

Terapia immunoricoostituente nella sclerosi multipla: razionale e potenzialità

Davide Maimone

Centro Sclerosi Multipla – UOC Neurologia, Azienda Ospedaliera Garibaldi, Catania

La sclerosi multipla (SM) è una patologia infiammatoria del sistema nervoso centrale (SNC) la cui patogenesi è attribuita ad una cascata autoimmune generata e orchestrata da linfociti T autoreattivi diretti contro autoantigeni della mielina ⁽¹⁾.

L'insnesco della reazione autoimmune è ancora oggetto di ipotesi e potrebbe originare da fenomeni di *molecular mimicry* o dal difettoso funzionamento della tolleranza immunologica (*Treg cells*) ^(2,3).

I principali effettori della risposta autoimmune nella SM sono rappresentati da linfociti T del tipo Th1 e Th17 che, attivati da autoantigeni, migrano attraverso la barriera emato-encefalica all'interno del SNC, promuovendo una reazione infiammatoria con attivazione di macrofagi residenti (cellule microgliali) e richiamo di macrofagi dal sangue periferico ⁽⁴⁾.

Il danno tissutale determina la liberazione di ulteriori autoantigeni con espansione della risposta autoimmune (*epitope spreading*) ⁽⁵⁾.

Il ruolo dei linfociti B è stato a lungo

sottodimensionato, ritenendo questi elementi cellulari responsabili esclusivamente della produzione di autoanticorpi a ristretta eterogeneità (bande oligoclonali).

Recentemente ai linfociti B è stata attribuita una funzione più complessa, includente la capacità di operare da cellule presentanti l'antigene e di agire mediante il rilascio di molecole co-stimolatorie per i linfociti T ⁽⁶⁾. Inoltre, i linfociti B sono presenti nelle lesioni della SM e nelle fasi avanzate di malattia (forme progressive) tendono ad accumularsi in follicoli linfoidi ectopici nel SNC, sostenendo una compartimentalizzazione della risposta autoimmune ⁽⁷⁾.

Robuste conferme a sostegno della teoria autoimmune della SM provengono dai dati di elevata efficacia per farmaci come natalizumab e fingolimod, che impediscono l'accesso dei linfociti periferici al SNC prevenendo lo sviluppo di focolai infiammatori. Nel corso dell'ultimo decennio, nuovi farmaci sono stati sperimentati con successo nella SM e tali progressi han-

no condotto ad una revisione dell'approccio terapeutico alla malattia.

Le strategie di trattamento attuali possono essere riassunte in 2 modelli fondamentali: il trattamento immunomodulante/immunosoppressivo e quello immunoricoostituente.

Il primo modello è basato sulla somministrazione continua di farmaci con meccanismo d'azione differente, che può essere distinto in immunomodulante o immunosoppressivo in base all'effetto linfopenizzante.

Il secondo modello, al contrario, è caratterizzato dall'uso limitato nel tempo di farmaci o di trattamenti con drastico effetto linfopenizzante in grado di determinare un *reset* della risposta immunitaria con riequilibrio del repertorio di specificità antigenica dei linfociti T e B.

Il trattamento immunomodulante/immunosoppressivo deve essere somministrato cronicamente per raggiungere il controllo della risposta autoimmune e quindi una remissione della malattia.

Questo tipo di terapia non modifica

la patogenesi della malattia né può essere sospeso (per concreti rischi di ripresa di attività di malattia) e pertanto non può essere considerato una vera e propria cura. Al contrario, le terapie immunorcostituenti vengono somministrate in modo intermittente e sono in grado di determinare una remissione prolungata della malattia anche a distanza dalla loro sospensione.

Questi effetti sono il risultato del cambiamento radicale indotto sul sistema immunitario con una marcata deplezione dei cloni T e B cellulari autoreattivi e potenzialmente il ripristino di una “nuova” condizione di *self-tolerance* nei confronti degli antigeni mielinici.

