

Immunterapi – en möjlig framtida behandling mot **PARKINSONS SJUKDOM**

Forskare på Uppsala universitet har i samarbete med BioArctic Neuroscience utvecklat antikroppar som selektivt binder till de skadliga formerna av alfa-synuklein, ett protein som är involverat i bland annat Parkinsons sjukdom. När möss med Parkinsonliknande symtom behandlades med dessa selektiva antikroppar minskade nivåerna av de skadliga formerna av alfa-synuklein i CNS, medan nivåerna av den fysiologiska formen förblev oförändrad, skriver här en av forskarna, **Therese Fagerqvist**, Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap, Uppsala universitet.

Tack vare medicinska framsteg och bättre levnadsvillkor lever vi allt längre. Därmed ökar också behovet av nya behandlingar mot åldersrelaterade neurodegenerativa sjukdomar. Av dessa obotliga tillstånd är Parkinsons sjukdom näst vanligast – med cirka 25 000 personer som är drabbade bara i Sverige.

Än så länge finns endast symptomatisk behandling, som framförallt syftar till att kompensera för den dopaminbrist som

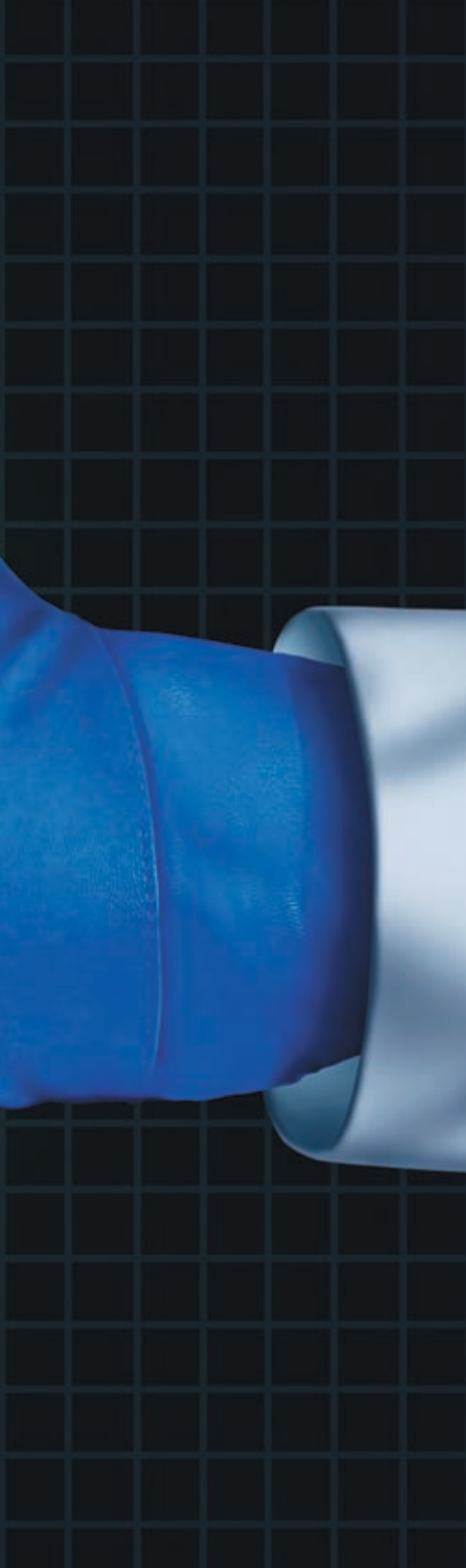
uppstår genom nervcellsdöden i hjärnstammen. Vid den närbesläktade sjukdomen Lewy body-demens startar de kognitiva symtomen före de motoriska Parkinsonrelaterade störningarna. Andra vanliga symtom är synhallucinationer, fallbenägenhet och livliga drömmar.

