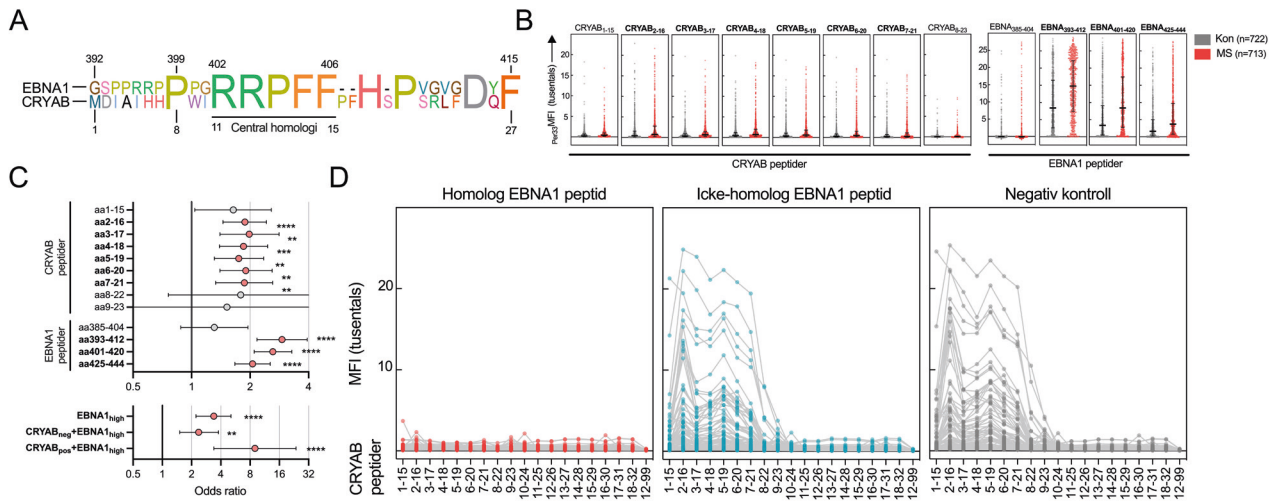


Korsreaktiva EBNA1-auto- antikroppar riktar sig mot CRYAB vid MS

Forskare vid Karolinska Institutet har funnit ytterligare bevis för hur Epstein-Barr-virus kan utlösa multipel skleros eller driva på sjukdomsutvecklingen. I sin studie visar de att vissa individer har antikroppar mot viruset som av misstag attackerar ett protein i hjärnan och ryggmärgen.

Olivia Thomas, postdoktor vid institutionen för klinisk neurovetenskap vid Karolinska Institutet, beskriver resultaten från studien som publicerats i *Science Advances*.



Figur 1. CRYAB- och EBNA1-antikroppar är associerade med MS och är korsreaktiva. A) Aminosyrasekvenshomologi mellan CRYAB och EBNA1. **B)** Antikroppssvar mot EBNA1- och CRYAB-peptider vid MS och hos kontroller. **C)** Associationer av antikroppssvar vid MS. **D)** Ömsesidiga blockeringsexperiment för CRYAB-antikroppssvar. Figur anpassad från Thomas och Bronge et al. *Sci Adv.* 2023.

Multipel skleros (MS) är en kronisk inflammatorisk sjukdom i centrala nervsystemet (CNS) som främst drabbar unga vuxna och är en av de främsta orsakerna till neurologiska funktionshinder i Sverige. Ungefär tre gånger fler kvinnor än män drabbas av MS, vanligtvis med ett insjuknande i 20–40 års åldern. De varierande symptomen speglar det område av CNS där inflammationen uppstår och kan innefatta synstörningar, kognitiv funktionsnedsättning, muskelsvaghet och svårigheter med rörelse och balans. Cirka 85 procent av fallen har ett skovvis förlöpande sjukdomsförlopp där exacerbationer följs av perioder av klinisk remission, men med tiden kan funktionshinder ackumuleras och permanent försämra fysisk och neurologisk funktion. En mindre andel av fallen debuterar med en primärprogressiv sjukdom utan perioder av remission.

