

Etiopatogeneze a diagnostika progresivní multifokální leukoencefalopatie u pacientů léčených natalizumabem

Etiopathogenesis and diagnostics of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with natalizumab

Souhrn

Etiologickým agens progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) je polyomavirus JCV (John Cunningham virus). PML se vyskytuje u imunosuprimovaných pacientů vč. pacientů s RS léčených imunomodulačními léky. Aktivace JCV v nervovém systému a rozvoj PML je výsledkem dysregulace zahrnující genetické a imunitní buněčné mechanismy. Z klinického pohledu je při léčbě natalizumabem přínosem vypracování léčebného algoritmu zohledňujícího míru rizika PML s ohledem na délku léčby, předchozí užívání imunosupresiv a hodnotu protilátkového indexu JCV. Současně s využitím MR lze diagnózu PML stanovit v preklinické fázi onemocnění a zlepšit prognózu onemocnění.

Abstract

Etiological agent of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is polyomavirus JCV (John Cunningham virus). PML occurs in immunosuppressed patients including MS patients treated with disease-modifying drugs. Activation of JCV in the nervous system and PML development is the result of dysregulation of genetic and immune cell mechanisms. The implementation of the safety treatment algorithm based on the length of treatment previous immunosuppressive drug treatment and positivity of the JCV antibody index is beneficial in natalizumab treated patients from the clinical point of view. Simultaneously with the use of MRI, the diagnosis of PML can be made in the preclinical phase of the disease and the prognosis of the disease can be improved.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.

P. Štourač¹, J. Bednářová²,
Z. Pavelek³

¹ Neurologická klinika LF MU a FN Brno

² Oddělení klinické mikrobiologie
FN Brno

³ Neurologická klinika LF UK
a FN Hradec Králové



doc. MUDr. Pavel Štourač, Ph.D.
Neurologická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 340/20
625 00 Brno
e-mail: stourac.pavel@fnbrno.cz

