

Sistema immunitario e sclerosi multipla

Laura Ghezzi

UOSD Malattie Degenerative, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico di Milano

Introduzione

La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria del sistema nervoso centrale (SNC) a eziologia autoimmunitaria. Le persone affette da SM sono circa 2.3 milioni nel mondo, soprattutto giovani adulti tra i 20 e i 40 anni ⁽¹⁾. Il ruolo fondamentale del sistema immunitario nella patogenesi della malattia è reso evidente sia dai dati epidemiologici, sia dai risultati di *trials* terapeutici che hanno impiegato farmaci attivi su diversi fronti del sistema immunitario stesso. È noto come la SM sia una patologia multifattoriale, al cui sviluppo contribuiscono fattori ambientali e genetici. Non si tratta di una malattia monogenica, ma piuttosto di una patologia in cui diverse varianti genetiche possono contribuire ad aumentare il rischio individuale. Tra queste, l'allele DRB1*1501 del gene HLA di classe II, è il più noto fattore di rischio per lo sviluppo della patologia (OR 3.1) ⁽²⁾. Altre varianti genetiche meno note comprendono i geni che codificano per la catena α del recettore dell'IL2 (IL2RA) e per il recettore dell'IL7 (IL7R) ⁽³⁾. Tra i fattori ambientali che influenzano la suscettibilità

allo sviluppo di malattia, i più noti sono sicuramente la pregressa infezione da EBV ⁽⁴⁾ e ridotti livelli sierici di vitamina D ⁽⁵⁾. Dal punto di vista istopatologico è stato dimostrato come le lesioni demielinizzanti attive siano caratterizzate da un infiltrato linfomonocitario composto da cellule appartenenti sia al sistema immunitario innato, sia al sistema immunitario adattativo (linfociti T e B, plasmacellule, cellule dendritiche) ⁽⁶⁾. Inoltre, la presenza di macrofagi e di cellule della microglia attivata è stata documentata da studi più recenti di immunohistologia ⁽⁷⁾.

Sistema immunitario innato

Il ruolo del sistema immunitario innato nella patogenesi della SM è stato indagato meno rispetto a quello adattativo, in quanto fino a qualche anno fa ritenuto di non primaria importanza. Recentemente, è stato invece dimostrato, come la microglia e i macrofagi derivati dai monociti circolanti rivestano un ruolo fondamentale nella determinazione del danno mielinico. I fagociti mononucleari sono la popolazione più rappresentata

all'interno delle lesioni demielinizzanti e sono coinvolti nella determinazione del danno infiammatorio sia direttamente, sia tramite l'interazione con il sistema adattativo ⁽⁶⁾. Le cellule fagocitiche, inoltre, non determinano solo danno mielinico ma anche quello assonale e sono spesso descritte adese agli assoni danneggiati ⁽⁸⁾. Nonostante ciò, è stato anche dimostrato come queste cellule rivestano un ruolo importante anche nei meccanismi di riparazione delle membrane mieliniche ⁽⁹⁾. Sia per i macrofagi derivati da monociti periferici, sia per la microglia, sono stati descritti due possibili fenotipi di attivazione: un fenotipo pro-infiammatorio (M1) e un fenotipo "alternativo" (M2) con un ruolo preponderante nei processi di riparazione. I fattori che influenzano la polarizzazione delle cellule fagocitiche comprendono: fattori solubili, interazioni cellula-cellula e l'internalizzazione della mielina ⁽¹⁰⁾. Citochine pro-infiammatorie (IFN γ , GM-CSF e TNF α) e immunoregolarie (IL-10, IL-4 e IL-13), di cui il SNC e il liquor dei pazienti affetti da SM sono ricchi, possono influenzare la polarizzazione in sen-

so M1 o M2 in diverse fasi di malattia. Dopo aver fagocitato i detriti di mielina, è stato dimostrato che i fagociti acquisiscono un fenotipo meno pro-infiammatorio⁽¹¹⁾. Infine, neuroni e cellule gliali esprimono sulla loro superficie numerose molecole che, dopo aver legato gli specifici recettori sui fagociti ne inibiscono l'attività⁽¹²⁾.