ALFA-SYNUKLEINET ÄNDRAR FORM

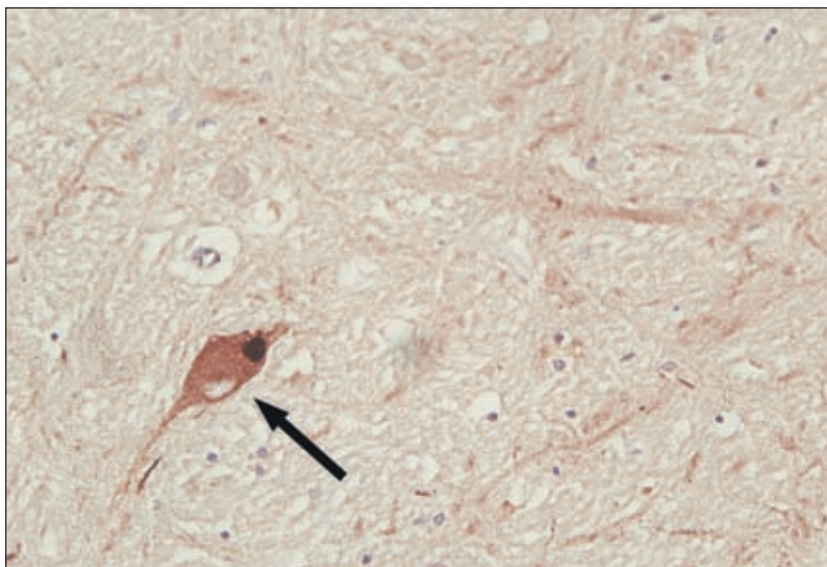
Nästan hundra år efter att de klassiska parkinsonsymtomen – tremor, rigiditet

och hypokinesi – 1817 skildrades av James Parkinson i "An Essay on the shaking palsy" kunde den tyske neurologen Friedrich Lewy beskriva de mikroskopiska intracellulära proteinaggregat som sedan kommit att benämnas Lewykroppar (figur 1).

Lewykroppar består huvudsakligen av proteinet alfa-synuklein¹, vars normala funktion troligen är relaterad till nervcellernas synapser, men som av



LEWYKROPP I HJÄRNAN HOS PARKINSONPATIENT



Figur 1. Immunohistologisk bild av en Lewykropp (pil) i hjärnan från en patient med Parkinsons sjukdom. Lewykroppar är ett av de neuropatologiska kännetecknen för sjukdomen (40 x förstoring).

okänd anledning ändrar form och ansamlas som långa olösliga neurotoxiska proteintrådar. Aktuell forskning tyder på att det framförallt är de mellanstora lösliga förstadierna till Lewykroppar, oligomerer eller protofibriller, som är skadliga för nervcellen².

Alfa-synuklein finns normalt som enskilda molekyler, monomerer, i hjärnan men vid sjukdom kan proteinet börja aggregera och tillsammans med andra monomerer bilda oligomerer/protofibriller. Dessa former fortsätter sedan att bilda större proteintrådar, fibriller, som ansamlas i själva Lewykroppen (figur 2).

Vissa ärftliga former av Parkinsons sjukdom orsakas av mutationer eller duplikationer/triplikationer i genen för alfa-synuklein³. Dessa sjukdomsformer är ovanliga, men har gett oss viktig kun-

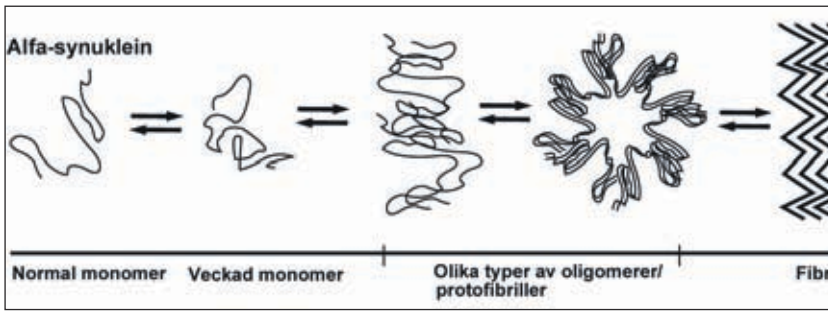
skap om sjukdomsmekanismerna. Framförallt har det visat sig att vissa mutationer kan leda till en ökad produktion av oligomerer, vilket troligen utgör den direkta sjukdomsmekanismen hos mutationsbärarna³.

