

Z Rheumatol 2009 · 68:150–153
 DOI 10.1007/s00393-008-0427-x
 Online publiziert: 19. Februar 2009
 © Springer Medizin Verlag 2009

R. Voll¹ · F. Hiepe²

¹ Nikolaus-Fiebiger Zentrum, IZKF-N2 und Medizinische Klinik 3,
 Universität Erlangen-Nürnberg

² Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie,
 Charité-Universitätsmedizin Berlin

Redaktion

A. Radbruch, Berlin
 H. Schulze-Koops, München

Plasmazelldepletion – ein neuer Ansatz in der Lupus-therapie bei Maus und Mensch

Der systemische Lupus erythematodes (SLE) stellt oft eine therapeutische Herausforderung dar. Schwere Organbeteiligungen wie die Lupusnephritis sind gefürchtete, lebensgefährdende Manifestationen. Trotz hochdosierter Glukokortikoid-Therapie, kombiniert mit Cyclophosphamid, Mycophenolat-Mofetil oder anderen Immunsuppressiva, lässt sich in einigen Fällen keine ausreichende Kontrolle der Krankheitsaktivität erzielen. Bei diesen Patienten mit Therapieversagen oder

Unverträglichkeiten unter etablierten Immunsuppressiva werden rasch die Grenzen der durch Studien gesicherten oder zumindest durch breite klinische Erfahrungen gestützten Behandlungskonzepte deutlich.

Langlebige autoreaktive Plasmazellen als therapeutischer Angriffspunkt beim SLE

Ein wesentlicher Grund für ein unbefriedigendes Ansprechen auf konventio-

nelle Immunsuppressiva dürften pathogene Autoantikörper sein, deren Titer sich trotz aggressiver Behandlungsschemata nicht oder nur mäßiggradig reduzieren lassen. Hierfür sind langlebige Plasmazellen (■ **Infobox 1**) verantwortlich, die im Gegensatz zu kurzlebigen Plasmazellen viele Jahre leben und extrem therapieresistent sind. Sie überleben eine hochdosierte Glukokortikoid- oder Cyclophosphamid-Therapie im Knochenmark und z. T. auch in entzündeten Geweben [5, 9]. Auch der monoklonale Antikörper Rituximab, der gegen das auf nahezu allen Entwicklungsstadien der B-Zell-Reihe exprimierte CD20-Molekül gerichtet ist, kann Plasmazellen nicht depletieren, da auf diesen CD20 zumeist nicht nachweisbar ist. Daher wurden bisher Immunadsorption und Plasmapherese eingesetzt, um zumindest die Autoantikörperspiegel zu reduzieren. Allerdings sind zahlreiche Anwendungen dieser aufwendigen extrakorporalen Behandlungsverfahren erforderlich. Außerdem werden die Antikörpertiter nur vorübergehend gesenkt.

Um die Autoantikörperproduktion langfristig und effizient zu unterbinden, bedarf es neuartiger Therapieverfahren, die auch die langlebigen Plasmazellen eliminieren können. Zwei von ihnen haben sich in ersten Anwendungen als vielversprechend erwiesen:

- der Reset des Immunsystems durch Immunablation mit nachfolgender autologer Stammzelltransplantation und

