

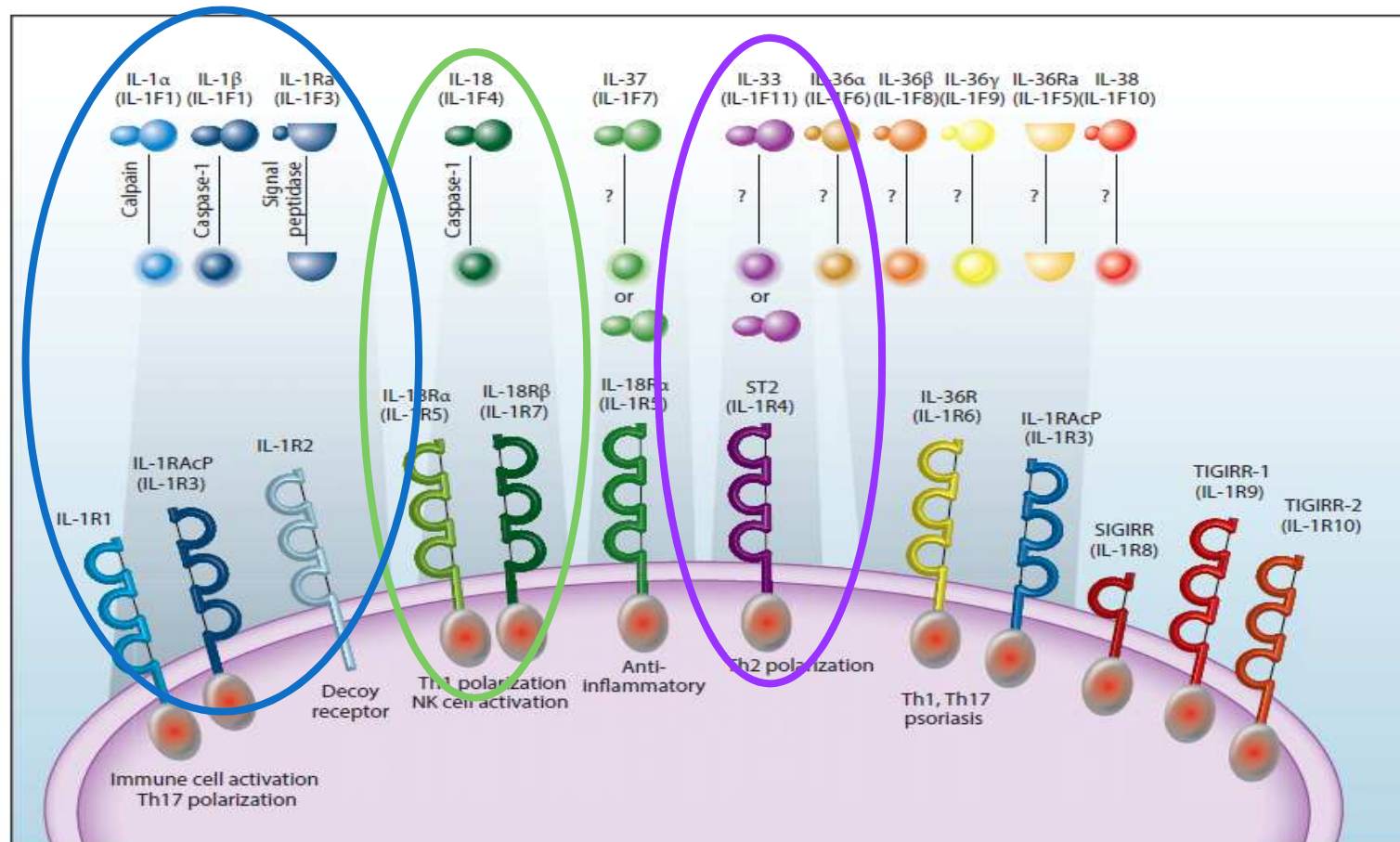


# LA FAMIGLIA DELLE CITOCHINE IL-1 NEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

F. Angelotti, P. Italiani, M.L. Manca, D. Melillo, F.  
Pratesi, I. Puxeddu, D. Boraschi, P. Migliorini

# PREMESSE

- Il LES è una malattia autoimmune caratterizzata dalla produzione di una varietà di autoanticorpi diretti contro molecole altamente conservate, localizzate principalmente ma non esclusivamente a livello nucleare.
- Una mancata regolazione della produzione di una serie di citochine, incluse quelle della famiglia IL-1, orchestra l'attivazione immunitaria nel LES.