Patogenesen vid MS kännetecknas av infiltration av immunceller i CNS via blod-hjärnbarriären som sedan orsakar inflammatoriska plack. Denna inflammation och skada på lokala strukturer leder till demyelinisering och bildandet av kroniska plack som över tid leder till axonal förlust. Tidig CNS-inflammation tros utlösas av autoreaktiva CD⁴+ T-celler som riktar sig mot myelin-antigener, men de exakta mekanismerna i den initiala sjukdomsfasen är inte särskilt kända.

Etiologin vid MS är oerhört kom-

plex med både miljömässiga och genetiska faktorer identifierade som bidragande orsaker. Hittills har över 200 gener associerats med MS och majoriteten av dessa uttrycks i det adaptiva immunsystemet; den starkaste riskgenen som hittills identifierats är humant leukocytantigen (HLA)-DRB1*15:01.¹ Genetiken har också visat sig interagera med miljö- och livsstilsfaktorer för att ytterligare öka MS-risken, och det finns bevis för att Epstein-Barr-virus (EBV) både interagerar med dessa faktorer och är nödvändigt för sjukdomsutvecklingen.^{2,3}

EBV är ett nästan alltså närvarande herpesvirus som vanligtvis förvärvas asymtomatiskt i barndomen, men om infektionen försenas till tonåren eller vuxen ålder kan det orsaka infektiös mononukleos – även kallad körtelfeber. En koppling mellan EBV och MS har föreslagits i över 40 år och denna koppling bekräftades i en studie från 2022 av Bjørnevik et al, som prospektivt analyserade 10 miljoner människor och visade att individer som utvecklar MS nästan alltid burit på viruset före sjukdomsutvecklingen.² Att identifiera den exakta mekanismen genom vilken EBV bidrar till sjukdom har varit svårare och det finns för närvarande flera teorier.⁴ En teori är att det adaptiva immunsvaret mot EBV – som normalt skulle kontrollera EBV-infektion – istället angriper komponenter i CNS som strukturellt liknar virusanti-

gener i en process som kallas molekylär mimik. Eftersom det är väl etablerat att personer med MS har ett ökat antal antikroppar mot virusprotein Epstein-Barr nukleärt antigen 1 (EBNA1),⁵ tror man att immunsvaret mot just detta antigen är involverat i MS. Patogena antikroppar är dock inte tillräckligt för att förklara alla kliniska egenskaper hos MS, och det är därför möjligt att antikropparna är biomarkörer för ett skadligt T-cellsvar riktat mot detta antigen, vilket har observerats vid andra autoimmuna sjukdomar, såsom diabetes mellitus.⁶

Tidigare studier har identifierat alpha-chrySTALLIN B (CRYAB) som ett potentiellt autoantigen i MS, dock har både pro- och antiinflammatoriska roller för CRYAB i CNS-autoimmunitet karakteriserats.^{7,8} På grund av proteinsekvenslikheter mellan dessa två antigener som har kopplats till MS – EBNA1 aminosyra (aa) 399-408 och CRYAB aa8-20 [Figur 1A] – hade vår studie som syfte att analysera T-cells- och antikroppssvar och även att undersöka deras korsreaktiva potential.

KORSREAKTIVA ANTIKROPPAR MOT EBNA1 OCH CRYAB

I samarbete med SciLife Lab vid Karolinska Institutet analyserade vi plasma från 713 personer med MS och 722 populationsmatchade kontroller för antikropsreaktivitet mot EBNA1, CRYAB och kontrollantigener. Som ti-

digare rapporterats identifierades ökad antikropsreaktivitet hos personer med MS för flera regioner av EBNA1 inklusive aa393-412-regionen som alltså har sekvenslikhet med CRYAB. Likaså ökade antikropsvaren mot CRYAB hos personer med MS jämfört med kontroller specifikt i regionen med homologi med EBNA1, med CRYAB aa2-16 som visade den högsta frekvensen av svar med 27,6 procent hos personer med MS respektive 16,9 procent hos kontroller [Figur 1B]. Ytterligare analys visade också att antikropsvar mot homologa EBNA1- och CRYAB-peptider var starkt korrelerade på individnivå. Inte bara det, MS-risken ökade markant för personer med antikropsvar mot både EBNA1- och CRYAB-fragment, med ett odds ratio (OR) på cirka 9 [Figur 1C].