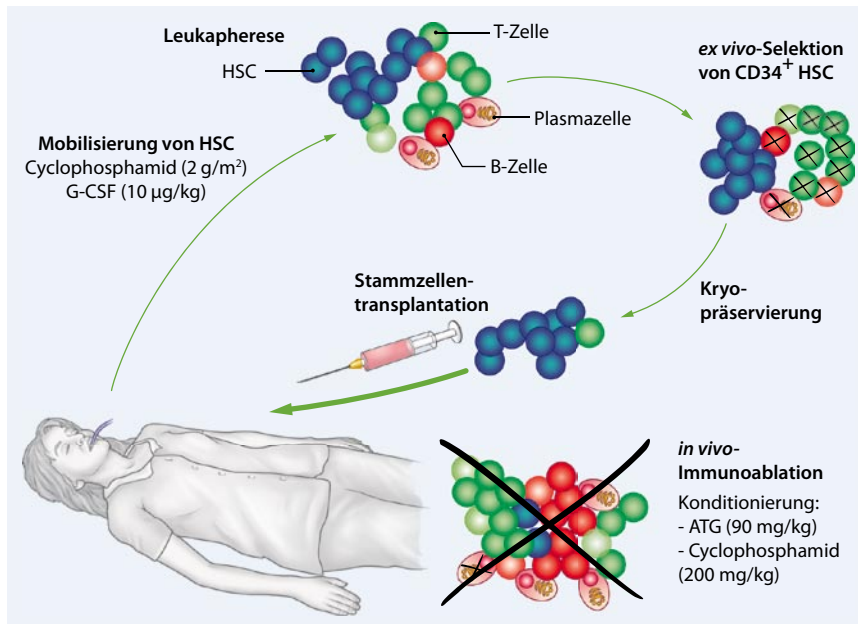


Abb. 1 ▲ Prinzip der Immunablation in Kombination mit autologer Stammzelltransplantation (mod. nach [10]). Die CD34-positiven hämatopoetischen Stammzellen (HSC) werden nach ihrer Mobilisierung mittels Leukapherese aus dem peripheren Blut gewonnen und angereichert. Nach Immunablation des Immunsystems mit ATG und Cyclophosphamid erhalten die Patienten ihr autologes HSC-Transplantat zurück. Die rot gefärbten Zellen sollen autoreaktive Zellen darstellen