Sistema immunitario adattativo

Linfociti CD4+

Le evidenze che supportano un coinvolgimento del sistema immunitario adattativo nella patogenesi della SM vengono sia dai modelli sperimentali, sia dall'efficacia dei *trials* che hanno impiegato farmaci diretti contro diverse cellule specifiche di questa branca del sistema immunitario.

L'ipotesi più accreditata sostiene che il danno mielinico sia iniziato da cellule CD4+ effettrici che migrano nel SNC e danno luogo all'infiammazione⁽¹³⁾. Nel SNC i linfociti T CD4+ autoreattivi reclutano altre cellule dell'immunità adattativa e innata, causando danno mielinico e assonale con conseguenti sintomi neurologici. Le lesioni caratteristiche della SM contengono cellule CD4+ negli strati più profondi e cellule CD8+ in periferia⁽¹⁴⁾. Queste ultime diventano la popolazione cellulare prevalente con la progressione della lesione, e ciò spiega perché i pazienti sottoposti a deplezione delle cellule CD4+ non hanno tratto alcun beneficio clinico⁽¹⁵⁾. Un'altra spiegazione di questo fallimento potrebbe risiedere nel fatto che un trattamento anti-CD4+ azzerava anche le cellule *Treg* fondamentali per lo spegnimento e l'equilibrio della risposta immunitaria. Le cellule CD4+ possono produrre IL-17, IFN γ , il cui aumento è associato con la SM⁽¹⁶⁾. Esiste una sottopopolazione di linfociti CD4+ con funzione regolatoria sulle cellule effettrici dell'immunità innata. Sono state descritte

almeno due popolazioni di cellule T regolatrici (*Treg*): le cellule T che esprimono il fattore di trascrizione FOXP3 (*Treg*) che inibiscono la proliferazione *in vitro* delle cellule effettrici attraverso il contatto cellula-cellula⁽¹⁷⁾ e le cellule Tr1 che inibiscono la proliferazione tramite la produzione di IL-10⁽¹⁸⁾. Le cellule *Treg* inibiscono le cellule T effettrici in modo specifico; pertanto, sono in grado di riconoscere le cellule autoreattive e mantenere sotto controllo eventuali reazioni autoimmuni. Nei pazienti affetti da SM è stata descritta una minore capacità soppressiva delle cellule *Treg*, che potrebbe essere sia concausa della patologia, sia conseguenza dell'ambiente infiammatorio⁽¹⁹⁾. Le cellule Tr1 sono state descritte più recentemente ed il loro ruolo non è stato ancora completamente chiarito. È stato, tuttavia, dimostrato che le cellule Tr1 di pazienti affetti da SM producono meno IL-10 rispetto a quelle ottenute da controlli sani⁽²⁰⁾.

Linfociti CD8+

Le cellule CD8+ sembrerebbero svolgere un altro ruolo fondamentale nello sviluppo delle lesioni tipiche della SM. Le cellule T CD8+ rappresentano la maggior parte delle cellule T visualizzabili nell'infiltrato perivascolare e ai margini delle lesioni⁽²¹⁾. Inoltre, le cellule CD8+ sono state descritte nelle placche corticali della sostanza grigia e presentano espansione oligoclonale⁽²²⁾, compatibile con una risposta specifica ad antigeni del SNC. Sono state anche identificate nuove popolazioni di cellule CD8+ che potrebbero svolgere un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'infiammazione a livello del SNC; ne sono un esempio i linfociti CD8+ che esprimono l'antigene di superficie CD161, identificabili con i linfociti T invariati associati alle mucose e con caratteristiche a cavallo tra l'immunità innata e quella adattativa. Sono in grado di produrre citochine tipiche delle

cellule dell'immunità innata, come IL-17 e IFN γ , possono svolgere attività citotossica, ma presentano un TCR semi-invariante, con una variabilità antigenica limitata.