FÖRSÖK MED IMMUNTERAPI

Oligomerer av alfa-synuklein återfinns både i hjärnan och i cerebrospinalvätskan hos patienter med neurodegenerativa sjukdomar³. Eftersom tidigare forskning visat att oligomerer/protofibriller är särskilt skadliga skulle en framtida sjukdomsbehandling kunna syfta till att minska förekomsten av dessa proteinformer med hjälp av immunterapi.

Vår forskargrupp på Uppsala universitet har därför, i samarbete med BioArctic Neuroscience AB, (BAN) utvecklat

AGGREGERING AV ALFA-SYNUKLEIN



Figur 2. Enskilda molekyler, monomerer, av alfa-synuklein kan ändra form och därmed bli mer benägna att bilda oligomerer/protofibriller. Dessa former, som är toxiska för nervcellen, kan sedan fortsätta att aggregera och bilda fibriller som inlagras i Lewykroppar.

monoklonala antikroppar, med selektivitet för alfa-synukleinprotofibriller. Dessa antikroppar binder upp till 1 000 gånger bättre till oligomera former av alfa-synuklein jämfört med monomerer. Baserat på dessa antikroppar har vi utvecklat en metod för att mäta nivåerna av oligomerer/protofibriller i hjärnvävnad.

Vi kunde initialt visa att antikropparna kunde detektera patologi i hjärnan på en musmodell för Parkinsons sjukdom betydligt tidigare än andra antikroppar och att nivåerna av oligomerer/protofibriller – till skillnad från totalnivåerna av alfa-synuklein – ökade med sjukdomsprogressionen i mössen.

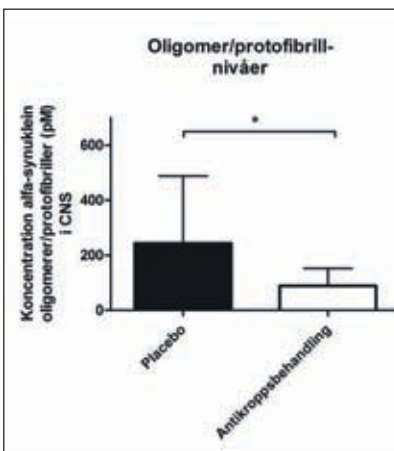
Vidare har vi börjat utvärdera anti-

kropparna i olika behandlingsprotokoll på cell- och djurmodeller. På odlade nervliknande celler kunde vi demonstrera att antikropparna kunde minska bildningen av toxiska oligomerer⁴. Vår forskargrupp har, tillsammans med BAN, genomfört en immunterapeutisk studie på ovan nämnda alfa-synukleintransgena möss, där vi använt oss av de nyligen utvecklade protofibrillselektiva antikropparna⁵.

ANTIKROPP SÄNKTE NIVÅERNA

Mössen i behandlingsstudien injicerades med den protofibrillselektiva antikroppen mAb47 en gång i veckan under 14 veckor⁶. Behandlingen startades när mössen var 14 månader gamla, en ålder

NIVÅER AV OLIGOMERER/PROTFIBRILLER AV ALFA-SYNUKLEIN I CNS HOS ANTIKROPPSBEHANDLADE MÖSS



Figur 3. Efter 14 veckors behandling med den protofibrillselektiva antikroppen mAb47 var nivåerna av toxiska oligomerer/protofibriller sänkta i antikropsbehandlade möss jämfört med placebobehandlade möss.

”Nivåerna av oligomerer/protofibriller i CNS visade sig vara sänkta i de djur som blivit behandlade med antikropp.”

då de flesta mössen redan har en del alfa-synukleinpatologi i hjärnan men ännu inte fått några svåra symtom. Under behandlingen övervakades djuren noggrant och togs ur studien om de uppvisade uttalade motoriska symtom.

Efter behandlingens slut analyserades de antikropsbehandlade mössen och jämfördes med möss som place-

bobehandlats. Nivåerna av oligomerer/protofibriller i CNS visade sig vara sänkta i de djur som blivit behandlade med antikropp (figur 3).

I musmodellen som användes för immunterapeutisk studie kunde vi också påvisa ett samband mellan höga nivåer av oligomerer/protofibriller och motoriska symtom, vilket ytterligare indikerar att dessa former spelar en viktig roll för uppkomst av symtom i denna djurmodell⁶. Vidare kunde vi se att antikropsbehandlingen endast påverkat nivåerna av oligomerer/protofibriller och inte fibrill- eller monomernivåerna av alfa-synuklein⁶.