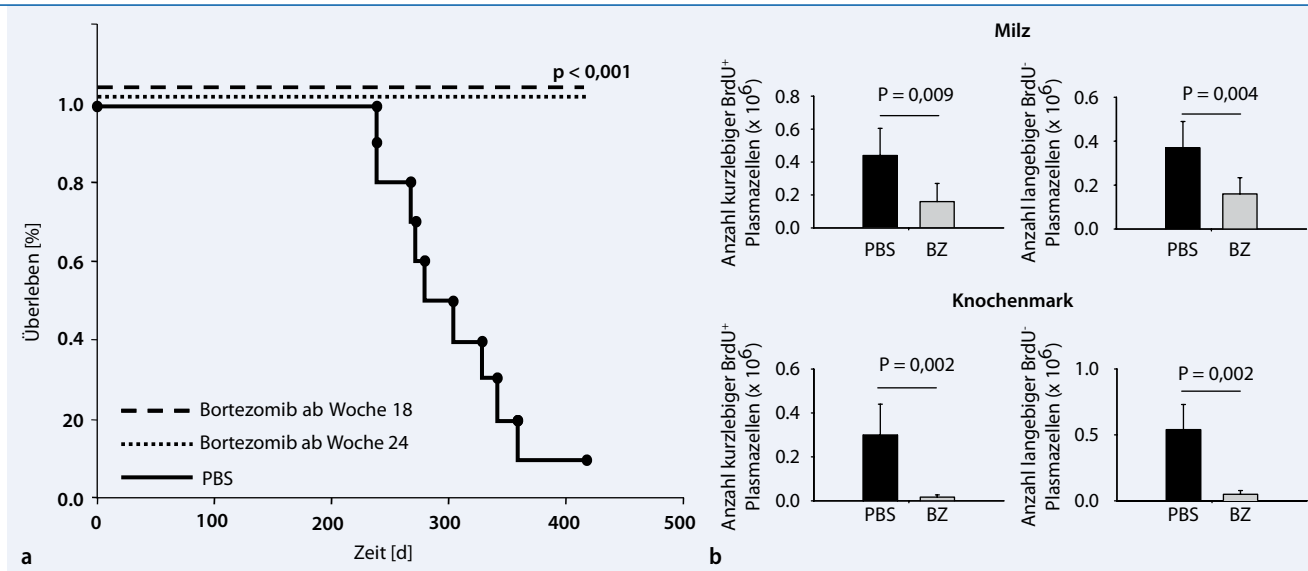


Abb. 2 ▲ Effekte von Bortezomib im Lupusmodell der NZB/W-F1-Maus. **a** Effekte einer Bortezomib-Therapie (2-mal pro Woche 0,75 mg/kg i.v.) auf die Überlebenszeit. **b** Depletion lang- und kurzlebiger Plasmazellen durch Bortezomib. Weibliche NZB/W-F1-Mäuse wurden über 2 Wochen mit Bromdeoxyuridin (BrdU) gefüttert, um langlebige BrdU-negative von kurzlebigen BrdU-positiven Plasmazellen zu differenzieren. Nach 2-maliger Gabe von 0,75 mg/kg Bortezomib (Bz) oder Lösungsmittel (Phosphat-gepufferte Salzlösung, PBS) im Abstand von 36 Stunden wurden die Plasmazellen aus Milz und Knochenmark anhand ihrer CD138- und intrazellulären κ -Leichtketten-Expression zytofluorometrisch analysiert

— die Plasmazelldepletion durch Proteasominhibition.

„Reset“ des Immunsystems: Immunablation mit nachfolgender autologer Stammzelltransplantation

Bei therapierefraktären Autoimmunerkrankungen stellt die autologe Stammzelltransplantation seit ungefähr 10 Jahren eine Therapieoption dar. Dadurch können bei refraktären SLE-Patienten langanhaltende Remissionen erzielt werden [1, 2, 6]. Konkret wird zunächst durch Immunablation mit Antithymozytenglobulin (ATG) und Cyclophosphamid das Immunsystem zerstört, wobei ATG in der Lage ist, auch die langlebigen Plasmazellen zu eliminieren. Refraktäre SLE-Patienten, die an der Charité auf diese Weise behandelt wurden, zeigten einen vollständigen Rückgang der Anti-dsDNA- und Antiphospholipid-Antikörper sowie der protektiven Antikörper, die trotz vorheriger Cyclophosphamid-Behandlung persistiert hatten.

Durch anschließende Transplantation autologer hämatopoetischer CD34-positiver Stammzellen kann ein gesundes Immunsystem rekonstituiert werden. Die peripheren Stammzellen wurden zuvor *ex vivo* mittels Anti-CD34-Antikörper-kon-

jugierter magnetischer Partikel im ClinMACS angereichert, um die Zahl kontaminierender autoreaktiver Lymphozyten gering zu halten. Durch die effektive Beseitigung eines autoreaktiven Gedächtnisses, das die langlebigen Plasmazellen einschließt, in Kombination mit einer Reprogrammierung des adaptiven Immunsystems (■ **Abb. 1**) kann somit bei schweren Krankheitsverläufen ein normales, tolerantes Immunsystem wiederhergestellt werden [1, 11].

Plasmazelldepletion durch Proteasominhibition

Proteasominhibitoren (■ **Infobox 2**) repräsentieren eine neue Klasse von Pharmaka, die zur Tumortherapie entwickelt wurde. Bortezomib, ein selektiver Inhibitor der Chymotrypsin-ähnlichen Proteasomaktivität, wird seit mehreren Jahren erfolgreich zur Behandlung des therapierefraktären bzw. rezidierten multiplen Myeloms eingesetzt und ist derzeit der einzige zugelassene Proteasominhibitor.

Proteasominhibitoren induzieren die Apoptose von Tumorzellen, indem sie den Zellzyklus deregulieren, den antiapoptischen Transkriptionsfaktor NF- κ B inhibieren sowie Wachstums- und Überlebensfaktoren hemmen. Bei Myelomzel-

len steht dagegen die Induktion des terminalen „unfolded protein response“ (UPR), ausgelöst durch Überladung des endoplasmatischen Retikulums (ER) mit ungefalteten bzw. defekten Antikörpermolekülen, im Vordergrund. Unter Proteasomblockade können die defekten Antikörper nicht mehr retrograd ins Zytoplasma transportiert werden; sie akkumulieren im ER. Hierbei zeigte sich eine klare Korrelation der Empfindlichkeit von Myelomzellklonen gegenüber Proteasomblockade mit ihrer Antikörpersyntheserate [7].