Le due strategie di trattamento si differenziano anche per il diverso profilo di sicurezza: i trattamenti immunomodulanti/immunosoppressivi sono caratterizzati da un rischio crescente nel tempo di infezioni anche opportunistiche (ad es. PML) e di neoplasie, mentre i trattamenti immunorcostituenti presentano rischi solo iniziali che tendono a decrescere sino ad annullarsi nel tempo (Tab.1).

Trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche

Il prototipo ed anche il più incisivo dei trattamenti immunorcostituenti è il trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche (*Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation, AHSCT*). Questa terapia è ormai consolidata per le malattie neoplastiche ematologiche ed è stata impiegata con successo anche nelle forme più aggressive di varie patologie autoimmuni, inclusa la SM⁽⁸⁾.

Il presupposto teorico per l'impiego dell'AHSCT è la radicale soppressione del sistema immunitario con l'abrogazione delle risposte autoimmuni e il susseguente ripristino di una condizione di normale competenza e tolleranza immunologica. Gli studi clinici condotti in aperto nella SM hanno dimostrato il potenziale di tale trattamento con l'induzione di una rapida remissione seguita da prolungata stabilizzazione di malattia⁽⁹⁻¹¹⁾.

Questi risultati sono stati confermati in seguito da studi clinici randomizzati controllati nei quali l'AHSCT si è dimostrato superiore a trattamenti immunosoppressivi, quali il mitoxan-

trone, per ognuno dei parametri di attività infiammatoria di malattia (numero di ricadute, numero di lesioni captanti gadolinio e numero di nuove lesioni in T2)⁽¹²⁾.

Nonostante l'uso di differenti protocolli di condizionamento renda complicata un'interpretazione uniforme dei dati, una metanalisi di numerosi *trials* condotti con l'AHSCT nella SM ha dimostrato l'ottenimento di una condizione di NEDA (*No Evidence of Disease Activity*) nell'83% dei casi a 2 anni e nel 67% a 5 anni⁽¹³⁾.

Da una valutazione complessiva degli effetti a lungo termine ottenuti sinora, emerge che l'AHSCT risulta significativamente più efficace se utilizzato in pazienti con forma *relapsing-remitting* (SM-RR), con età non superiore a 30-35 anni e come 1° o 2° *switch* terapeutico, piuttosto che dopo numerosi tentativi con altre *Disease-Modifying Therapies* (DMTs)⁽¹⁴⁾.

I limiti dell'AHSCT sono rappresentati dalla sua efficacia limitata nei pazienti con disabilità avanzata e soprattutto dalla morbilità e mortalità correlate al trattamento⁽¹⁴⁾. Tuttavia, negli ultimi studi condotti con regimi di con-

	TERAPIE IMMUNOMODULANTI/ IMMUNOSOPPRESSIVE	TERAPIE IMMUNORICOSTITUENTI
Modo di somministrazione	Continuo	Intermittente o a brevi cicli
Problemi di aderenza	Possibili	Rari
Efficacia	Da modesta a molto elevata	Da elevata a molto elevata
Reversibilità degli effetti sul sistema immunitario	Sì	No
Rischio di eventi avversi	Basso inizialmente (ma aumenta nel tempo)	Elevato all'inizio (ma si riduce nel tempo)
Effetto <i>rebound</i> alla sospensione	Molto probabile	Meno probabile
Remissione prolungata dopo sospensione	Improbabile	Probabile

Tabella 1. Confronto tra terapie immunomodulanti/immunosoppressive e immunorcostituenti.

dizionamento non mielo-ablativi e in Centri con prolungata esperienza di AHSCT, la mortalità è stata azzerata e le complicazioni sono risultate nettamente ridotte senza una significativa perdita di efficacia⁽¹⁴⁾. Inoltre, il primo studio randomizzato di confronto tra AHSCT non mielo-ablativo e altre DMTs in pazienti con SM-RR ha dimostrato una marcata riduzione della percentuale di pazienti con progressione della disabilità a 5 anni (9,7% con AHSCT vs. 75,3% con altre DMTs) in assenza di casi di mortalità o di severa tossicità⁽¹⁵⁾.