Därefter använde vi blockeringsexperiment för att undersöka om EBNA1-specifika antikroppar var samma antikroppar som band till CRYAB. Resultaten visade att CRYAB-antikropsvaren avlägsnades helt endast om EBNA1-peptiden med en liknande sekvens som CRYAB tillsattes till analysen, utan effekt för en icke-homolog kontroll [Figur 1D]. Dessa resultat tyder starkt på att samma antikroppar binder till båda liknande sekvenserna från EBNA1- och CRYAB, vilket indikerar korsreaktivitet.

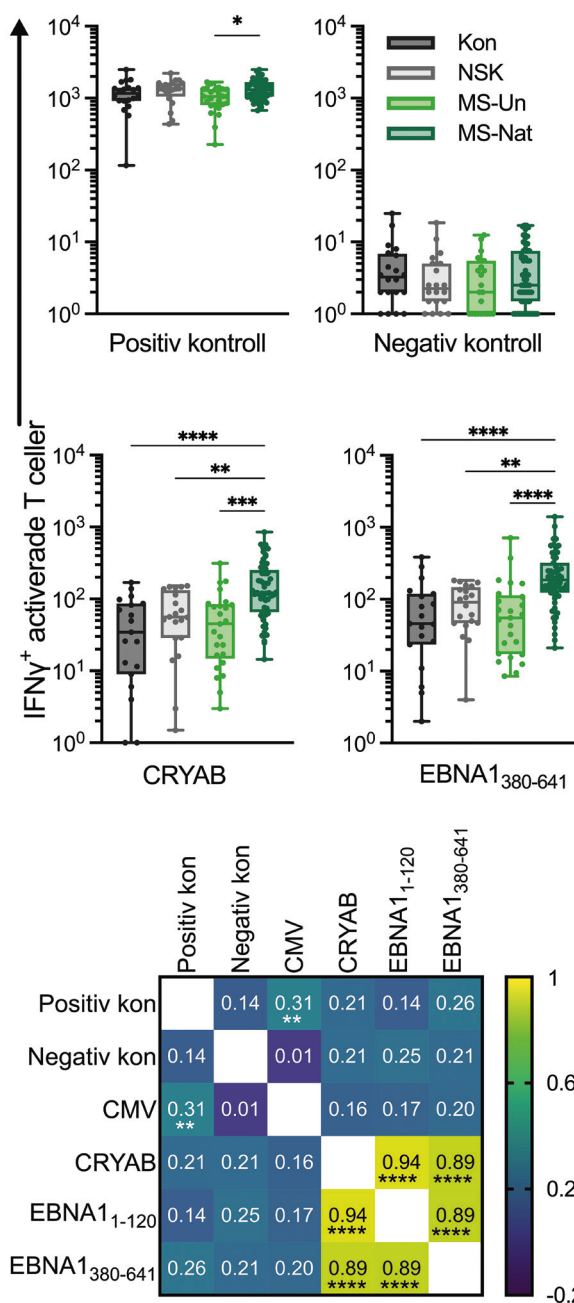
T-CELLSSVAR MOT CRYAB OCH EBNA1 VID MS OCH I EN MUSMODELL

