

# Citokin-terápia és citokin-moduláció – molekuláris célpontok és patomechanizmusok

Nagy Előd

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Gyógyszerészeti Biokémia Tanszék

## Terapia cu citokine și modularea citokinelor – ținte moleculare și patomecanisme

Terapia bazată pe citokine sau blocada/modulația citokinelor reprezintă o provocare importantă în farmacologia modernă. O serie de date experimentale și studii clinice arată că aplicarea citokinelor recombinante și a moleculelor anti-citokină în diverse afecțiuni (poliartrita reumatoidă, spondilita, boli mieloproliferative cronice, osteoporoza primară și secundară) este în mod cert benefică. Costul ridicat al unor astfel de terapii limitează accesibilitatea lor, însă recomandările tratamentului pe subgrupe bine definite de bolnavi sunt raționale. În această lucrare se trec în revistă câteva citokine țintă și rolul lor regulator în condiții normale și patologice.

*Cuvinte cheie: citokine, ținte moleculare, modulația citokinelor*

## Cytokine-therapy and cytokine-modulation – molecular targets and pathways

Cytokine-based therapy or cytokine-blockage/-modulation represent an important challenge in modern pharmacology. A lot of experimental data and a growing number of clinical studies show that in a variety of diseases (rheumatoid arthritis, spondylitis, chronic myeloproliferative illnesses, primary and secondary osteoporosis) the application of recombinant cytokines or inhibitory anti-cytokine molecules is undoubtedly beneficial. The high cost of such therapies limit their availability, however, recommendations for well-defined patient subgroups are reasonable. In this paper, a few important cytokine targets and their regulatory role in healthy and pathological conditions are reviewed.

*Keywords: cytokines, molecular targets, cytokine modulation*

Orvostudományi Értesítő, 2008, 81 (2): 92-94

www.orvtudert.ro

## A citokinekről általában

A citokinek intercelluláris kapcsolatokat közvetítő kis (10-40 kd) polipeptid/glikoprotein jellegű molekulák, amelyek nem csak az immunrendszer, hanem más szervek különféle sejttypusainak jelzőkövetői is. Első képviselőiket, mivel lymphocyt/monocyt sejt kultúrákban azonosították, limfokineknek illetve monokineknek nevezték el; ma inkább az általánosabb érvényű citokin és a chemotaktikus tulajdonságokkal rendelkező molekulákat megjelölő chemokin elnevezés használatos [4]. Ezen jelzőhordozó molekulák jellegzetes tulajdonsága, hogy termelődésük nem sejt- illetve szövetspecifikus, hatásuk pleiotrop és igen kis koncentrációban is működőképesek (pM koncentráció tartomány). Hatásaik autokrin, parakrin vagy endokrin típusúak és a sejtthártyán levő receptorokhoz kötöttek. A sejtekben transzkripciós-transzaktivációs faktorok termelődését módosítják, amelyek a legkülönbözőbb célgének átíródását szabályozzák [4].

Fontosabb citokin hatás-típusok a sejt-érés és differenciálódás, valamint az immunológiai végrehajtó (effektor) folyamatok befolyásolása.

A citokineket szokás szerkezeti, valamint funkcionális sajátosságok alapján is osztályozni. Funkcionális szempontból megkülönböztetünk:

- 1) a természetes immunitás folyamataira ható (pl. IFN- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\gamma$ , TNF- $\alpha$  és - $\beta$ , IL-1, IL-10, IL-12),
- 2) a hemopoiesist (vérképzést) befolyásoló (IL-3, IL-7, GM-CSF, G-CSF, eritropoetin),
- 3) a lymphocyták aktivációjára és differenciálódására ható (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, TGF- $\beta$ ), valamint
- 4) a gyulladásban részt vevő citokineket (proinflammatorikus: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , antiinflammatorikus: IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ ) [4].

A citokinek hatásainak értelmezésében a régebbi, lineáris hatásmodelleket felváltották a nem-lineáris modellek. Ugyanazon citokin bizonyos koncentrációi más milióban

eltérő hatásokat hozhatnak létre. Ezért a kísérletes modellben és az in vivo, komplex humorális környezetben gyakorolt hatások közt gyakran számottevő különbség mutatkozik.

A citokinek gyógyászati alkalmazásához az 1980- 90-es években nagy reményeket fűztek (biológiai válasz módosítók- „biological response modifiers, BRM”).

Nagyszámú állatkísérletben és klinikai tanulmányban azóta kiderült, hogy ezek a molekulák korántsem korlátlanul alkalmazható biológiai csodaszerek; mindazonáltal jól meghatározott feltételek mellett való adagolásuk (akár kiegészítő-, akár első vonalbeli terápiaként) kétségbevonhatatlanul eredményes.