I meccanismi con cui i trattamenti linfoablativi, e in particolar modo l'AHSCT, producono i loro effetti terapeutici sono: la delezione di popolazioni linfocitarie, l'induzione di uno stato linfopenico e il susseguente sviluppo di un sistema immunitario tollerante privo dell'espansione clonale di linfociti T e B patogeni⁽¹⁶⁾. La chemioterapia ablativa determina un'estrema riduzione del *pool* di linfociti maturi e stimola la proliferazione delle cellule sopravvissute al regime di condizionamento. I linfociti B, NK ed i monociti ripopolano entro le prime settimane sino a 6 mesi, mentre i linfociti CD3+ rimangono bassi nel periodo iniziale, normalizzando il loro numero tra i 6 e i 12 mesi.

Tra i linfociti CD3+, i primi a proliferare sono i CD8+ determinando un'iniziale inversione del rapporto CD4/CD8 sino a 24 mesi. Questa espansione dei CD8+ è chiamata "proliferazione linfopenia-dipendente" e rappresenta un processo volto a recuperare velocemente il numero di linfociti T. Un altro effetto di questo fenomeno è lo *switching* fenotipico con un aumento delle popolazioni terminali effettrici, tra cui quella rappresentata da linfociti CD8+ CD28-CD57+. Queste cellule originano

come popolazione effettrice/citotossica, ma possono acquisire un fenotipo anergico o regolatorio⁽¹⁶⁾. In ogni caso, molteplici analisi condotte dopo AHSCT confermano che le cellule T effettrici vanno incontro al maggior grado di espansione rispetto alle cellule T memoria. Tra i cloni linfocitari T persistenti dopo AHSCT, dominano quelli diretti contro patogeni comuni quali l'EBV o il CMV e la proliferazione precoce di questi cloni potrebbe limitare lo spazio disponibile per la diversificazione del *pool* linfocitario⁽¹⁷⁾. Inoltre, l'espansione clonale post-AHSCT favorirebbe anche un processo di senescenza replicativa con l'eliminazione di una consistente quota di linfociti in espansione, secondo un meccanismo chiamato "attrito"⁽¹⁸⁾. Infine, uno studio condotto mediante sequenziamento del *T-cell receptor* (TCR) dei cloni linfocitari T dopo AHSCT ha mostrato come l'espansione dei linfociti CD8+ sia dominata da cloni preesistenti, mentre quella dei linfociti CD4+ sia principalmente costituita da cloni non presenti prima del trapianto con un aumento della diversificazione del TCR⁽¹⁹⁾.

Anche il timo gioca un ruolo importante nella diversificazione del *pool* linfocitario dopo AHSCT. La ripopolazione dei linfociti CD4+ è principalmente di origine timica, si manifesta 12-24 mesi dopo il trapianto e correla con un aumento dei *T-cell receptor excision circles* (TRECs) e con l'espressione del CD31, un *marker* presente sulla superficie di linfociti di recente provenienza timica⁽¹⁷⁾.

Questa ricostituzione da parte di cellule *naïve*, di origine timica è uno dei meccanismi che contribuisce all'aumento della diversità del repertorio del *T-cell receptor*. Sebbene la funzione linfopoietica del timo declini con l'età, la riattivazione di questo orga-

no linfatico gioca un ruolo importante nella ricostituzione dei linfociti dopo chemioterapia e la presenza di una maggiore quota di tessuto timico potrebbe giustificare la superiore efficacia dell'AHSCT in pazienti più giovani.

Le terapie immunoricostruenti, specie l'AHSCT, favoriscono l'induzione di uno stato di tolleranza immunologica. Dopo AHSCT, si osserva un incremento del *pool* di cellule regolatorie (*Treg*) e tale fenomeno è probabilmente indotto dalla proliferazione linfopenia-dipendente⁽²⁰⁾. Anche dopo trattamento con alemtuzumab si rileva una rapida espansione delle *Tregs* CD4+ CD25+⁽²¹⁾. L'espansione delle *Tregs* post-AHSCT è ancora una volta di origine timica ed è caratterizzata, inoltre, da un aumento della diversificazione del loro repertorio.