För att undersöka om EBNA1 och CRYAB också var målet för T-cellsvar hos personer med MS, använde vi två metoder – FluoroSpot och flödescytometri – som detekterar T-celler som producerar inflammatoriska markörer som svar på stimuli. Autoreaktiva T-cellsvar är notoriskt svåra att studera vid MS av olika skäl, såsom etiska hinder för provtagning av CNS-vävnad och på grund av den generellt lägre aviditeten och frekvensen av autoreaktiva T-celler i perifert blod vilket gör det svårt att isolera dessa. Vi övervann dessa utmaningar genom att använda en ny partikelbunden antigenmetod för att analysera T-cellsvar på både CRYAB och EBNA1 i prover från personer med MS som behandlades med natalizumab – ett läkemedel som blockerar lymfo-

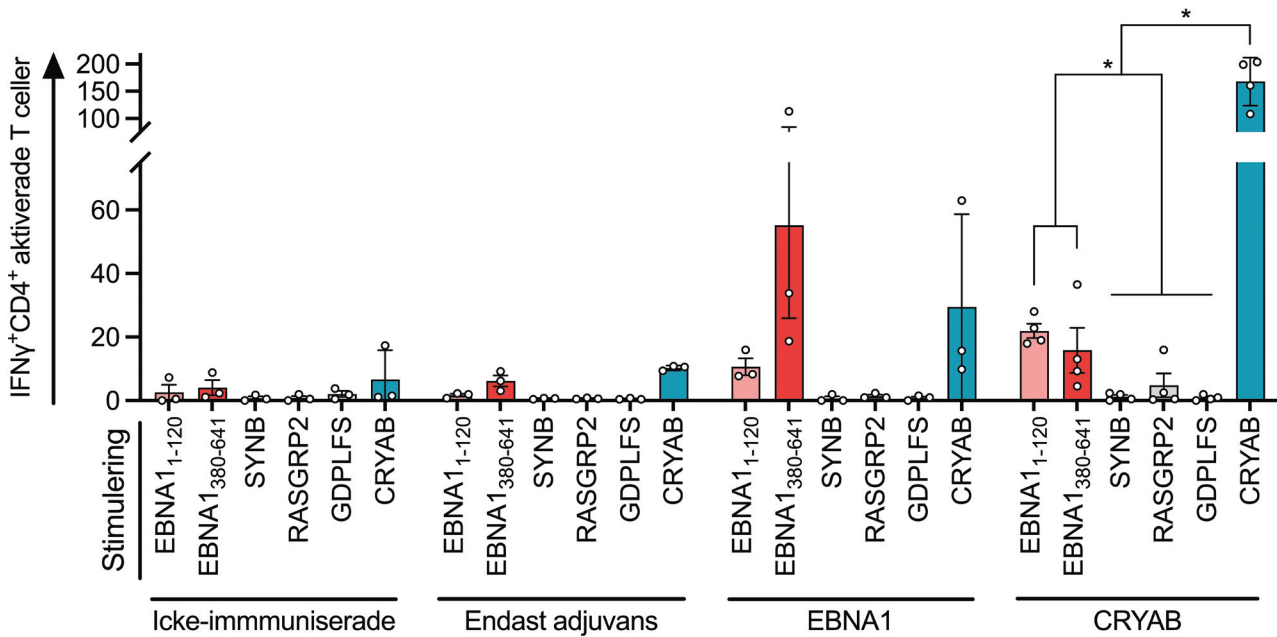
cytrafiken till CNS och tarm, vilket leder till att de ansamlas i perifert blod. T-cellsvar jämfördes mellan kohorter av obehandlade och natalizumab-behandlade personer med MS, individer med annan neurologisk sjukdom och friska kontroller. En ökad frekvens av T-celler som svarar på CRYAB och EBNA1 observerades i natalizumab-behandlade personer med MS [Figur 2], vilket tyder på att höga frekvenser av EBNA1- och CRYAB-specifika T-celler finns hos personer med MS, och att deras migration in i CNS blockeras un-

der natalizumabbehandling, vilket kan bidra till dess terapeutiska effekt. I likhet med antikroppar var T-cellsvar mot EBNA1 och CRYAB också starkt korrelerade hos individer, vilket indirekt tyder på korsreaktivitet i det cellulära immunförsvaret [Figur 2].

