

Abl-tyrosinkinaser och multipel skleros



Av Åsa Andersson,
docent,
Rydbergslaboratoriet för tillämpad naturvetenskap,
Akademien för ekonomi, teknik och naturvetenskap,
Högskolan i Halmstad, och Inst. for Lægemiddeldesign
og Farmakologi, Københavns Universitet,
Danmark

Multipel skleros (MS) är en inflammatorisk och neurodegenerativ sjukdom som kan leda till ett flertal neurologiska symtom och funktionsnedsättningar. De bakomliggande orsakerna är inte helt kända, men liksom i andra sjukdomar vars progression beror på bland annat autoimmunitet och kronisk inflammation bidrar både ärftlighet och miljöfaktorer till att människor drabbas av MS.

En experimentell modell för MS

För att studera patogenesen bakom MS används ofta modellen experimentell autoimmun encefalomyelit (EAE). En MS-liknande sjukdom induceras i möss eller råttor genom immunisering med myelinantigen i form av helt protein eller som peptider, och graden av klinisk påverkan hos djuren mäts med ett speciellt scoringsystem. EAE-modellen har kritiserats för att inte motsvara den heterogenitet som ses vid MS-patogenes, men trots sina begränsningar har modellen bidragit till kunskap om sjukdomsmekanismer och läkemedelsutveckling.

EAE kan inte induceras i alla musstammar, det vill säga att efter immunisering kan inte alla musstammar utveckla ett immunsvär mot myelinantigenerna så att det leder till klinisk sjukdom. Detta är beroende av den genetiska uppsättningen hos en inavlad musstam. Många studier har visat att det, precis som vid MS, är många gener som bidrar till i vilken grad möss från en speciell musstam utvecklar EAE. Efter immunisering med myelinantigen visar sig neurologiska sjukdomssymtom efter cirka 14 dagar.

Abl2-tyrosinkinas

Med syftet att få inblick i vilka gener, och därmed proteiner, som är viktiga för MS-patogenes har vi ingående studerat kandidatgener involverade i utvecklingen av EAE. En av de kandidatgener som vi har studerat i mus är Abl2, även kallad Arg (Abelson-related gene). Abl2 tillhör, tillsammans med Abl1, familjen Abl-tyrosinkinaser.¹

Generna för Abl1 och Abl2 kommer från samma ursprungliga gen, men är lokaliseraade på olika kromosomer. Abl1- och Abl2-generna kodar för så kallade icke-receptortyrosinkinaser. Kinaserna reglerar intracellulära skeenden genom att fosforylera andra proteiner i signaleringskaskader som slutligen leder till omorganisation av cytoskelettet, cellmigration, morfogenes, adhesion och endocytos² samt även överlevnad av celler och celldelning.³

En reciprok kromosomal translokation, vilken formar Philadelphia-kromosomen som ger upphov till ett så kallat breakpoint cluster region(Bcr)-Abl-protein, finns hos de flesta patienter med kronisk myeloisk leukemi (KML). Abl-kinaserna är också viktiga för signalering via T- och B-lymfocytreceptorer och spelar därmed en viktig roll i immunsvaret.^{4,5}

Abl2 som kandidatgen för EAE

I en artikel i Journal of Neuroimmune Pharmacology⁶ visar vi att möss som skiljer sig genetiskt i endast ett mycket litet område på musens kromosom 1 uppvisar olika utveckling av klinisk EAE efter immunisering



med en peptid av basalt myelinprotein (MBP). I det variabla genetiska området ligger bland annat genen som kodar för Abl2.

Flera faktorer pekar på att Abl2 är en kandidatgen som bidrar till genetisk predisposition för EAE: a) Skillnaden i det kliniska svaret efter immunisering av myelinpeptid i möss som är genetiskt olika i området för Abl2-genen. Skillnaden i EAE-utveckling är inte minst beroende av T-lymfocytaktivering, där Abl2 spelar roll; b) In vitro-aktivering av T- och B-lymfocyter från möss med genetiska variationer i Abl2 visar på skillnader i grad av aktivering; c) I genen för Abl2 finns en nukleotidpolymorfism som ger upphov till en ändring i aminosyrasekvensen. Den förändrade aminosyran ligger nära en F-aktinbindande domän i Abl2-proteinet. I artikeln visar vi att aminosyraändringen inte spelar roll för Abl2-proteinets bindning till aktin, men skulle kunna påverka proteinets funktion på annat sätt.

Farmakologisk intervention med imatinib

För att undersöka om farmakologisk hämning av Abl-kinaserna kan påverka utveckling av EAE behandlade vi möss som blivit immuniserade med MBP-peptid med imatinibmesilat (Novartis),⁷ 100 mg/kg, peroralt via sond två gånger dagligen under 30 dagar.

Resultatet från experimentet visade att möss som behandlats med imatinib inte utvecklade EAE under de första 25 dagarna. Detta till skillnad från kontrollmöss som behandlats med vatten på samma sätt och som började utveckla EAE 16 dagar efter immunise-

ring. Efter 25 dagars behandling började möss som fått imatinib utveckla EAE, vilket skulle kunna bero på förvärvad resistens mot imatinib genom mutationer i Abl. Resistens mot imatinib, speciellt vid förekomst av mutationen T315I i kinasdomänen av enzymet, är relativt vanligt hos patienter med KML.⁸ Förvärvad resistens mot imatinib undersöktes inte vidare i den aktuella studien, men observationen tyder på att EAE-modellen skulle kunna användas för studier av resistens mot farmakologiska tyrosinkinashämmare.