Evidenze recenti suggeriscono un ruolo anche per i linfociti B nell'induzione della tolleranza post-terapie immunoricostruenti sostenuto da un'espansione di cellule B regolatorie (*Bregs*)⁽²²⁾. Un altro fenomeno correlato all'induzione di uno stato di tolleranza post-AHSCT è costituito dalla modificazione della risposta infiammatoria con una riduzione delle cellule Th17 e dell'espressione di IL-17⁽²³⁾ e con un aumento di molecole regolatorie quali CTLA-4, *glucocorticoid-induced TNF-related protein* e *programmed cell death-1 protein*⁽²⁴⁾. Alternative terapeutiche caratterizzate da effetti immunoricostruenti approssimabili all'AHSCT sono rappresentate da farmaci quali alemtuzumab e cladribina. Entrambe le molecole agiscono con un meccanismo linfoablativo diretto verso *target* specifici seguito da processi di immunoricostruzione del sistema immunitario differenti per ognuno dei farmaci (Tab.2).

	AHSCT	ALEMTUZUMAB	CLADRIBINA
Meccanismo d'azione	Trattamento linfo/mieloablativo seguito da recupero mediante cellule staminali autologhe	Eliminazione dei linfociti CD52+ mediante 2 cicli di Ab monoclonale IgG3 (0 e 12 mesi)	Terapia orale con analogo purinico inducente apoptosi selettiva di linfociti. Cicli a 0, 1, 12 e 13 mesi
Efficacia nella SM-RR	<i>Trials</i> di fase 1/2 e studi osservazionali con NEDA del 78-83% a 2 anni	<i>Trials</i> di fase 3 con NEDA del 39% a 2 anni	<i>Trials</i> di fase 3 con riduzione della frequenza di ricadute del 57,6% e della frequenza di nuove lesioni alla RM del 74,4%
Ripopolazione CD4+	Recupero quasi completo delle cellule memoria dopo 18-24 mesi	Recupero del 70-80% tra 12 e 24 mesi	Riduzione del 40-60%. Le cellule <i>naïve</i> risultano ridotte più che le cellule memoria
Ripopolazione CD8+	Ricostituzione precoce dopo 3-6 mesi dominata da cellule memoria CD8+	Riduzione dell'80-90% dopo terapia, con recupero sino al 50% tra 12 e 24 mesi	Riduzione del 20-40% dopo terapia
Ripopolazione B linfociti	Recupero quasi completo dopo 6-9 mesi	I linfociti B CD19+ ritornano ai valori basali dopo 3-6 mesi e raggiungono il 120-130% dopo 12 mesi	Riduzione del 90% dopo terapia, con recupero quasi completo dopo 12 mesi
Ripopolazione di provenienza timica	Aumento delle cellule CD4+CD31+ e delle cellule con <i>T-cell receptor excision circle</i> (TREC) post-AHSCT	Riduzione delle cellule TREC dopo terapia	Dati non disponibili
Induzione di malattie autoimmuni secondarie	14/273 (5%) casi da studi osservazionali	Sino al 50% a 7 anni dalla terapia	Nessun caso riportato negli studi di fase 3

Tabella 2. Confronto tra terapie immunoricostrucenti.

Alemtuzumab

Alemtuzumab è un anticorpo monoclonale umanizzato della classe IgG3 diretto contro il recettore CD52 presente sulla superficie dei linfociti T e B, monociti e delle cellule dendritiche con attività citolitica mediata da fissazione del complemento. È stato usato nel trattamento della leucemia linfatica cronica, dei linfomi e nel trapianto di organi e di midollo osseo, ma attualmente è registrato per la terapia della sclerosi multipla con ricadute.