För att undersöka om exponering för EBNA1-antigen kunde leda till ett immunsvaret mot CRYAB användes en musmodell där djuren vaccinerades och sedan testades för T-cellsvar mot varje antigen. Resultaten visade att möss som vaccinerades med EBNA1-



Figur 2. Aktiverade T-celler efter stimulering med CRYAB- och EBNA1-antigener. Överst: T-cellsvar i perifert blod efter stimulering med partikelbundna antigener. Nederst: Korrelation av T-cellsvar på olika stimuleringar hos individer. Figur anpassad från Thomas och Bronge et al. Sci Adv. 2023.



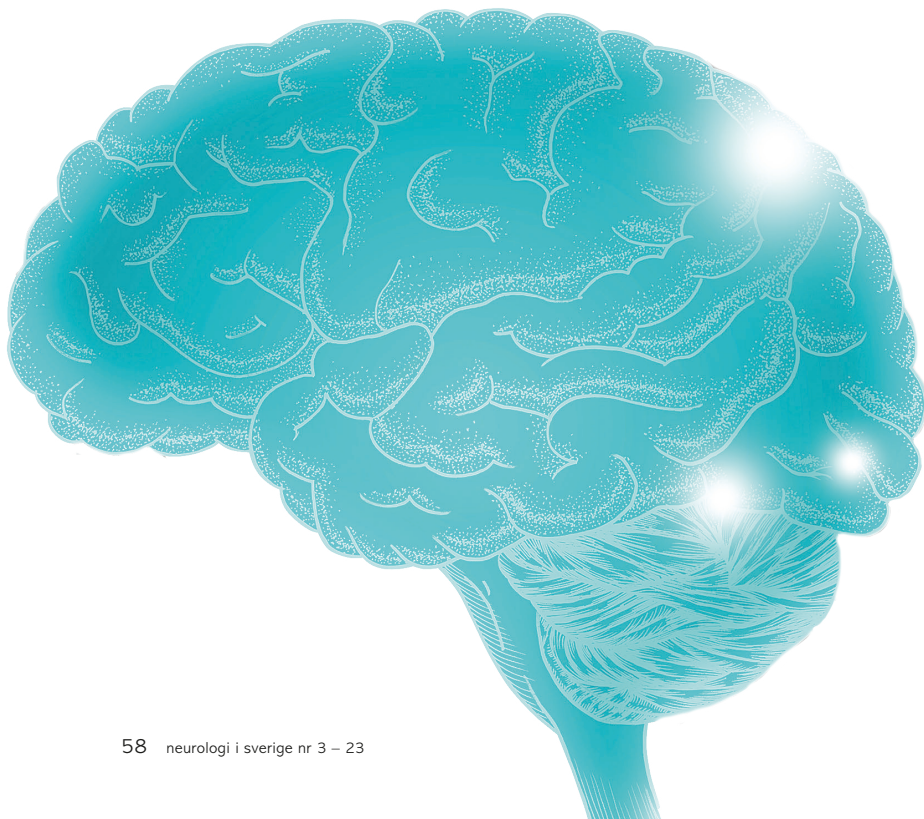
Figur 3. Immunisering med EBNA1 med CRYAB inducerar T-cellssvar mot det reciproka antigenet. Figur anpassad från Thomas och Bronge et al. 2023 Sci Sdv.

protein genererade ett CD4⁺ T-cellssvar mot CRYAB och på liknande sätt CRYAB-immunerade möss svarade på EBNA1, medan svar på andra autoantigenkontroller inte detekterades [Figur 3]. Dessa resultat indikerar att vaccination med EBNA1 eller CRYAB ger ett T-cellssvar på ömsesidigt antigen och är en indikation på molekylär mimik, ett fenomen som i teorin då också kan förekomma hos människor efter EBV-infektion.