Detta fynd är intressant och stämmer väl överens med våra *in vitro*-försök där vi visat att antikroppen framförallt binder till oligomerer. Förutom att antikroppen selektivt kan motverka eller reducera uppkomsten av neurotoxiska proteinformer kan troligen risken för biffekter minskas när antikroppen inte i första hand binder till den normala monomera formen av proteinet.

Andra lovande resultat var att vi på hjärnsnitt från de behandlade mössen kunde konstatera att antikropsbehandlingen inte orsakade någon ökad inflammation. I de immunterapeutiska studierna som nyligen genomförts på patienter med Alzheimers sjukdom har man sett att behandlingen kan leda till en ökad förekomst av inflammation i hjärnan, som meningoencefalit och perivaskulära ödem⁷.

ALFA-SYNUKLEIN ÄVEN UTANFÖR CELLEN

Immunterapi kan utföras på två sätt; antingen genom aktiv eller passiv immunisering. Vid aktiv immunisering, vaccinering, tillförs till exempel ett protein direkt till patienten så att det egna immunförsvaret producerar skyddande antikroppar för att avlägsna eller oskadliggöra proteinet. Vid passiv immunisering ges antikroppar riktade mot målprotein direkt till patienten.

Alfa-synuklein är ett protein som framför allt är lokaliserat inuti nervcellerna, vilket är ett potentiellt problem vid antikropsbehandling. Man har dock nyligen upptäckt att alfa-synuklein kan transporteras ut ur cellen och på så sätt förflytta sig mellan olika nervceller⁸. Vi och andra har kunnat visa att anti-

kroppar kan passera blodhjärnbarriären. Därmed skulle det alltså finnas en möjlighet för antikropparna att binda och oskadliggöra proteinet redan utanför cellen och på så sätt förhindra spridningen av sjukdomen i hjärnan. Dessutom har man också kunnat visa att antikroppar kan tas upp av cellen, antingen i sig själva eller då de redan har bundit till alfa-synuklein⁸. Väl inne i cellen finns olika nedbrytningssystem som sedan kan oskadliggöra antikropp-antikroppkomplexet.

STUDIER MED ANTIKROPPAR

I tidigare studier på transgena musmodeller för Parkinsons sjukdom har olika forskargrupper visat att både aktiv och passiv immunisering kunnat reducera alfa-synukleinpatologi i hjärnan⁹, minska spridningen av patologi mellan olika hjärnregioner⁸ och förbättra motoriska och kognitiva symtom⁹.

Hittills har dock endast en klinisk prövning baserad på immunterapi mot alfa-synuklein påbörjats (ClinicalTrials.gov, NCT01568099). I denna fas I-studie behandlas patienterna med korta proteinkedjor som liknar alfa-synuklein, vilket uppges leda till en hög produktion av alfa-synukleinspecifika antikroppar men som inte ska orsaka en oönskad T-cellsreaktion. Detta tillvägagångssätt har visat sig effektivt i försök på möss¹⁰. Studien beräknas vara avslutad i juli 2014.

Både aktiv och passiv immunisering har utvärderats som behandling vid Alzheimers sjukdom. Behandlingen är då riktad mot proteinet amyloid-beta, som inlagras i form av plack i Alzheimerhjärnan. Den första kliniska prövningen med aktiv amyloid-betaimmunisering på Alzheimerpatienter (AN1792) avbröts i förtid då vissa patienter drabbades av meningoencefalit⁷. I samband med obduktioner på vissa av de deltagande patienterna kunde det dock påvisas att behandlingen hade resulterat i en minskad förekomst av plack. I en subgrupp av behandlade patienter, som hade höga nivåer av amyloid-betaantikroppar, kunde man notera en viss uppbromsning i symtomutvecklingen^{7,11}.

Delvis på grund av biverkningarna vid aktiv vaccinering riktas nu mycket fokus mot passiv immunisering där fler-

talet kliniska prövningar är påbörjade med antikroppar riktade mot olika delar eller former av amyloid-beta. Två relativt nyligen avslutade kliniska prövningar med passiv immunisering med antikropparna bapineuzumab (ClinicalTrials.gov; NCT00575055, NCT00571432) och solanuzemab¹² misslyckades att visa effekt i stora fas III-studier.