Gli studi condotti con alemtuzumab hanno dimostrato la sua efficacia nel ridurre la frequenza di ricadute, la progressione della disabilità e l'accumulo di nuove lesioni alla RMN sino a 5 anni nel 70% dei pazienti con SM *relapsing* ^(25,26). Tuttavia, alemtuzumab

può favorire lo sviluppo di malattie autoimmuni (tiroidite, trombocitopenia, glomerulopatia) sino al 50% dei pazienti, per un periodo fino a 7 anni dall'inizio del trattamento, e pertanto viene riservato alle forme aggressive di SM. Dopo terapia con alemtuzumab, la ripopolazione dei linfociti T avviene inizialmente con un meccanismo di proliferazione omeostatica, prevalentemente a carico delle cellule CD8+ memoria, seguito da una più lenta ricostituzione delle cellule CD4+ che tendono a ritornare ai valori pre-trattamento dopo circa 61 mesi ^(27,28).

Ad un anno dal trattamento il numero totale dei linfociti ritorna a quello originario in circa il 47% dei pazienti, con recupero del 50% dei linfociti CD8+ e del 30% di quelli CD4+.

In contrasto con quanto avviene con l'AHSCT, le cellule T *naïve* non raggiungono i livelli pre-trattamento prima di 24 mesi, mentre la popolazione di CD4+ è relativamente arricchita di CD4+CD25+ *Tregs*, anche se i livelli assoluti persistono più bassi sino a 24 mesi ^(29,30).

Al contrario la popolazione di linfociti B è amplificata già dopo 3-6 mesi dal trattamento in relazione ad un incremento dei livelli del *B cell-activating factor* (BAFF) tra il 1° e il 3° mese ⁽³¹⁾. La popolazione di linfociti B è prevalentemente costituita da cellule immature CD19+CD27-CD38+CD10+ e in minor misura da cellule mature *naïve* CD19+CD27-CD38+CD10-, mentre le cellule B memoria CD27+ persistono a valori inferiori al 20% di quelli pre-trattamento sino a 12 mesi ⁽³¹⁾.

In contrasto a quanto si verifica nell'AHSC, le cellule staminali CD34+ circolanti risultano sostanzialmente meno numerose dopo terapia con alemtuzumab, giustificando la prolungata linfopenia, e le cellule TREC non appaiono aumentate di numero, suggerendo come un più elevato carico di cellule CD34+ contribuisca ad una più rapida produzione timica di linfociti T⁽³²⁾.

Inoltre, la terapia con alemtuzumab, come nel caso dell'AHSC, è in grado di determinare una ricostituzione del repertorio del TCR con lo sviluppo di un *pattern* più ristretto a breve termine, seguito da una normalizzazione di tipo policlonale a lungo termine, con eccezione dei linfociti CD4+ che mantengono un *pattern* tendenzialmente più oligoclonale⁽³³⁾.

Cladribina

La cladribina è un analogo purinico il cui metabolita attivo, la 2-clorodesossadenosina, si accumula selettivamente nei linfociti a causa di peculiari caratteristiche enzimatiche intracellulari. La 2-clorodesossadenosina produce un effetto linfoablativo,

ostacolando il metabolismo cellulare e inibendo la sintesi del DNA. Lo studio CLARITY ha dimostrato che la cladribina riduce significativamente la frequenza delle ricadute e l'accumulo di nuove lesioni alla RMN⁽³⁴⁾.

La cladribina determina una marcata deplezione di linfociti T e B. Il numero di cellule B si riduce drammaticamente sino al 10%, ma il ripopolamento è marcatamente più lento rispetto a quanto avviene dopo alemtuzumab, con un recupero sino all'80% dopo 12 mesi⁽³⁵⁾. Anche i linfociti CD4+ e CD8+ vanno incontro ad una marcata deplezione: il numero di cellule CD4+ si riduce del 55% entro i primi 3 mesi, mentre quello delle cellule CD8+ del 30-50%⁽³⁵⁾. Come per altre terapie immunoricostrucenti, il numero di cellule T *naïve* si riduce in maggior misura rispetto a quello delle cellule T memoria e il loro recupero avviene più lentamente. I linfociti T *naïve* CD4+ si riducono sino all'80% dopo 3 mesi, senza mai risalire oltre il 70% dei valori di partenza e i linfociti T memoria CD4+ CD45RO+ mostrano un andamento simile con un recupero sino al 60-65%⁽³⁵⁾.