Diese Ergebnisse ließen uns vermuten, dass auch normale Plasmazellen, die mit 5000 bis 10.000 Antikörpermolekülen pro Sekunde weit mehr Protein synthetisieren dürften als irgendeine andere Zelle, ebenfalls überaus empfindlich auf eine Proteasominhibition reagieren würden. Zudem hatten Cenci und Mitarbeiter [3] zeigen können, dass die Proteasomaktivität während der terminalen Plasmazelldifferenzierung abnimmt.

Lupustherapie mit Bortezomib in Mausmodellen

In der Tat fanden wir in vorimmunisierten Mäusen eine starke Reduktion der Antikörpertiter und Plasmazellzahl nach

Z Rheumatol 2009 · 68:150–153
DOI 10.1007/s00393-008-0427-x
© Springer Medizin Verlag 2009

R. Voll · F. Hiepe

Plasmazelldepletion – ein neuer Ansatz in der Lupustherapie bei Maus und Mensch

Zusammenfassung

Die Sekretion pathogener Antikörper durch langlebige, gegenüber konventionellen Therapien resistente Plasmazellen kann zu therapierefraktären Verläufen des systemischen Lupus erythematoses (SLE) beitragen. Hier werden zwei neue Therapieverfahren vorgestellt, die auch langlebige Plasmazellen depletieren: 1. Die Immunablation mit Antithymozytenglobulin kombiniert mit autologer Stammzelltransplantation wurde schon erfolgreich bei SLE-Patienten eingesetzt. 2. Der Proteasominhibitor Bortezomib, zugelassen zur Myelomtherapie, depletiert kurz- und langlebige Plasmazellen und bessert die Lupusnephritis im Mausmodell. Diese Strategien könnten bald die Therapiemöglichkeiten bei SLE und anderen antikörpervermittelten Krankheiten bereichern.

Schlüsselwörter

Autoantikörper · Plasmazellen · Proteasominhibition · Stammzelltransplantation · Systemischer Lupus erythematoses

Depletion of plasma cells – a novel strategy in the therapy of systemic lupus erythematosus in mice and man

Abstract

Secretion of pathogenic antibodies by long-lived plasma cells which are resistant to conventional treatment may essentially contribute to refractory systemic lupus erythematosus (SLE). Here we introduce two novel therapies that also deplete long-lived plasma cells: 1. Immunoablation with anti-thymocyte globulin followed by autologous stem cell transplantation has already been successfully used in patients with SLE. 2. The proteasome inhibitor bortezomib, approved for the treatment of multiple myeloma, efficiently depletes short- and long-lived plasma cells and ameliorates lupus nephritis in mouse models. These novel therapies may improve the future treatment of SLE and other antibody-mediated diseases.

Keywords

Autoantibodies · Plasma cells · Proteasome inhibition · Stem cell transplantation · Systemic lupus erythematosus

Infobox 1 Rolle der Plasmazellen

Plasmazellen sind terminal differenzierte B-Lymphozyten, die für die Sekretion von Antikörpern zuständig sind. Unter pathologischen Bedingungen produzieren sie auch Autoantikörper. Beim SLE sind weit über 100 verschiedene Autoantikörper im Serum bekannt, von denen ein Teil direkt oder indirekt an der Pathogenese beteiligt ist [4].

Infobox 2 Rolle des Ubiquitin-Proteasom-Systems

Intrazelluläre Proteine werden ganz überwiegend durch das Ubiquitin-Proteasom-System degradiert. Insbesondere die Aktivität vieler in Signaltransduktionsprozesse und die Zellzyklusregulation involvierter Proteine wird durch kontrollierte Ubiquitylierung mit anschließender Degradation im 26S-Proteasom reguliert. Das 26S-Proteasom ist in allen Zellen exprimiert und stellt einen Multiproteinkomplex mit Trypsin-, Chymotrypsin- und Caspase-ähnlichen Proteaseaktivitäten dar.