Linfociti B

Nonostante la SM sia considerata una patologia mediata dai linfociti T, l'efficacia di terapia anti-B (ad esempio, rituximab) dimostra come anche queste cellule possano svolgere un ruolo centrale nell'immunopatogenesi della malattia. Cellule B espanse clonalmente sono state identificate sia nel parenchima cerebrale, sia nelle le meningi dei pazienti affetti da SM⁽²³⁾. È stato dimostrato come le cellule B possano passare la barriera ematoencefalica e penetrare nel SNC, dove formano delle strutture simili ai follicoli dei linfonodi nelle meningi, chiamate follicoli B. Questi follicoli sono stati descritti per la prima volta nei pazienti progressivi, adiacenti alle lesioni della sostanza grigia⁽²⁴⁾. Inoltre, nei pazienti affetti da SM le cellule B mostrano dei *pattern* anomali di attivazione e proliferazione quando confrontate con quelle di controlli sani⁽²⁵⁾. Come per i linfociti T, è stata dimostrata l'esistenza di una sottopopolazione di linfociti B con funzioni regolatorie. Queste cellule, chiamate *Breg*, sono state identificate come cellule produttrici IL-10 ed in grado di sopprimere l'attivazione di cellule B effettrici. Non è chiaro il loro ruolo nei pazienti affetti da SM, né se presentino alterazioni numeriche o funzionali in corso di malattia.

Microbioma

Il microbioma umano comprende miliardi di microrganismi, alcuni esclusivi per un determinato individuo, altri conservati trasversalmente all'interno di una stessa specie e, nel caso dell'uomo, di una stessa razza. È stato dimostrato come la composizione del microbioma influenzi l'equilibrio del sistema immunitario e lo

sviluppo di malattie autoimmuni; i topi mantenuti in ambiente *germ-free* sono protetti dallo sviluppo di encefalite autoimmune sperimentale (EAE) ⁽²⁶⁾.

Nei pazienti affetti da SM sono state descritte numerose alterazioni nella composizione del microbioma rispetto a controlli sani; in particolare, i batteri appartenenti al genere *Butyrivibrio* risultano meno rappresentati, mentre quelli appartenenti alle specie *Methanobrevibacter* e *Akkermansia* risultano più rappresentati ⁽²⁷⁾. Infine, è stato recentemente dimostrato che sostanze prodotte dal microbioma, possono raggiungere il

SNC e modulare direttamente l'infiammazione e la neurodegenerazione ⁽²⁸⁾. La possibilità di manipolare la composizione del microbioma influenza l'equilibrio del sistema immunitario nei pazienti affetti da SM e altre patologie autoimmuni ed è estremamente affascinante. Nel modello animale di SM è stato dimostrato come un'alterazione del regime alimentare tramite restrizione calorica o digiuno intermittente sia in grado di alterare la composizione del microbioma e mitigare l'andamento clinico della patologia infiammatoria del SNC ⁽²⁹⁾. Nei topi sottoposti ad un regime di di-

giuno intermittente è stata documentata una riduzione di linfociti Th17 e un aumento di *Treg* nella lamina propria intestinale ⁽²⁹⁾. Nei pazienti sottoposti ad un regime di digiuno intermittente è stata, inoltre, osservata una riduzione del numero assoluto di linfociti CD4+ e una maggiore attività soppressiva da parte delle cellule *Treg* sulle CD4+ nei saggi *in vitro* ⁽²⁹⁾. L'effetto sembrerebbe mediato da un'alterazione nella composizione del microbioma, verso una maggior rappresentazione di batteri produttori di acidi grassi a catena corta, noti per avere un effetto anti-infiammatorio sistemico ⁽²⁹⁾ ■