## IL-1 $\alpha$

- segnale di localizzazione nucleare → fattore di regolazione della trascrizione.
- Il precursore è già attivo e può essere rilasciato in ambiente extracellulare in seguito a morte cellulare (*alarmina*)
- La processazione Calpaina II-mediata del precursore ne aumenta l'attività (amplificazione).

## IL-1 $\beta$

- Citochina altamente infiammatoria,
- Virtualmente indosabile in circolo nei soggetti normali
- Monociti / macrofagi e cellule dendritiche;
- Precursore inattivo
  - Vie *inflammosoma-dipendenti*: prevalenti nelle fasi croniche dell'infiammazione
  - Vie *inflammosoma-indipendenti* (proteasi di PMN e Microorganismi): prevalenti nelle fasi acute dell'infiammazione

## IL-1 $\alpha$ / IL-1 $\beta$ E LORO REGOLATORI

- La via di segnalazione di IL-1 coinvolge **IL-1R1**, che lega IL-1 $\beta$ / $\alpha$  e recluta la catena accessoria **IL-1R3** (IL-1RAcP)
- L'attività di **IL-1 $\beta$**  e di **IL-1 $\alpha$**  è finemente regolata dall'espressione differenziale di un gruppo di recettori e d'inibitori solubili.



# IL-33

- segnale di localizzazione nucleare → fattore di regolazione della trascrizione.
- Pro-IL-33 è già attiva e può essere rilasciata in ambiente extracellulare in seguito a morte cellulare (*alarmina*)
- Pro-IL-33 può essere ulteriormente processata da proteasi di PMN e mastcellule con aumento della sua attività (amplificazione).

## IL-1R4 (ST2)

- Il signalling pathway IL-33/ST2 è coinvolto nell'infiammazione di tipo 2, nella riparazione tissutale (fibrosi), nell'infiammazione polmonare/mucosale.
- La forma solubile del recettore, **sIL-1R4 / sST2**, è un inibitore naturale di IL-33

Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. Liew FY et al: Nat Rev Immunol 2010.

New dog and new tricks: evolving roles for IL-33 in type 2 immunity. Lott JM et al.: J Leukoc Biol 2015.

Alternative splicing of interleukin-33 and type 2 inflammation in asthma. Gordon ED et al.: Proc Natl Acad Sci USA 2016



# IL-18

- Livelli sierici misurabili anche in soggetti normali
- Monociti / macrofagi e cellule dendritiche;
- Pro-IL-18 inattivo, necessita di clivaggio enzimatico (meccanismi simili a IL-1 $\beta$ );
- Polarizzazione Th1, attivazione NK.
- Regolata da **IL-18BP**
  - IL-18  $\rightarrow$  IFN- $\gamma$  (Th1, NK)  $\rightarrow$  IL-18BP

In condizioni patologiche caratterizzate da elevati livelli di IL-18, aumentano anche i livelli di IL-18BP nel tentativo di contrastare gli effetti infiammatori di IL-18  
(**feedback inibitorio**)

# IL-18 NEL LES

Citochina della famiglia IL-1 più studiata nel LES.

## ○ MRL *lpr* / *lpr*:

- up-regulation di IL-18 in tutti gli organi interessati (Esfandiari E. et al, J Immunol 2001; Bossù P. et al, Eur Cytokine Netw 2000; Faust J. et al, Arthritis Rheum 2002);
- esacerbazione di malattia renale dopo somministrazione intraperitoneale di IL-18 ricombinante (Esfandiari E. et al, J Immunol 2001);
- attenuazione di linfoproliferazione e nefrite ed aumento della sopravvivenza dopo inibizione *in vivo* di IL-18

(Bossù P. et al, Proc Natl Acad Sci USA 2003).