IMPLIKATIONER

Sammanfattningsvis visade vår studie att antikropps- och T-cellssvar som ursprungligen genererades som svar på EBNA1 efter infektion med EBV har potential att också rikta in sig på liknande sekvenser i CRYAB, och att antikroppsvar mot EBNA1 och CRYAB var starkt associerade med MS. Detta fynd bygger på tidigare bevis för korsreaktivitet mellan EBNA1 och CNS-antigen,^{9,10} och antyder att mo-

lekylär mimik mellan EBV och CNS-proteiner kan leda till att det adaptiva immunsystemet skadar hjärnan och ryggmärgen vid MS. Epidemiologiska bevis har fastställt att EBV är en sannolik förutsättning för MS och ändå, även om det finns osäkerhet kring exakt hur viruset bidrar till sjukdomsutveckling och progression, har man inte kunnat utveckla effektiva EBV-inriktade terapier som behandlar MS. Det är viktigt att notera att de korsreaktiva CRYAB-antikropparna som identifierades i vår studie endast fanns i en undergrupp av personer med MS och därför är det troligt att det finns fler upptäckta autoantigen. Detta belyser också den höga grad av heterogenitet mellan patienter och antyder att olika autoantigen kan vara ansvariga för sjukdom hos varje individ – en idé som stöds av tidigare upptäckt av individuella autoreaktiva profiler i MS.¹¹ Observationen att natalizumabbehandlade personer med MS har höga frekvenser av EBNA1- och CRYAB-specifika T-celler i perifert blod tyder starkt på att dessa celler normalt skulle trafikera CNS där de skulle kunna orsaka inflammation och vävnadsskada, och att denna process förhindras av natalizumab. Sammanfattningsvis stöder vår studie rollen av CRYAB som ett autoantigen i MS och visar att CRYAB-au-



toimmuniteten är korsreaktiv med EBNA1 på grund av molekylär mimik. Ytterligare kunskap om molekylär mimik kan komma att leda till utveckling av framtida terapier mot MS.

Publikation: "Cross-reactive EBNA1 immunity targets alpha-crystallin B and is associated with multiple sclerosis". Olivia G. Thomas, Mattias Bronge, Katarina Tengvall, Birce Akpinar, Ola B. Nilsson, Erik Holmgren, Tara Hessa, Guro Gafvelin, Mohsen Khademi, Lars Alfredsson, Roland Martin, André Ortlieb Guerreiro-Cacais, Hans Grönlund, Tomas Olsson, Ingrid Kockum. Science Advances, online 17 maj 2023, doi: 10.1126/sciadv.adg3032.



OLIVIA THOMAS
Postdoktor vid
institutionen för klinisk
neurovetenskap vid
Karolinska Institutet
olivia.thomas@ki.se

References

1. Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CCA, Patsopoulos NA, Moutsianas L, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*. 2011 Aug 10;476(7359):214–9.
2. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, Kuhle J, Mina MJ, Leng Y, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*. 2022 Jan 21;375(6578):296–301.
3. Olsson T, Barcellos LF, Alfredsson L. Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2017 Jan;13(1):25–36.
4. Thomas OG, Rickinson A, Palendira U. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: moving from questions of association to questions of mechanism. *Clin Transl Immunol*. 2023;12(5):e1451.
5. Sundström P, Nyström M, Ruuth K, Lundgren E. Antibodies to specific EBNA-1 domains and HLA DRB1*1501 interact as risk factors for multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2009 Oct 30;215(1–2):102–7.
6. Pugliese A. Autoreactive T cells in type 1 diabetes. *J Clin Invest*. 2017 Aug 1;127(8):2881–91.
7. Ousman SS, Tomooka BH, van Noort JM, Wawrousek EF, O'Connor KC, Hafler DA, et al. Protective and therapeutic role for alphaB-crystallin in autoimmune demyelination. *Nature*. 2007 Jul 26;448(7152):474–9.
8. van Noort JM, Bsibsi M, Gerritsen WH, van der Valk P, Bajramovic JJ, Steinman L, et al. Alphas-crystallin is a target for adaptive immune responses and a trigger of innate responses in preactive multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010 Jul;69(7):694–703.
9. Lanz TV, Brewer RC, Ho PP, Moon JS, Jude KM, Fernandez D, et al. Clonally expanded B cells in multiple sclerosis bind EBV EBNA1 and GialCAM. *Nature*. 2022 Mar;603(7900):321–7.
10. Tengvall K, Huang J, Hellström C, Kammer P, Biström M, Ayoglu B, et al. Molecular mimicry between Anoctamin 2 and Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 associates with multiple sclerosis risk. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Aug 20;116(34):16955–60.
11. Bronge M, Högelin KA, Thomas OG, Ruhrmann S, Carvalho-Queiroz C, Nilsson OB, et al. Identification of four novel T cell autoantigens and personal autoreactive profiles in multiple sclerosis. *Sci Adv*. 2022 Apr 29;8(17):eabn1823.