Bibliografia

1. Atlas of MS, www.msif.org.
2. Sawcer S, Ban M, Marianan M, et al; International Multiple Sclerosis Genetic Consortium. A high-density screen for linkage in multiple sclerosis. *Am J Hum Genet.* 2005;77(3):454-67.
3. International Multiple Sclerosis Genetic Consortium Hafler DA, Compston A, et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome wide study. *N Engl J Med.* 2007;357(9):851-62.
4. Levin LI, Munger KL, O'Reilly EJ, et al. A Primary infection with the Epstein-Barr virus and risk of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010;67(6):824-30.
5. Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2010;9(6):599-612.
6. Henderson AP, Barnett MH, Parratt JD, Prineas JW. Multiple sclerosis: distribution of inflammatory cells in newly forming lesions. *Ann Neurol.* 2009; 66(6):739-53.
7. Butovsky O, Jedrychowski MP, Moore CS, et al. Identification of a unique TGF- β -dependent molecular and functional signature in microglia. *Nat Neurosci.* 2014;17(1):131-43.
8. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 1998;338(5):278-85.
9. Shechter R, London A, Varol C, et al. Infiltrating blood-derived macrophages are vital cells playing an anti-inflammatory role in recovery from spinal cord injury in mice. *PLoS Med.* 2009;6(7):e1000113.
10. Stout RD, Jiang C, Matta B, et al. Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. *J Immunol.* 2005;175(1):342-9.
11. Bogie JF, Stinissen P, Hellings N, Hendriks JJ. Myelin phagocytosing macrophages modulate autoreactive T cell proliferation. *J Neuroinflammation.* 2011;8:85.
12. Koning N, Bö L, Hoek RM, Huitinga I. Down-regulation of macrophage inhibitory molecules in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol.* 2007;62(5):504-14.
13. Malpass K. Multiple sclerosis: "Outside-in" demyelination in MS. *Nat Rev Neurol.* 2012;8(2):61.
14. Hauser DA, Bhan AK, Gilles F, et al. Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol.* 1986;19(6):578-87.
15. van Oosten BW, Lai M, Hodgkinson S, et al. Treatment of multiple sclerosis with the monoclonal anti-CD4 antibody cMT412: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, MR-monitored phase II trial. *Neurology.* 1997;49(2):351-7.
16. Lock C, Hermans G, Pedotti R, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med.* 2002;8(5):500-8.
17. Lu LF, Rudensky A. Molecular orchestration of differentiation and function of regulatory T cells. *Genes Dev.* 2009;23(11):1270-82.
18. Gregori S, Goudy KS, Roncarolo MG. The cellular and molecular mechanisms of immune-suppression by human type 1 regulatory T cells. *Front Immunol.* 2012;3:30.
19. Costantino CM, Baecher-Allan CM, Hafler DA. Human regulatory T cells and autoimmunity. *Eur J Immunol.* 2008;38(4):921-4.
20. Astier AL, Meiffren G, Freeman S, Hafler DA. Alterations in CD46-mediated Tr1 regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Clin Invest.* 2006;116(2):3252-7.
21. Traugott U, Reinherz EL, Raine CS. Multiple sclerosis. Distribution of T cells, T cell subsets and Ia-positive macrophages in lesions of different ages. *J Neuroimmunol.* 1983;4(3):201-21.
22. Jacobsen M, Cepok S, Quak E, et al. Oligoclonal expansion of memory CD8+ T cells in cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. *Brain.* 2002;125(Pt 3):538-50.
23. Lovato L, Willi SN, Rodig SJ, et al. Related B cell clones populate the meninges and parenchyma of patients with multiple sclerosis. *Brain.* 2011;134(Pt 2):534-41.
24. Cross AH, Stark JL, Lauber J, et al. Rituximab reduces B cells and T cells in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 2006;180(1-2):63-70.
25. Kinnunen T, Chamberlain N, Murbach H, et al. Specific peripheral B cell tolerance defects in patients with multiple sclerosis. *J Clin Invest.* 2013;123(6):2737-41.
26. Berer K, Mues M, Koutrolos M, et al. Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Nature.* 2011;479(7374):538-41.
27. Jangi S, Gandhi R, Cox LM, et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun.* 2016;7:12015.
28. Rothhammer V, Mascarfoni ID, Bunsle L, et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med.* 2016;22(6):586-97.
29. Cignarella F, Cantoni C, Ghezzi L, Salter A, Dorsett Y, Chen L, Phillips D, Weinstock GM, Fontana L, Cross AH, Zhou Y, Piccio L. Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota. *Cell Metab.* 2018;27(6):1222-1235.e6.