En annan antikropp av intresse är BAN2401 (Eisai/BioArctic Neuroscience) som nu utvärderas i kliniska studier med Alzheimerpatienter. Denna antikropp är, liksom mAb47, protofibrillsektiv men i stället riktad mot amyloid-beta. Vad beträffar övriga CNS-sjukdomar finns det i dag ett godkänt läkemedel baserat på monoklonala antikroppar mot $\alpha 4$ -integrin (natalizumab) för behandling mot vissa former av multipel skleros (MS)¹³.

SAMMANFATTNING

Sammanfattningsvis är immunterapi ett spännande område där mycket aktivitet pågår både inom akademisk forskning och industriforskning. Ett antikropps-baserat läkemedel finns redan på marknaden mot MS och kliniska prövningar pågår för både Parkinsons och Alzheimers sjukdom. Baserat på våra egna och andras resultat hyser vi goda förhoppningar om att immunterapi även kan komma att bli en framtida behandling för Parkinsons sjukdom, Lewy bodydemens och relaterade sjukdomar.



THERESE FAGERQVIST PhD, Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap, Uppsala universitet, Uppsala
therese.fagerqvist@pub-care.uu.se

REFERENSER

1. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, and Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 1997; 388: 839-40.
2. Kalia LV, Kalia SK, McLean PJ, Lozano AM, and Lang AE. alpha-Synuclein oligomers and clinical implications for Parkinson disease. *Ann Neurol* 2013; 73: 155-69.
3. Puschmann A. Monogenic Parkinson's disease and parkinsonism: clinical phenotypes and frequencies of known mutations. *Parkinsonism Relat Disord* 2013; 19: 407-15.

4. Näsström T, Goncalves S, Sahlin C, Nordström E, Screpanti Sundquist V, Lannfelt L, Bergström J, et al. Antibodies against alpha-synuclein reduce oligomerization in living cells. *PLoS One* 2011; 6: e27230.

5. Fagerqvist T, Lindström V, Nordström E, Lord A, Tucker SM, Su X, Sahlin C, et al. Monoclonal antibodies selective for alpha-synuclein oligomers/protofibrils recognize brain pathology in Lewy body disorders and alpha-synuclein transgenic mice with the disease-causing A30P mutation. *J Neurochem* 2013; 126: 131-44.

6. Lindström V, Fagerqvist T, Nordström E, Lord A, Tucker S, Andersson J, Johansson M, et al. Reduced pathology in (Thy-1)-h[A30P] alpha-synuclein transgenic mice following immunotherapy with an alpha-synuclein protofibril-selective antibody. Manuscript.

7. Holmes C, Boche D, Wilkinson D, Yedgarfar G, Hopkins V, Bayer A, Jones RW, et al. Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet* 2008; 372: 216-23.

8. Bae EJ, Lee HJ, Rockenstein E, Ho DH, Park EB, Yang NY, Desplats P, et al. Antibody-Aided Clearance of Extracellular alpha-Synuclein Prevents Cell-to-Cell Aggregate Transmission. *J Neurosci* 2012; 32: 13454-69.

9. Valera E and Masliah E. Immunotherapy for neurodegenerative diseases: focus on alpha-synucleinopathies. *Pharmacol Ther* 2013; 138: 311-22.

10. Schneeberger A, Mandler M, Mattner F, and Schmidt W. Vaccination for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2012; 18 Suppl 1: S11-3.

11. Vellas B, Black R, Thal LJ, Fox NC, Daniels M, McLennan G, Tompkins C, et al. Long-term follow-up of patients immunized with AN1792: reduced functional decline in antibody responders. *Curr Alzheimer Res* 2009; 6: 144-51.

12. Siemers ER, Friedrich S, Dean RA, Gonzales CR, Farlow MR, Paul SM, and Demattos RB. Safety and changes in plasma and cerebrospinal fluid amyloid beta after a single administration of an amyloid beta monoclonal antibody in subjects with Alzheimer disease. *Clin Neuropharmacol* 2010; 33: 67-73.

13. Rudick R, Polman C, Clifford D, Miller D, and Steinman L. Natalizumab: bench to bedside and beyond. *JAMA Neurol* 2013; 70: 172-82.