## ○ Nell'uomo:

- aumentata espressione glomerulare di IL-18: probabile ruolo nel guidare la migrazione delle DCs nel rene (Hu D. et al, Clin Rheumatol 2010; Tucci M. et al, Arthritis Rheum 2008);
- alti livelli sia di IL-18 che di IL-18BP, ma comunque livelli di IL-18 free aumentati, soprattutto nei pazienti con malattia attiva (Novick D. et al, J Autoimmun 2010; Migliorini P. et al, Eur Cytokine Netw 2010).



Il ruolo nel LES di altre citochine infiammatorie della famiglia IL-1 e della loro regolazione da parte dei recettori solubili è molto meno noto.

L'obiettivo del presente lavoro è quello d'identificare una possibile correlazione tra i livelli di citochine / recettori e le caratteristiche cliniche e sierologiche del LES.





# PAZIENTI E METODI

- **74 LES** –diagnosi secondo i criteri ACR riveduti (*Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: Arthritis Rheum 1997*).

Completa valutazione clinica e sierologica:

- ECLAM score (malattia attiva per ECLAM  $\geq 2.5$ ),
- C3 e C4 ,
- Ab anti-dsDNA (CLIF test ed EIA Calf-Thymus),
- Ab anti-C1q (test ELISA).

- **80 NHS** (paragonabili per sesso ed età)

## Caratteristiche Demografiche della popolazione LES

F : M	64 : 10
Età media (aa)	39.5 (30-50)
Durata media di malattia (aa)	10 (4-20)
Attività media di malattia (ECLAM)	1.75 (0-3.1)

## Manifestazioni Cliniche

Artralgia / Artrite	44%
Manifestazioni Ematologiche	34%
Manifestazioni Cutanee	23%
Nefrite Attiva	23%
Manifestazioni Neurologiche (SNC)	9%
Sierosite	5%

## Caratteristiche Sierologiche

Complemento	Bassi livelli di C3	63%
	Bassi livelli di C4	26%
Anti-DNA Ab	CLIF Test	46%
	ELISA	49%
Anti-C1q Ab		52%