I linfociti T *naïve* CD8+ si riduco-

no in misura inferiore (non più del 25% a 3 mesi) e i linfociti T memoria CD8+ non scendono più del 10%⁽³⁵⁾. Il profilo di ricostituzione dopo cladribina è più simile a quello osservato dopo AHSC, tuttavia studi a lungo termine sono necessari per verificare la durata dell'effetto linfoablativo e le modificazioni del repertorio di specificità antigenica.

Conclusioni

Le terapie immunoricostrucenti sono altamente efficaci nel trattamento della SM e il loro vantaggio rispetto ai trattamenti immunomodulanti/immunosoppressori è di indurre un *reset* del sistema immunitario con il ripristino di una condizione di *self-tolerance* e un cambiamento del repertorio linfocitario.

Tali meccanismi sono alla base dell'effetto prolungato e anche del loro minor rischio di eventi avversi a lungo termine, tipici di una prolungata e persistente immunosoppressione. Infine, la somministrazione per pochi e brevi cicli garantisce un'elevata aderenza ed una più elevata qualità di vita per i pazienti ■

Bibliografia

1. Bar-Or A. Multiple sclerosis and related disorders: evolving pathophysiologic insights. *Lancet Neurol.* 2016;15(1):9-11.
2. Wucherpfennig KW, Strominger JL. Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell.* 1995;80(5):695-705.
3. Danikowski KM, Jayaraman S, Prabhakar BS. Regulatory T cells in multiple sclerosis and myasthenia gravis. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):117.
4. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med.* 2007;13(10):1173-5.
5. Quintana FJ, Patel B, Yeste A, et al; Canadian Pediatric Demyelinating Disease Network. Epitope spreading as an early pathogenic event in pediatric multiple sclerosis. *Neurology.* 2014;83(24):2219-26.