## Kolónia-stimuláló faktorok, interferon- $\alpha$

A citokin- terápia célja kétrétű:

- a.) citokin-pótlás (rekombináns humán citokinekkel) vagy
- b.) citokin-gátlás/moduláció: receptor-csapdák, neutralizáló monoklonális antitestek, gátló peptidek használatával.

A hemopoetinek farmakológiai bevetése egyértelmű haladást hozott a kemoterápiás protokollok alkalmazásában, mert társításukkal jóval agresszívebb kezelés kockáztható. A mieloablatív kemoterápia veszélyei ettől még nem csökkennek, de a célzott vagy mellékhatásként kialakuló csontvelő-aplázia időtartama jelentősen lerövidül. Ma első-sorban a G-CSF típusú kolónia-stimuláló faktorok vannak használatban, a korábban alkalmazott GM-CSF mellékhatásai miatt egyre jobban kiszorul a gyakorlatból.

Az eritropoetin rekombináns formáját az elégtelen vörösvértestképzés különböző formáiban, illetve krónikus veseelégtelenséghez társuló vérszegénységben alkalmazzák.

Kísérletes eredmények alapján ígéretesnek tűnik a kolónia-stimuláló faktorok (G-CSF) és a stem-sejt faktor (SCF) kombinációja heveny szívinfarktusból, mert elindítja a



kamrafal korai remodellezését és csökkenti a szövődmények súlyosságát.

Az interferonok közül az IFN- $\alpha$  malignus hematológiai megbetegedésekben, például hajas-sejtes leukémiában áttörő eredményeket hozott és jelentősen megváltoztatta a túlélési időt [1]. Krónikus mieloid leukémia bizonyos eseteiben az interferon- $\alpha$  Philadelphia-kromoszóma mentes vérképzést indukál [7]. Fertőzések megbetegedések, így krónikus B- és C-vírushepatitis jól meghatározott feltételek mellett végzett IFN kezelése a HBV fertőzések 2/3-ban a vírus-DNS jelentős koncentráció-csökkenését okozza; a HCV fertőzés kb. 15-20%-ban eradikálható, de 40-50%-ban eredménytelen [11,16].

## Tumor nekrozis faktor család - modulációs lehetőségek

A gyulladáshoz vezető citokinek közül az IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  hatásai közt sok az átfedés: akut fázis reakció indukciója, B- és T-lymphocytá differenciáció, számos közös hatás nem-immun sejtekre [4]. A TNF- $\alpha$  az endothelsejteken serkenti az adhéziós molekulák expresszióját, leukocytá-beszűrődést hoz létre a gyulladt synoviumban és bőrben, a synovia-sejtekben kollagenázokat indukál, fibroblaszt proliferációt hoz létre, csont- és porcszövet-reszorpciót okoz.

Arthritises állatmodell-kísérletekben a TNF egyértelműen összefüggésbe hozható a korai ízületi duzzadással, bár hatásait nem önmagában gyakorolja, hanem IL-1-en keresztül. Az IL-1 $\beta$  génhányos egéren nem váltható ki idült, erozív ízületi gyulladás, ugyanakkor az anti-IL-1 terápia arthritises egereken igen hatékony [14]. Bár az állatoknál az ízületbe adott rekombináns TNF és IL-1 szinergista hatású, valójában az előbbi hatása in vivo jóval erősebb, mivel százszor-ezerszer kisebb mennyiségei is proteoglikán szintézist gátló hatásúak [14].

Humán terápiás vonatkozásokban a rheumatoid arthritis gyógyításában a TNF-blokád terápia mérföldkő jellegű haladásnak számít, mert nemcsak az életminőséget javítja, hanem az ízületi elváltozások progresszióját is meggátolja. Két, ilyen profillal rendelkező mesterséges molekula van forgalomban: az etanercept és az infliximab. Míg az etanercept egy receptor-csapda, az infliximab monoklonális antitest, amely megköti a TNF-et és ezáltal gátolja a TNF receptor-hoz való kapcsolódást.