# PAZIENTI E METODI

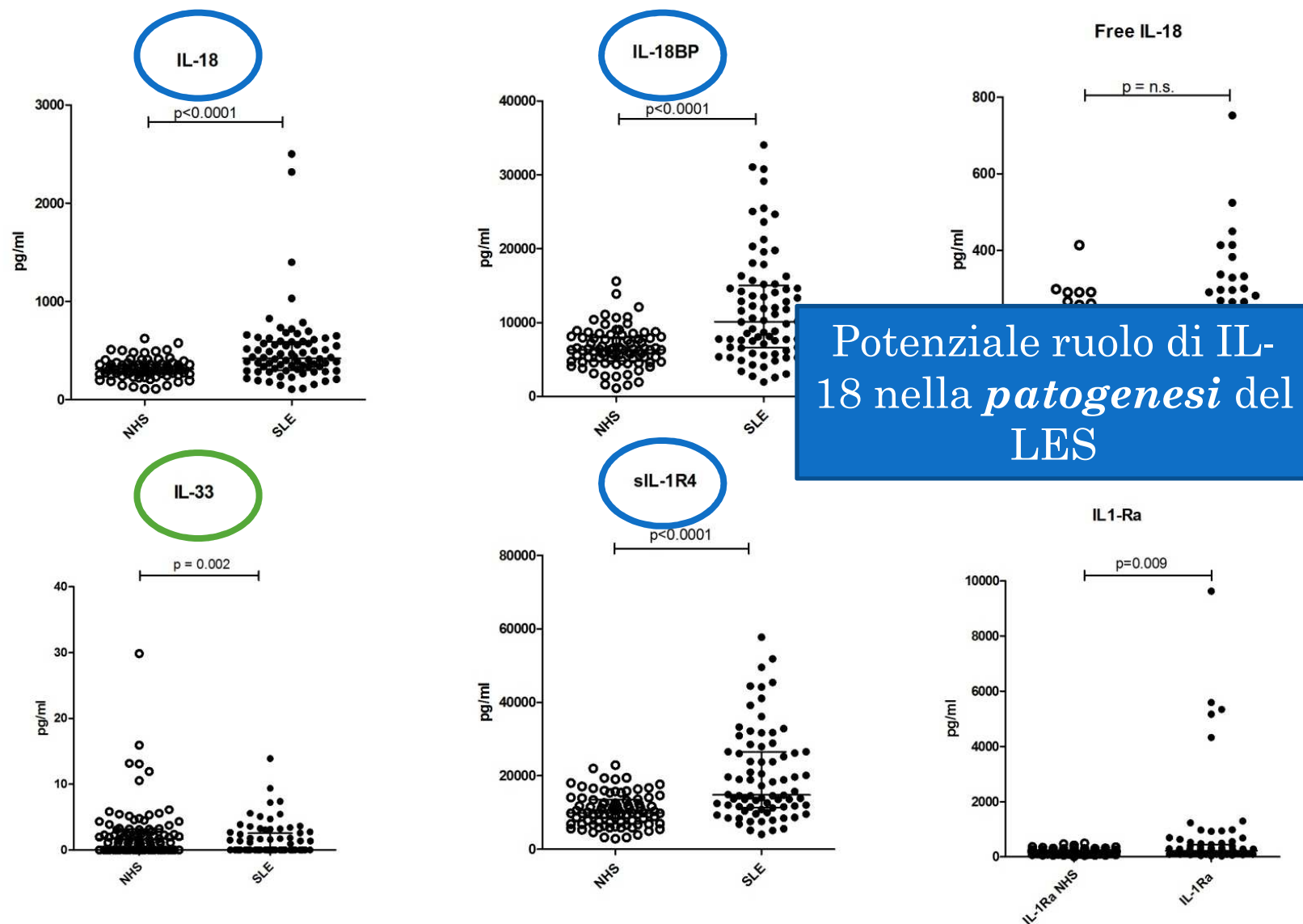
In entrambi i gruppi sono state dosate con test ELISA multiarray (Quansys Biosciences, Logan, UT)

- **Citochine** (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-33, IL-18),
- **Recettori solubili** (sIL-1R1, sIL-1R2, sIL-1R3, sIL-1R4/sST2),
- **Antagonisti** (IL-1Ra, IL-18BP)

IL-18 *free* è stata calcolata come quantità di IL-18 non inibita da IL-18BP.