Bortezomib-Therapie. Wir verwendeten Weibchen der ersten Tochtergeneration einer Kreuzung von „New Zealand Black“ (NZB-) mit „New Zealand White“ (NZW-) Mäusen, die spontan ein SLE-ähnliches Krankheitsbild mit pathogenen Immunglobulin (Ig)G-Autoantikörpern gegen dsDNA und im weiteren Verlauf eine Immunkomplexnephritis entwickeln, in deren Folge die Tiere zumeist im Alter von 35 bis 50 Wochen versterben. Ziel war es, die Effekte einer Bortezomib-Behandlung auf die Autoantikörperspiegel und auf den Krankheitsverlauf zu untersuchen.

Wurde Bortezomib ab der 18. bzw. 24. Lebenswoche, d. h. vor Auftreten hoher Autoantikörpertiter, 2-mal pro Woche intravenös verabreicht, bildeten sich keine Anti-dsDNA-Autoantikörper. Eine Proteinurie als Zeichen der Lupusnephritis war in keinem der behandelten Tiere nachweisbar. Auch histologisch ließ sich selbst in über 60 Wochen alten Tieren keine Lupusnephritis nachweisen. Beeindruckend waren die Effekte auf die Überlebenszeit: Während 9 von 10 Kontrolltieren aufgrund der schweren Nephritis euthanasiert werden mussten, überlebten alle 20 Mäuse der beiden Bortezomib-Behandlungsgruppen (■ **Abb. 2 a**; [8]).

Wurde die Therapie erst nach Auftreten von dsDNA-Antikörpern oder einer Proteinurie begonnen, fielen die Autoantikörpertiter rasch ab. Anti-dsDNA-spezi-

fische Plasmazellen ließen sich schon nach wenigen Wochen nicht mehr nachweisen. Die Proteinurie war rasch rückläufig und normalisierte sich bei fast allen Tieren im Behandlungszeitraum. Ähnliche Behandlungserfolge wurden im MRL-lpr-Lupusmodell beobachtet [8].

Im Gegensatz zur Behandlung mit Cyclophosphamid oder Glukokortikoiden depletierte Bortezomib auch die langlebigen Plasmazellen in Milz und Knochenmark von NZB/W-F1-Mäusen (■ **Abb. 2 b**). Somit erweisen sich Proteasominhibitoren als die ersten Pharmaka, mit deren Hilfe neben den kurzlebigen auch langlebige Plasmazellen relativ selektiv eliminiert werden können. Als Mechanismus der Plasmazelldepletion fand sich in Plasmazellen unter *In-vivo*-Proteasominhibition eine starke Induktion des proapoptotischen Faktors CHOP [“C/EBP (enhancer binding protein) homologe protein“], der die Aktivierung der terminalen, zur Apoptose führenden UPR anzeigt.

Ausblick

Sowohl die Immunablation im Rahmen der autologen Stammzelltransplantation bei therapierefraktärem SLE als auch die Depletion der Plasmazellen mit einem Proteasominhibitor im SLE-Mausmodell unterstreichen die Bedeutung der Plasmazellen in der Pathogenese des SLE. Plasmazellen stellen somit ein vielversprechendes therapeutisches Target bei SLE und anderen Antikörper-vermittelten Erkrankungen dar. Eine Pilotstudie zur klinischen Wirksamkeit von Bortezomib beim SLE wird vorbereitet.

Korrespondenzadresse

PD Dr. R. Voll

Nikolaus-Fiebiger Zentrum, IZKF-N2 und Medizinische Klinik 3, Universität Erlangen-Nürnberg
Glückstr. 6, 91054 Erlangen
rvoll@molmed.uni-erlangen.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist auf folgende Beziehung hin: R. Voll ist Erfinder auf einem Patentantrag zum Einsatz von Proteasominhibitoren zur Depletion langlebiger Plasmazellen.