För att undersöka om imatinib har en inflammationshämmande effekt också i en annan autoimmun och inflammatorisk sjukdom behandlades möss, inducerade att utveckla kronisk artrit, med imatinib. I denna modell, kollageninduceras artrit (collagen-induced arthritis, CIA), kan vissa musstammar immuniseras med heterologt typ 2-kollagen (från bovint brosk), varefter de utvecklar inflammation i tarsal- och tåledder följt av brosk- och bennedbrytning samt efterföljande benbyggnad och deformering av leder. Möss som immuniseras med kollagen behandlades med imatinib två gånger om dagen i 50 dagar. Till skillnad från i EAE-studien visade inte behandlingen med imatinib någon signifikant hämmande effekt på utveckling av artrit i denna modell.

Andra tyrosinkinashämmare

Vår studie visar att tyrosinkinaset Abl2 sannolikt är viktigt för patogenesen i EAE och kanske också för MS. Studien sätter också fingret på möjligheten att imatinib och andra tyrosinkinashämmare skulle kunna användas för läkemedelsbehandling vid MS. För närvarande pågår kliniska tester med imatinib för →

behandling av MS (<https://clinicaltrials.gov>; <https://www.clinicaltrialsregister.eu/>).

Med målet att utveckla nya små molekyler för behandling av KML som kan kringgå uppkomna mutationer och resistens mot imatinib har en andra generationens tyrosinkinashämmare blivit godkända för kliniskt bruk.⁹ Från våra resultat med Abl2 som en potentiell kandidatgen i EAE, samt effekten av behandling med imatinib i EAE-modellen, kan de nya hämmarna anses vara potentiella läkemedelskandidater för MS.

Nya tyrosinkinashämmare, såsom dasatinib, bosutinib och nilotinib, är både mer potenta inhibitorer och mer specifika för Abl2. Dasatinib har testats för behandling av EAE och sågs ha en hämmande effekt i den initiala fasen av EAE-utvecklingen.¹⁰ De andra molekylerna har ännu inte testats i EAE-modellen.

En tredje generationens tyrosinkinashämmare är ponatinib. Denna molekyl är syntetiserad för att fungera även vid T315I-mutationen och har visat sig vara effektiv hos leukemipatienter med resistens mot andra inhibitorer. Ponatinib är specifik både för Abl-kinaserna och tyrosinkinaset Src. Ytterligare molekyler, som ännu inte används för behandling av leukemi i

kliniken, existerar och kan vara potentiella läkemedel för MS och eventuellt också för andra inflammatoriska sjukdomar i framtiden. ■

SLUTSATS

I denna studie har vi undersökt om tyrosinkinaset Abl2 bidrar till EAE. Resultaten visar att möss med genetiska skillnader i Abl2-genen uppvisar skillnad i utveckling av EAE och i aktivering av lymfocyter. Studien visar också att behandling med tyrosinkinashämmaren imatinib hämmar EAE-progressi-
on. Resultaten tyder på att tyrosinkinashämmare skulle kunna användas för behandling av MS, men flera studier med olika typer av inhibitorer behövs för att klärlegga detta.

Intressekonflikter: Författaren har inga intressekonflikter.

Referenser

1. Khatri A, Wang J, Pendergast AM. Multifunctional Abl kinases in health and disease. *J Cell Sci* 2016;129(1):9-16.
2. Bradley WD, Koleske AJ. Regulation of cell migration and morphogenesis by Abl-family kinases: emerging mechanisms and physiological contexts. *Journal of Cell Science* 2009;122(19):3441-3454.
3. Sirvent A, Benistant C, Roche S. Cytoplasmic signalling by the c-Abl tyrosine kinase in normal and cancer cells. *Biol Cell* 2008;100(11):617-631.
4. Zipfel PA, Grove M, Blackburn K, Fujimoto M, Tedder TF, Pendergast AM. The c-Abl tyrosine kinase is regulated downstream of the B cell antigen receptor and interacts with CD19. *Journal of Immunology* 2000;165(12):6872-6879.
5. Gu JJ, Zhang N, He YW, Koleske AJ, Pendergast AM. Defective T cell development and function in the absence of Abelson kinases. *Journal of Immunology* 2007;179(11):7334-7343.
6. Jacobsen FA, Scherer AN, Mouritsen J, Bragadottir H, Thomas Backstrom B, Sardar S, Holmberg D, Koleske AJ, Andersson Å. A Role for the Non-Receptor Tyrosine Kinase Abl2/Arg in Experimental Neuroinflammation. *J Neuroimmune Pharmacol* 2018;13(2):265-276.
7. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996;2(5):561-566.
8. Nicolini FE, Mauro MJ, Martinelli G, Kim DW, Soverini S, Muller MC, Hochhaus A, Cortes J, Chuah C, Dufva IH, Apperley JF, Yagasaki F, Pearson JD, Peter S, Sanz Rodriguez C, Preudhomme C, Giles F, Goldman JM, Zhou W. Epidemiologic study on survival of chronic myeloid leukemia and Ph(+) acute lymphoblastic leukemia patients with BCR-ABL T315I mutation. *Blood* 2009;114(26):5271-5278.
9. Rossari F, Minutolo F, Orciuolo E. Past, present, and future of Bcr-Abl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. *J Hematol Oncol* 2018;11(1):84.
10. Azizi G, Goudarzvand M, Afraei S, Sedaghat R, Mirshafiey A. Therapeutic effects of dasatinib in mouse model of multiple sclerosis. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2015;37(3):287-294.