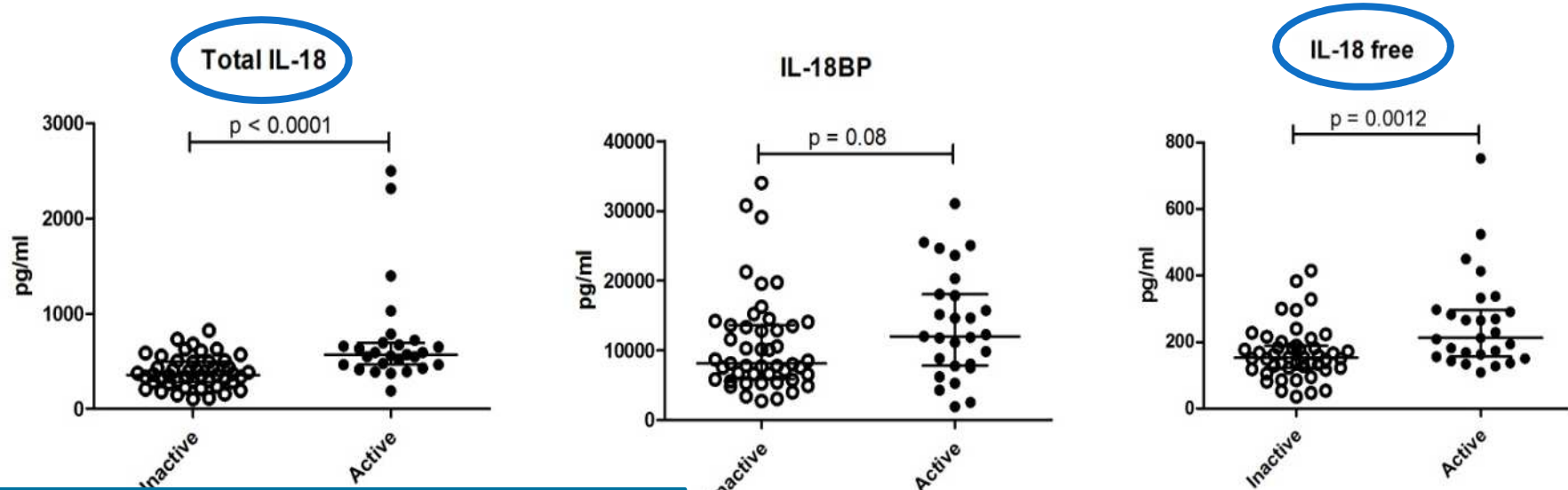


# CITOCHINE E RECETTORI IL-1 NEI LES VS NHS



Nessuna differenza significativa nei livelli di IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , sIL-1R1, sIL-1R2 e sIL-1R3

# CITOCINE E ATTIVITA' DI MALATTIA NEI 74 LES



IL-18, IL-18 free e sIL-1R4:

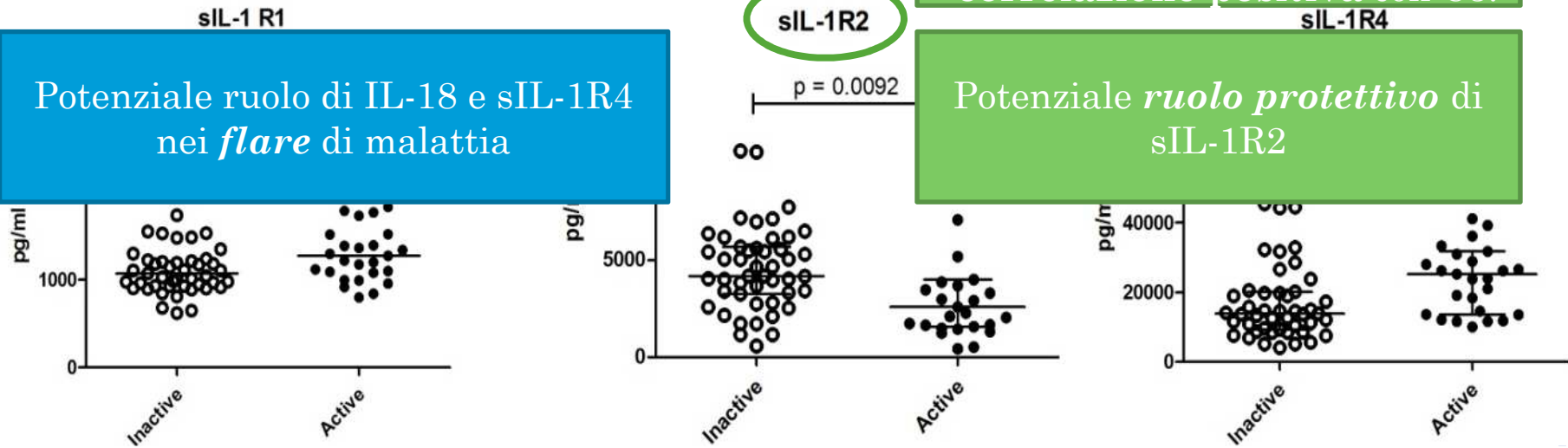
- **correlazione positiva** con ECLAM, anti-dsDNA e anti-C1q;
- **correlazione negativa** con C3.