Az etanerceptet és az infliximabot egyaránt ajánlják a rheumatoid arthritis és a spondylitis ankylopoetica kezelésére. Emellett az FDA az etanerceptet az arthritis psoriatica, az infliximabot a Crohn-betegség kezelésére is alkalmasnak tartja. Az etanercept s.c. adagolható (50 mg/hét, majd 2  $\times$  25 mg/hét), felezési ideje 3-5,5 nap. Az infliximab i.v. alkalmazandó, adagja nagyobb (5 mg/kg az 1., 2., 6. héten, majd 6-8 hetente), felezési ideje valamivel hosszabb – 8-9,5 nap. Gorman és munkatársai szerint az etanercept-kezeltek 80%, a placebo-kezeltek 30% ért el ún. ASAS 20 (Ankylosing Spondylitis Activity Score, 20% az ASAS 0-100 skálán) javulást 4 hónap alatt [5]. Ez jelentős különbség, ugyanakkor más

szerzők is tanúsítják, hogy etanercept kezelés alatt a klinikai és funkcionális paraméterek jelentős javulása tapasztalható; az NMR-el kimutatható léziók szignifikánsan visszafejldenek, a csontsűrűség 24 hét kezelés alatt jelentősen nő [10].

Az etanercept néhány fontos mellékhatása: gyulladáshoz vezető reakció az injekció helyén (kb.22%), felső légúti fertőzések (kb.15%), fejfájás (10%), viszketés (8%), ritkán rhinitis, szédülés, hasi fájdalom. Az infliximab jelentős hátránya, hogy kezelés alatt nő a tuberculosis és a histoplasmosis-fertőzés gyakorisága [5].

Mivel az anti-TNF kezelés különböző betegeknél nem egyformán hatékony, felvetődik a kombinációs terápia létjogosultsága (anti-TNF $\alpha$  + anti-IL-1, anti-TNF $\alpha$  + anti-IL-1 + IL-10, anti-TNF vagy anti-IL-1 + IL-2 immunmoduláció).

A szeptikus/endotoxémiás sokk kezelésében a TNF $\alpha$  és IL-1 gátlására irányuló állatkísérletek biztató eredményeket hoztak [15]. Az ezirányban folytatott klinikai tanulmányok eredményei ezzel szemben jelentős divergenciát mutatnak: a szeptikus sokk végkimenetelét az anti-TNF és anti-IL-1 nem befolyásolja szignifikánsan [15]. Lehetséges, hogy ennek az oka a besorolt beteganyag diagnosztikai sokfélesége, de számításba kell venni azt a lehetőséget is, hogy az endotoxémiás sokk kórlefolásában a gyulladáshoz vezető citokinek csak egy láncszemet jelentenek.

## Az OPG-RANKL-RANK szabályozó citokin-rendszer

Az osteoprotegerint (OPG) 1997-ben fedezték fel; szerkezetileg a TNF receptor család atípusos képviselője (nincs transzmembrán része és szignálhordozó tulajdonságai). A homodimer OPG molekula hatékony osteoclast-differenciáció inhibitor, azáltal, hogy felfüggeszti az osteoclastok RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B) receptorán a RANK ligand (RANKL) megkötésével beinduló jelzésfolyamatokat (NF $\kappa$ B aktiváció a sejtmagban, gén-transzkripció) [12].

A RANKL, az osteoprotegerin ligandja a csontremodellezés mediátora, közvetlen katabolikus hatású és többféle formát mutathat: ezek közül a RANKL1 és a RANKL2 különböző splicing-variánsok és megjelenhetnek az osteoblastok/stromasejtek felszínén, valamint proteolitikus hasítás következtében az extracelluláris folyadékban és a vérben is [8]. OPG adagolás transzgénikus OPG-hányos egéren (csonttritkulásra fogékony) védő hatású, túl-expresszió osteopetrosist hoz létre. Emberben az OPG túlsúly normális csontsűrűséggel jár, míg a RANKL túlsúly/relatív OPG hiány csonttritkuláshoz vezet [8].

A RANKL/RANK/OPG szignál-út feltérképezése felvetette a kérdést, hogy lehetséges-e a RANK-indukált osteoclastogenesis modulációjával csonttritkulásban a csonttömeg-vesztést megállítani? Többféle modulátort próbáltak ki in vivo: ezek közös tulajdonsága, hogy mindegyikük a RANKL/RANK kapcsolódást gátolja. Az AMG 162 kódjelű monoklonális antitest és az OPG-Fc fúziós molekula (osteoprotegerin-immunglobulin Fc szárhoz kötve) egy-

aránt jelentős csont-reszorpció gátlást okoznak, az első hatásai minden szempontból erősebbek [8].

Az OPG adagolása meggátolja az ovariectomia okozta csontritkulást, az osteolytikus metastasisok kialakulását és terjedését, a csontfájdalmat és a következményes hipercalcémiát. Posztmenopauzás nőkben és mielomás csontfelszívódásban szenvedő betegeknél egyetlen subcután OPG injekció a csont-turnover jelentős csökkentését okozta [2]. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az osteoprotegerin hatékony terápiás eszköz lehet fokozott osteoclast-aktivitással járó kórképekben, mivel korrigálja a károsan csökkent RANKL/OPG arányt [6].