6. Wekerle H. B cells in multiple sclerosis. *Autoimmunity*. 2017;50(1):57-60.
7. Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, et al. Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 2004; 14(2):164-74.
8. Muraro PA, Martin R, Mancardi GL, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation for treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2017; 13(7):391-405.
9. Burt RK, Loh Y, Cohen B, et al. Autologous non-myeloablative haemopoietic stem cell transplantation in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase I/II study. *Lancet Neurol*. 2009; 8(3):244-53.
10. Mancardi GL, Sormani MP, Di Gioia M, et al; Italian BMT Study Group. Autologous haematopoietic stem cell transplantation with an intermediate intensity conditioning regimen in multiple sclerosis: the Italian multi-centre experience. *Mult Scler*. 2012;18(6):835-42.
11. Atkins HL, Bowman M, Allan D, et al. Immunoablation and autologous haemopoietic stem-cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: a multicentre single-group phase 2 trial. *Lancet*. 2016;388(10044):576-85.
12. Mancardi GL, Sormani MP, Gualandi F, et al; TIMS Haemato-Neurological Collaborative Group, On behalf of the Autoimmune Disease Working Party (ADWP) of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT); ASTIMS Haemato-Neurological Collaborative Group On behalf of the Autoimmune Disease Working Party ADWP of the European Group for Blood and Marrow Transplantation EBMT. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: a phase II trial. *Neurology*. 2015; 84(10):981-8.
13. Sormani MP, Muraro PA, Schiavetti I, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Neurology*. 2017;88(22):2115-2122.
14. Muraro PA, Pasquini M, Atkins HL, et al; Multiple Sclerosis-Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation (MS-AHSCT) Long-term Outcomes Study Group. Long-term outcomes after autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2017;74(4):459-469.
15. Burt RK, Balabanov R, Burman J, et al. Effect of nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation vs continued disease-modifying therapy on disease progression in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. A randomized clinical trial. *JAMA*. 2019;321(2):165-174.
16. Massey JC, Sutton IJ, MA DDF, Moore JJ. Regenerating immunotolerance in multiple sclerosis with autologous stem cell transplant. *Front Immunol*. 2018; 9:410.
17. Muraro PA, Douek DC, Packer A, et al. Thymic output generates a new and diverse TCR repertoire after autologous stem cell transplantation in multiple sclerosis patients. *J Exp Med*. 2005;201(5):805-16.
18. Muraro PA, Douek DC. Renewing the T cell repertoire to arrest autoimmune aggression. *Trends Immunol*. 2006;27(2):61-7.
19. Muraro PA, Robins H, Malhotra S, et al. T cell repertoire following autologous stem cell transplantation for multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2014;124(3):1168-72.
20. Abrahamsson SV, Angelini DF, Dubinsky AN, et al. Non-myeloablative autologous haematopoietic stem cell transplantation expands regulatory cells and depletes IL-17 producing mucosal-associated invariant T cells in multiple sclerosis. *Brain*. 2013;136(Pt 9):2888-903.
21. De Mercanti S, Rolla S, Cucci A, et al. Alemtuzumab long-term immunologic effect: Treg suppressor function increases up to 24 months. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2016;3(1):e194.
22. Arruda LCM, Malmegrim KCR, Lima-Junior JR, et al. Immune rebound associates with a favorable clinical response to autologous HSCT in systemic sclerosis patients. *Blood Adv*. 2018;2(2):126-141.
23. Darlington PJ, Touil T, Doucet JS, et al; Canadian MS/BMT Study Group. Diminished Th17 (not Th1) responses underlie multiple sclerosis disease abrogation after hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Neurol*. 2013; 73(3):341-54.
24. Arruda LLJ, Sousa A, Zanette D, et al. Autologous hematopoietic SCT normalizes miR-16, -155 and -142-3p expression in multiple sclerosis patients. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(3): 380-9.
25. Coles AJ, Cohen JA, Fox EJ, et al; CARE-MS II and CAMMS03409 Investigators. Alemtuzumab CARE-MS II 5-year follow-up: Efficacy and safety findings. *Neurology*. 2017;89(11):1117-1126.
26. Havrdova E, Arnold DL, Cohen JA, et al; CARE-MS I and CAMMS03409 Investigators. Alemtuzumab CARE-MS I 5-year follow-up: Durable efficacy in the absence of continuous MS therapy. *Neurology*. 2017;89(11):1107-1116.
27. Baker D, Herrod SS, Alvarez-Gonzalez C, Giovannoni G, Schmierer K. Interpreting lymphocyte reconstitution data from the pivotal phase 3 trials of alemtuzumab. *JAMA Neurol*. 2017;74(8):961-969.
28. Hill-Cawthorne GA, Button T, Tuohy O, et al. Long-term lymphocyte reconstitution after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83(3):298-304.
29. Zhang X, Tao Y, Chopra M, et al. Differential reconstitution of T cell subsets following immunodepleting treatment with alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Immunol*. 2013;191(12):5867-74.
30. Pant AB, Wang Y, Mielcarz DW, et al. Alteration of CD39+Foxp3+ CD4 T cell and cytokine levels in EAE/MS following anti-CD52 treatment. *J Neuroimmunol*. 2017;303:22-30.
31. Thompson SA, Jones JL, Cox AL, et al. B-cell reconstitution and BAFF after alemtuzumab (Campath-1H) treatment of multiple sclerosis. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):99-105.
32. Jones JL, Thompson SA, Loh P, et al. Human autoimmunity after lymphocyte depletion is caused by homeostatic T-cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(50):20200-5.
33. Rezvany MR, Tehrani MJ, Karlsson C, et al. Reconstitution of the T-cell repertoire following treatment with alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2006;135(4):475-85.
34. Giovannoni G, Comi G, Cook S, et al; CLARITY Study Group. A placebo-controlled trial of oral cladribine for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2010;362(5):416-26.
35. Baker D, Herrod SS, Alvarez-Gonzalez C, et al. Both cladribine and alemtuzumab may effect MS via B-cell depletion. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2017;4(4):e360.