sIL-1R2

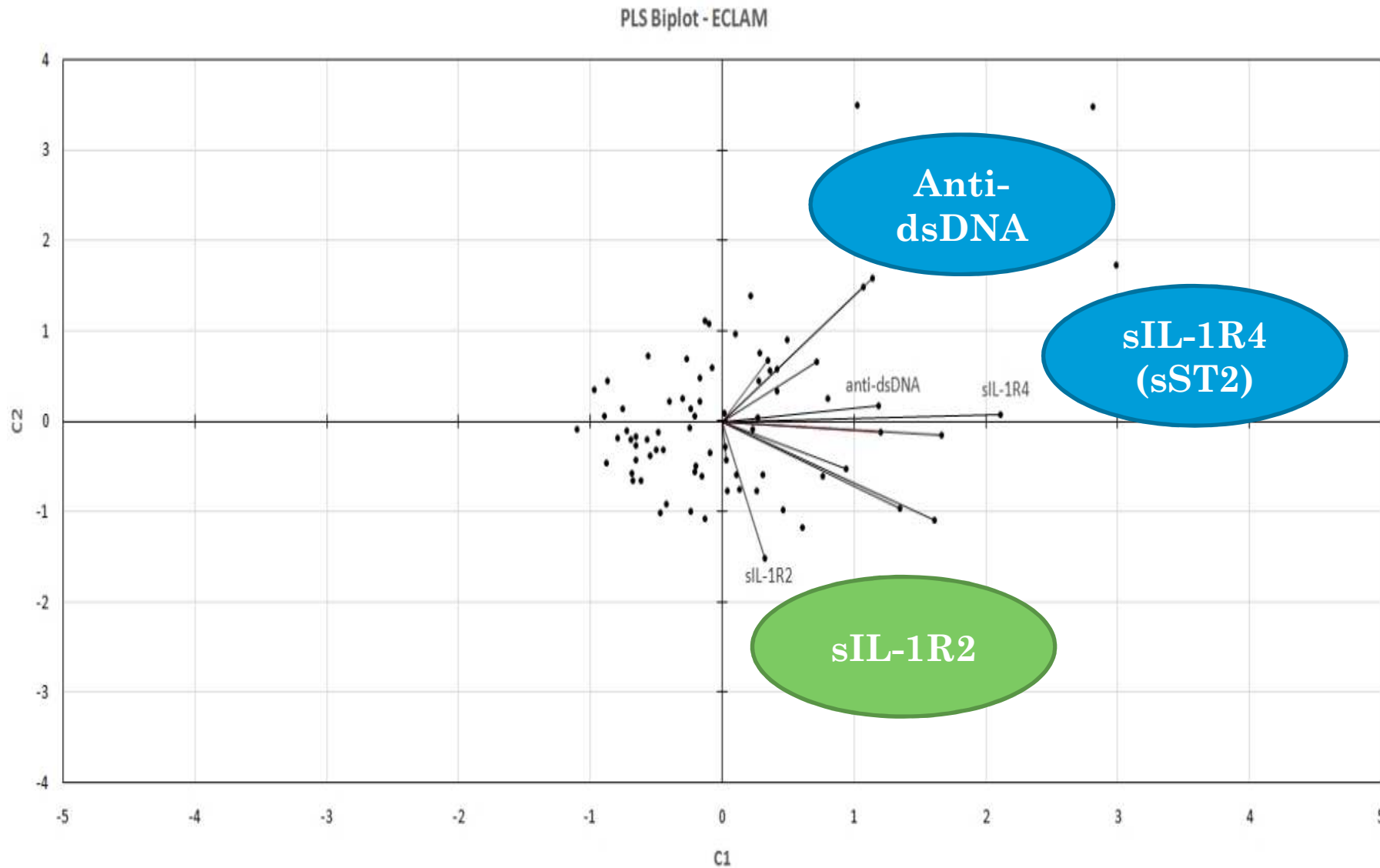
- **correlazione negativa** con ECLAM e anti-C1q;
- **correlazione positiva** con C3.