A Denosumab RANKL ellenes „humanizált” monoklonális antitest, az OPG hatását mímeli, többféle csontritkulás-típuson is előnyös hatású [17]. A Denosumab terápiás előnyei kézzelfoghatóak: a csigolyákon mért csontsűrűség 1 éves Denosumab kezelés alatt szignifikánsan nő [17].

Dózisa 30-60 mg, 3-6 havonta adható.

Az osteoprotegerin „klasszikus” szerepén túllépve meglepetés-molekulának bizonyult: néhány éve derült ki, hogy bőségesen jelen van az artériák falában, sőt, éppen a Weibel-Palade testben halmozódik fel, amely számos, más vazóaktív mediátort is tárol. Kaszkádszerűen érkező eredmények azt mutatják, hogy az OPG keringő szintje összefügg az atherogenesis előrehaladásával, cardiovascularis rizikófaktor, és az OPG gén polimorfizmusai kapcsolatban állnak a szívinfarktus-rizikóval [3, 9,13]. Mindezen ismeretek tükrében felmerül a kérdés: az OPG/RANKL/RANK szabályozó tengely optimális beállítása, modulációja végezhető-e atherosclerosis és szövődményeinek provokálása nélkül? Másrészt, ha sikerül olyan terápiás arzenált kifejleszteni, amely az OPG (vagy anti-RANKL) előnytelen vazogén hatásait megtartja, mindkét népbetegség kezelésében (talán megelőzésében is) jelentős előrelépés várható.

## Irodalom

- Ahmed S., Rai K. – *Interferon in the treatment of hairy-cell leukemia*, Best Practice&Research in Clinical Haematology 2003, 16(1):68-81.
- Andelkovic Z., Katic V., Mihailovic D. et al. – *RANKL/RANK/osteoprotegerin system as novel therapeutic target in the treatment of primary bone tumors and osteolytic metastases*, Arch Oncol 2004;12(2):112-114.
- Doherty T.M., Asotra K., Fitzpatrick L.A. et al. – *Calcification in atherosclerosis: Bone biology and chronic inflammation at the arterial crossroads*, PNAS 2003, 100(20):11201-11206.
- Gergely J., Erdei A. – *Citokinek és citokin-receptorok*. In: Immunbiológia, Medicina Kiadó, Budapest 2004, 141-159.
- Gorman J.D., Sack K.E., Davis J.C. – *Inhibition of Tumor Necrosis Factor and Ankylosing Spondylitis*. N. Engl. J. Med. 346(18):1349-1356.
- Hamdy N.A.T. – *Osteoprotegerin as a potential therapy for osteoporosis*, Current Osteoporosis Reports, 2005(3/4):121-125.
- Kantarjian H.M., O'Brien S., Aderlin P. et al. – *Treatment of chronic myelogenous leukemia: current status and investigational options*. Blood 1996; 87:3069-3081.
- Kearns A. E. , Khosla S., Kostenuik P. – *Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease.*, Endocrine Reviews 2008, 2:155-192.
- Kiechl S., Schett G., Wenning G. et al. – *Osteoprotegerin Is a Risk Factor for Progressive Atherosclerosis and Cardiovascular Disease*, Circulation, 2004, 109:2175-2180.
- Marzo-Ortega H., McGonagle D., Haugeberg G. et al. – *Bone mineral density improvement in spondyloarthropathy after treatment with etanercept*, Annals of Rheumatic Diseases 2003, 62:1020-1021.
- Omata M., Yokosuka O., Takama S. et al – *Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon*, Lancet 1991, 338 (8772):914-915.
- Simonet W.S., Lacey D.I., Dunstan C.R. et al. – *Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density*, Cell 1997 89:309-319.
- Soufi M., Schoppet M., Schaeffer J.R. et al. – *Osteoprotegerin Gene Polymorphisms in Men with Coronary Artery Disease*, The Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism 2004, 89 (8):3764-3768.
- van den Berg W.B. – *Anti-cytokine therapy in chronic destructive arthritis* Arthritis Res 2001, 3:18–26.
- Vincent J.-L., Carlet J., Opal S.M. – *Anti-Cytokine Therapy*. In: The Sepsis Text 2002, Springer U.S. 719-728.
- Wang D.K.H., Cheung A.M., O'Rourke K. et al. – *Effect of Alpha-Interferon Treatment in Patients with Hepatitis B e Antigen-Positive Chronic Hepatitis B*, Annals of Internal Medicine 1993, 119(4):312-323.
- Whyte M.P. – *The long and the short of bone therapy*, N. Engl. J. Med. 2006, 354(8):860-863.