Sumatriptan SUN - Subkutana injektioner för snabb smärtlindring vid akut migrän

6 mg/ml injektionsvätska motsvarande 3 mg sumatriptan per injektion endast tillgänglig hos SUN¹



**DET MAN INTE SER,
TÄNKER MAN INTE PÅ
SUMATRIPTAN FÖRFYLDA
PENNOR MED SÄKERHETSSKYDD**

Nålens säkerhetsskydd
främjar en trygg
administrering.¹

Ett enkelt klick för att starta
den subkutana administreringen
av sumatriptan.¹



¹ Produktresumé, Sumatriptan SUN, datum för senast översyn: 2021-11-18, tillgänglig hos FASS.se.

Sumatriptan SUN (sumatriptansuccinat) 6 mg/ml injektionsvätska, lösning i förfylld injektionspenna, Rx. Selektiva 5-HT₁ receptoragonister (N02CC01). **Indikationer:** Subkutan injektion för akut lindring av migränanfall, med eller utan aura. **Kontraindikationer:** Överkänslighet mot den aktiva substansen eller mot något hjälpämne. Ska inte ges till patienter som har haft hjärtinfarkt eller har en ischemisk hjärtsjukdom, koronar vasospasm (Prinzmetal's angina), perifer kärlsjukdom eller patientersom uppvisar symtomeller tecken som tyder på ischemisk hjärtsjukdom, patienter med cerebrovaskulär sjukdom (CVA) eller transitorisk ischemisk attack (TIA) i anamnesen, patienter med uttalad nedsatt leverfunktion, måttlig till uttalad hypertoni och lindrig okontrollerad hypertoni. Samtidig administrering av ergotamin eller derivat av ergotamin (inklusive metysergid) eller någon triptan/5-hydroxytryptamin1 (5-HT₁)-receptoragonist och monoaminoxidas-hämmare är kontraindicerad. Får inte användas inom två veckor sedan behandlingmed monoaminoxidas-hämmare avbrutits. **Varningar och försiktighet:** Ska endast användas om det finns en säker diagnos på migrän. För mer detaljerad information se produktresumé på www.fass.se. **Graviditet och amning:** Bör övervägas endast om den förväntade nyttan för modern är större än varje tänkbar risk för fostret. Utsöndras i bröstmjölk efter subkutan administrering. Exponering av spädbarn kan minimeras genom att man undviker amning i 12 timmar efter behandling, under vilken tid all utpumpad bröstmjölk bör kasseras. **Effekter på förmågan att framföra fordon och använda maskiner:** Dåsighet kan förekomma som följd av migränattacken eller behandlingen med sumatriptan. **Förmån (F):** Subventioneras vid nyinsättning endast för behandling av vuxna patienter med migrän som inte uppnått behandlingsmålen med sumatriptan i tablettform, eller när behandling med sumatriptan i tablettform inte är lämplig. **Innehavare för godkännande av försäljning:** Sun Pharmaceutical Industries Europe B.V. Polarisavenue 87, 2132 JH Hoofddorp, Nederländerna. **Texten är baserad på produktresumé:** 2021-11-18. **För ytterligare information se** www.fass.se