Potenziale ruolo di IL-18 e sIL-1R4 nei *flare* di malattia

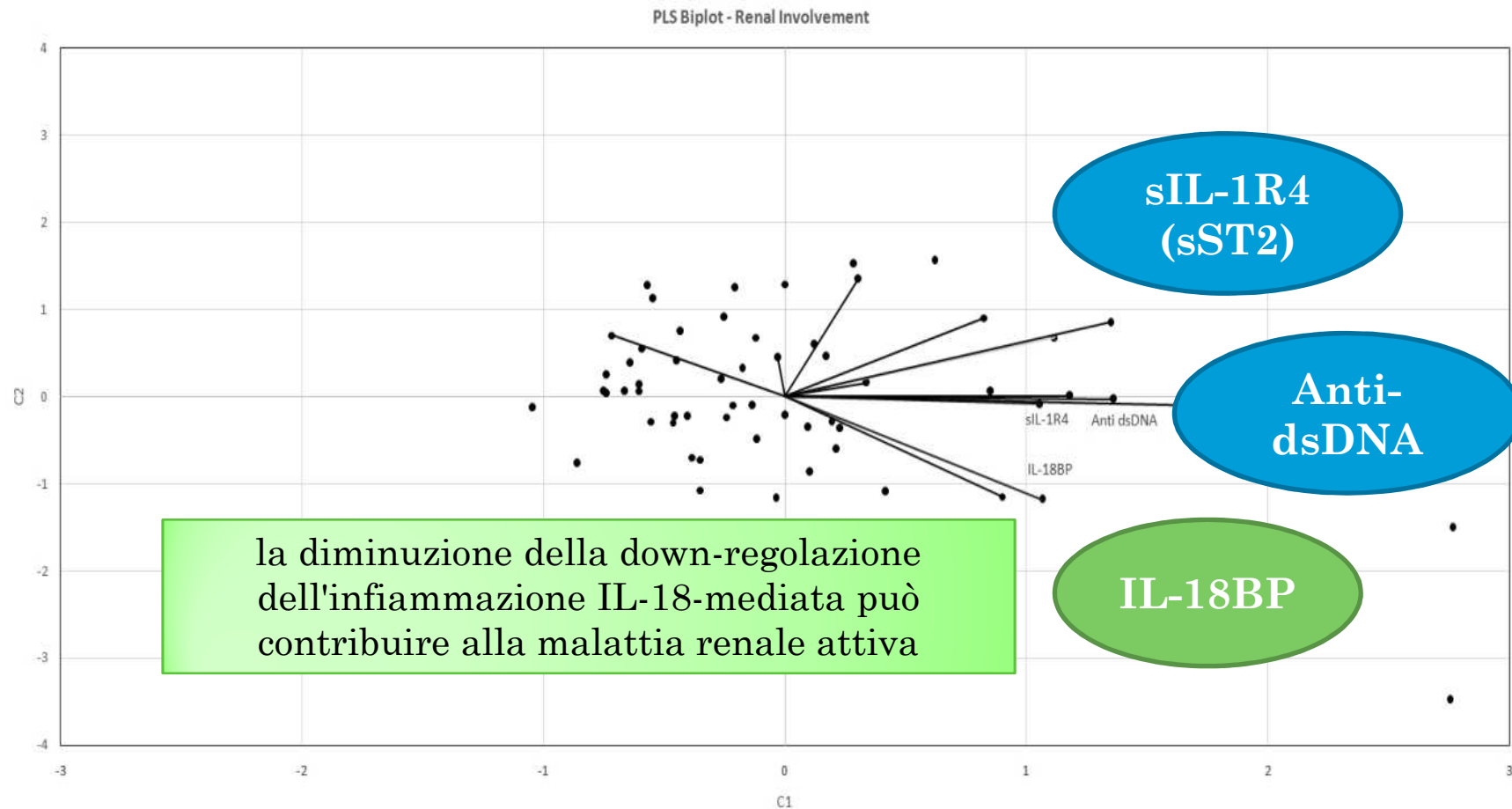
Potenziale *ruolo protettivo* di sIL-1R2



