lupus (topical)
GLG0778	JAK1	Phase II	SLE
GSK2586184	JAK1	Phase II	SLE, psoriasis
Decernotinib (VX509)	JAK3	Phase IIb	RA

Συμπεράσματα

- Η ομοιόσταση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι η ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να ανταποκρίνεται δυναμικά στο περιβάλλον με τρόπο τέτοιο ώστε η υγεία και η λειτουργική κατάσταση του ατόμου να διατηρείται και να παραμένει σταθερή διαχρονικά
- Ένα σύνθετο δίκτυο κυτταροκινών εξισσοροπεί τις προ-φλεγμονώδεις και αντι-φλεγμονώδεις επιδράσεις.^{2,3} Στην ΡΑ, οι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες επικρατούν, το οποίο όμως δεν είναι σταθερό
- Ένας στόχος της θεραπείας είναι η αποκατάσταση την ομοιόστασης χωρίς πρόκληση ανοσοκαταστολής⁴
- Οι κυτταροκίνες εμπλέκονται σε κάθε φάση της παθογένειας της ΡΑ^{2,5}
- Τα μονοπάτια καθοδηγούμενα από κυτταροκίνες θα μπορούσαν να ρυθμιστούν σε διάφορα επίπεδα⁴
- Οι κυτταροκίνες μεταφέρουν πληροφορίες στο κύτταρο μέσω ειδικών υποδοχέων που ενεργοποιούν διαφορετικές οδούς ενδοκυττάριας μετάδοσης σήματος⁴
- Οι JAK είναι απαραίτητες για τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και αιμοποιητικού συστήματος⁶
- Η δέσμευση των υποδοχέων κυτταροκίνης ενεργοποιεί τις οδούς μετάδοσης σήματος JAK⁷
- Η ρύθμιση της σηματοδότησης κυτταροκινών μέσω στόχευσης των ενδοκυττάρων οδών ενδέχεται να αναδεικνύει νέες δυνατότητες στη ΡΑ³

JAK, Janus kinase.

1. Peter Taylor correspondence 2015 2. McInnes IB, Liew FY. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2005;1:31–9. 3. Chizzolini C, et al. *Arthritis Res Ther* 2009;11:246. 4. Mavers M, et al. *Curr Rheum Rep* 2009;11:378–385. 5. Schett G, et al. *Arthritis Rheum* 2008;58:2936–48. 6. Ghoreschi K, et al. *Immunol Rev* 2009; 228:273–287. 7. Shuai K, et al. *Nat Rev Immunol* 2003;3:900–911.



**KEEP
CALM
AND
MAINTAIN
HOMEOSTASIS**