Literatur

1. Alexander T, Thiel A, Massenkeil G et al (2009) Depletion of autoreactive immunological memory followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory SLE induces long-term remission through de novo generation of a juvenile and tolerant immune system. *Blood* 113:214–223
2. Burt RK, Traynor A, Statkute L et al (2006) Nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus. *J Am Med Ass* 295:527–535
3. Cenci S, Mezghrani A, Cascio P et al (2006) Progressively impaired proteasomal capacity during terminal plasma cell differentiation. *Embo J* 25:1104–1113
4. Hiepe F (2006) Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. In: Pollard KM (ed) *Autoantibodies and autoimmunity. Molecular mechanisms in health and disease*. Wiley-VCH, Weinheim, pp 247–276
5. Hoyer BF, Moser K, Hauser AE et al (2004) Short-lived plasmablasts and long-lived plasma cells contribute to chronic humoral autoimmunity in NZB/W mice. *J Exp Med* 199:1577–1584
6. Jayne D, Passweg J, Marmont A et al (2004) Autologous stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus. *Lupus* 13:168–176
7. Meister S, Schubert U, Neubert K et al (2007) Extensive immunoglobulin production sensitizes myeloma cells for proteasome inhibition. *Cancer Res* 67:1783–1792
8. Neubert K, Meister S, Moser K et al (2008) The proteasome inhibitor bortezomib depletes plasma cells and protects mice with lupus-like disease from nephritis. *Nat Med* 14:748–755
9. Radbruch A, Muehlinghaus G, Luger EO et al (2006) Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev Immunol* 6:741–750
10. Sykes M, Nikolic B (2005) Treatment of severe autoimmune disease by stem-cell transplantation. *Nature* 435:620–627
11. Thiel A, Alexander T, Schmidt CA et al (2008) Direct assessment of thymic reactivation after autologous stem cell transplantation. *Acta Haematol* 119:22–27

Mit Zuckerbrot und Peitsche zu einem gesunden Lebensstil?

Studie befragt Patienten, ob sie für Geld einen gesünderen Lebensstil führen würden

Bei der Frage, ob es sinnvoll ist, Menschen durch finanzielle Anreize zu einem gesünderen Lebensstil zu bewegen, sind Patienten offensichtlich geteilter Meinung. Die Wissenschaftler führten eine Umfrage unter 515 Patienten in Wartezimmern praktischer Ärzte durch. In dieser ersten Erhebung hielt die eine Hälfte der Befragten das Programm für eine gute Idee, während es bei der anderen Hälfte auf Ablehnung stieß. Raucher und Übergewichtige sind am häufigsten dafür, was vielleicht nicht überrascht. Im Bemühen, die ständig steigenden Gesundheitskosten einzudämmen, sind „Pay for Performance for Patients“ (P4P4P)-Programme in den USA wie auch weltweit immer populärer geworden. Man geht davon aus, dass schon kleine finanzielle Anreize Einsparungen bei den Gesundheitskosten langfristig mehr als wieder wettmachen. Vorausgesetzt, es gelingt dadurch, Patienten zu einem gesünderen Lebensstil zu bewegen, also beispielsweise mit dem Rauchen aufzuhören oder abzunehmen. Doch genau hier gehen die Meinungen auseinander: Ob solche Zahlungen tatsächlich zu einer Verhaltensänderung führen, ist letztlich nicht geklärt. Untersuchungen sind bisher unterschiedlich ausgefallen: Einige konnten keinen positiven Effekt feststellen, andere wiederum sprachen von gewissen Erfolgen. Die Autoren stellten fest, dass die Antworten häufig von der Fragestellung abhängig waren. Wenn es um Krankenversicherung und der Programminitiative P4P4P ging, waren alle Befragten beispielsweise an Anreizen interessiert, die vernünftiges Verhalten belohnten, nicht aber an solchen Maßnahmen, die als Bestrafung gesehen wurden; so hielten sie es z. B. für eine gute Idee, von Nichtrauchern niedrigere Beiträge zu fordern, nicht aber, Raucher mit höheren Beiträgen zu belasten, um sie zum Aufhören zu bewegen. Dies läuft zwar mehr oder weniger auf dasselbe hinaus, hat aber schwerwiegende Konsequenzen für die Planung zukünftiger Initiativen.

Weiterführende Literatur:

Long JA, Helweg-Larsen M und Volpp KG (2008). Patient opinions regarding ‚pay for performance for patients.‘ *Journal of General Internal Medicine* DOI 10.1007/s11606-008-0739-1

Quelle:
School of Medicine,
University of Pennsylvania
<http://www.med.upenn.edu>