# UN CLUSTER DI VARIABILI IDENTIFICA PAZIENTI CON MALATTIA ATTIVA (ECLAM)



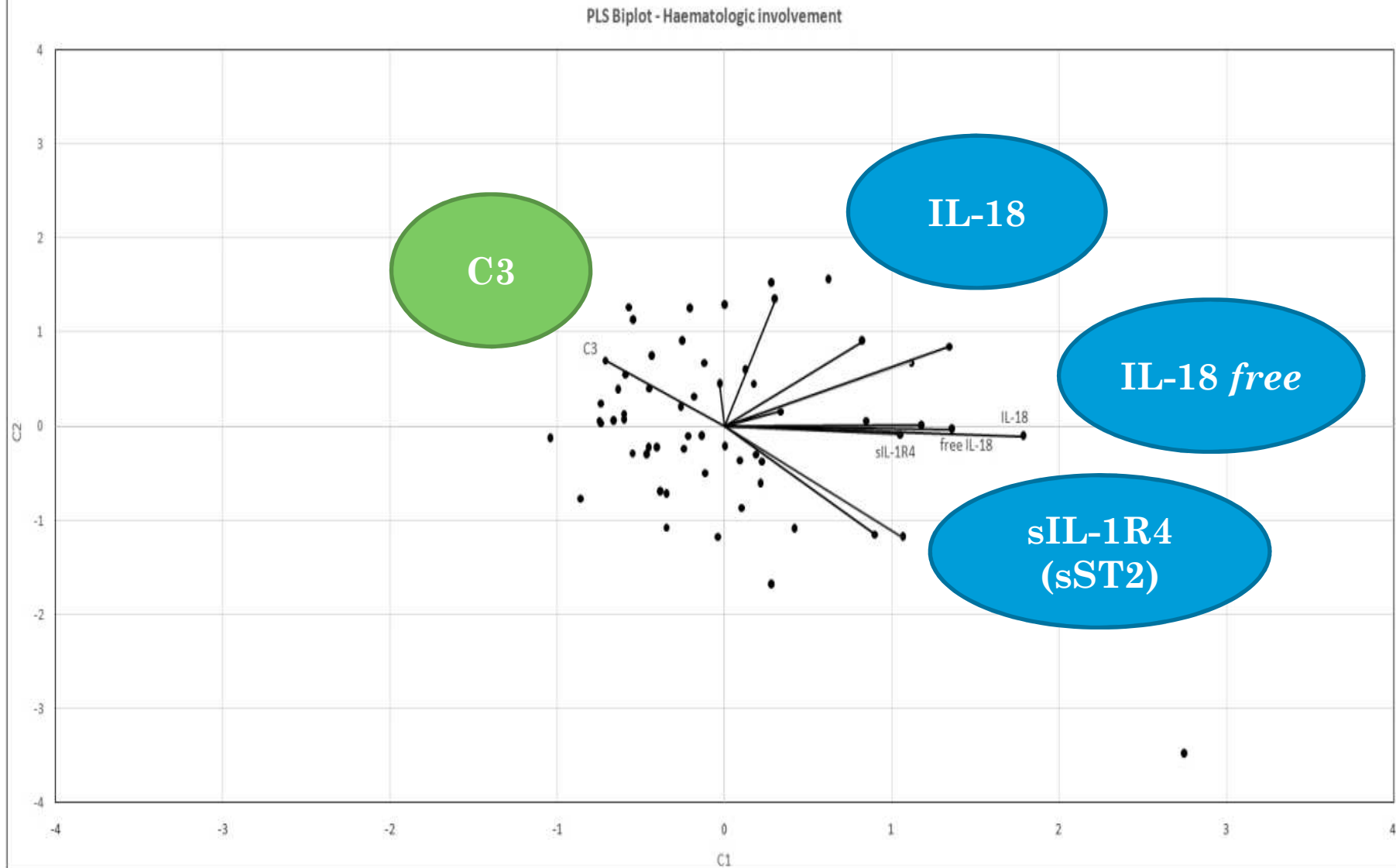
# UN CLUSTER DI VARIABILI IDENTIFICA PAZIENTI CON IMPEGNO RENALE



Valori maggiori di queste variabili osservati nella nefrite **attiva**.



# UN CLUSTER DI VARIABILI IDENTIFICA PAZIENTI CON IMPEGNO EMATOLOGICO





## CONCLUSIONI

Questo studio ha permesso di:

- Confermare il ruolo di **biomarkers tradizionali** (dsDNA, C3)
- Rafforzare le osservazioni precedenti sull'utilità della misurazione di **IL-18**
- Supportare l'introduzione di sIL-1R2 ed sIL-1R4 come nuovi biomarcatori

*Grazie per l'Attenzione*



“Evocazione di farfalle”, Odilon Redon