Přijato k recenzi: 10. 9. 2020

Přijato do tisku: 16. 4. 2021

Klíčová slova

etiopatogeneze – progresivní multifokální leukoencefalopatie – natalizumab

Key words

etiopathogenesis – progressive multifocal leukoencephalopathy – natalizumab

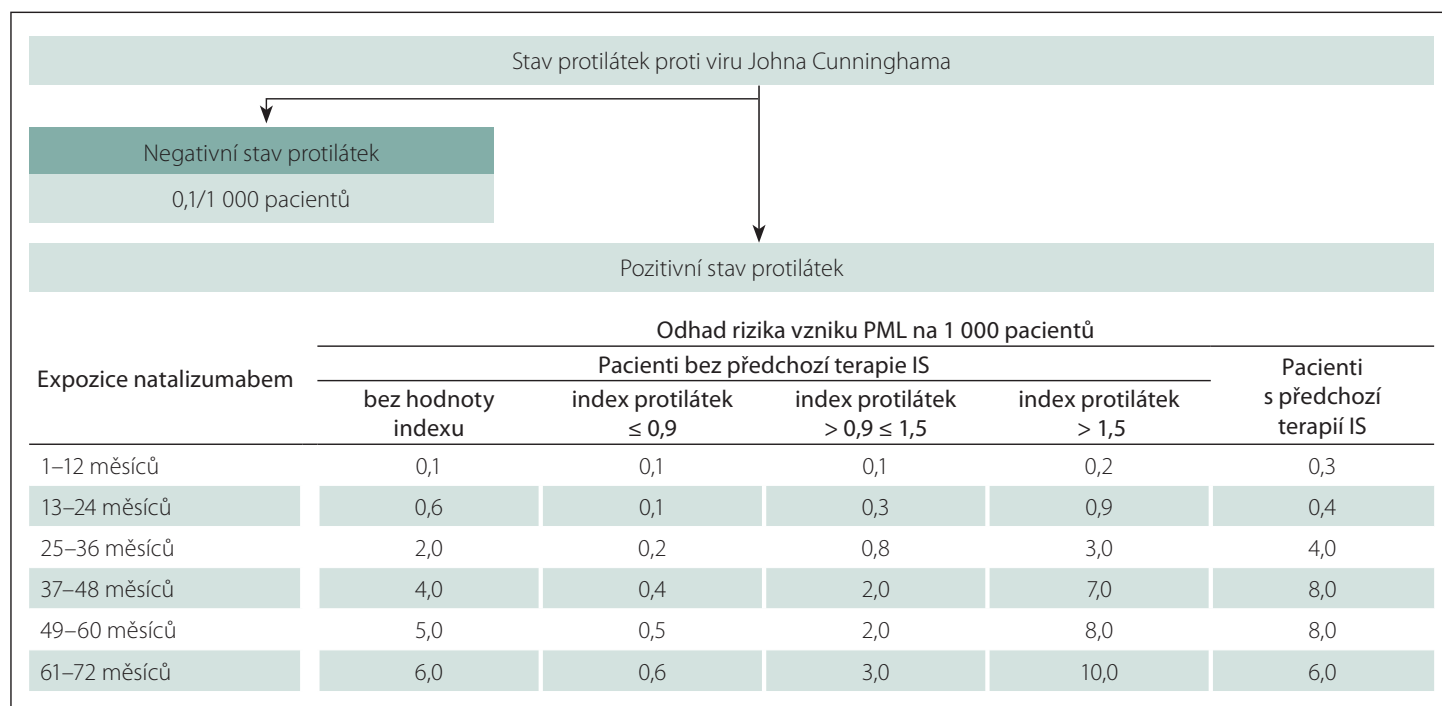
Úvod

John Cunningham virus (JCV) je cirkulární dvoušroubovnicový DNA polyomavirus, který byl poprvé izolován z mozkové tkáně pacienta s Hodgkinovou nemocí v roce 1971 [1]. Jedná se o etiologické agens progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) poprvé popsané Åströmem et al v roce 1958 [2]. Je známo, že většina světové populace je tímto neurotropním polyomavirem latentně infikována [3]. Primární JCV in-

fekce se obvykle vyskytuje v prvních dvou dekádách života a séroprevalence s věkem narůstá [4]. Vazba na různé typy buněk se uskutečňuje receptorovým mechanismem. N-glykoprotein s α -(2,6) vázanou sialovou kyselinou je jedním z těchto buněčných receptorů a dalším receptorem je serotoninergní 5-HT 2α receptor umožňující infekci astrocytů, epitelálních buněk ledvin, B-lymfocytů a gliových buněk *in vivo* [4]. Virová DNA obsahuje jednak regulační geny spojené s viro-

vou transformací, genovou regulací a replikací, jednak geny strukturální, které kódují proteiny virové kapsidy. Uvedené geny jsou odděleny nekódující regulační oblastí, která je nejvariabilnější částí virového genomu a obsahuje promotorové geny [5].

U imunokompromitovaných pacientů, zejména u pacientů s infekcí HIV a u pacientů léčených monoklonálními protilátkami s imunosupresivním účinkem v různých indikacích, může dojít k reaktivaci JCV a následné infekci



Obr. 1. Algoritmus odhadů rizika PML.

IS – imunosupresiva; PML – progresivní multifokální leukoencefalopatie

Fig. 1. PML risk estimation algorithm.

IS – immunosuppressants; PML – progressive multifocal leukoencephalopathy

oligodendrocytů produkujících myelin v CNS. Tento proces vede k destrukci oligodendrocytů s rozsáhlou demyelinizací nervového systému a vzniká tak klinický obraz PML. I když je dlouhodobě známo, že JCV je původcem PML, mechanismy jeho latence a aktivace jak u zdravých, tak u imunokompromitovaných jedinců nejsou plně objasněny. PML postihuje dospělé a výjimečně i dětské pacienty. Zpočátku se onemocnění nejčastěji prezentuje neuropsychiatrickými symptomy, poruchami zraku a centrální hemiparézou. Strukturálně jsou léze lokalizovány hemisférně poblíž kortikálních struktur a jsou tvořeny zvětšenými oligodendrocyty a astrocyty s velkými vícečetnými jádry. Přirozený průběh onemocnění je progresivní, s mortalitou cca 20 %. V oblasti autoimunitních onemocnění, zejména u RS, Crohnovy nemoci, psoriázy a revmatoidní artritidy, je výskyt PML registrován u pacientů léčených natalizumabem, efalizumabem a rituximabem a v menší míře i u některých dalších monoklonálních protilátek. Objasnění interakce mezi JCV a imunitním systémem za fyziologických i patofyziologických podmínek je předpokladem úspěšné léčby tohoto onemocnění [6].

Patofyziologie PML

Přenos JCV a imunitní odpověď jsou předmětem aktuálního výzkumu. Kolem 80 %

dospělé populace je séropozitivní a přítomnost JCV DNA v B lymfocytech a v buňkách stromatu tonsil naznačují, že tonsily jsou primárním místem virové infekce [7]. Virus se dostane do horních dýchacích cest kapénkovou nákazou nebo kontaminovaným předmětem a hematogenní cestou se rozšíří do míst sekundární infekce, jako jsou ledviny, kostní dřeň, lymfatická tkáň a mozek, kde vzniknou ložiska perzistující infekce [8]. Existují i alternativní cesty přenosu, např. transplacentární, krevní transfúzí, spermatem a orgánovou transplantací [9]. Imunologická kontrola JCV je zprostředkována především buněčnou imunitní odpovědí. Cytotoxické CD8+ T lymfocyty rozpoznávají epitopy proteinů viru prezentované pomocí HLA třídy I a omezují tak šíření viru. Cytotoxické CD8+ lymfocyty jsou v patologických lézích PML a jsou agregovány kolem infikovaných buněk [10]. Specifické CD4+ T lymfocyty byly detekovány v krvi pacientů, kteří přežili PML, a počet těchto buněk koreloval s náloží JCV v mozkomíšním moku [11]. Pokud dojde k imunosupresi se snížením subpopulací CD8+ a CD4+ lymfocytů, jako je tomu u HIV infekce nebo imunomodulační terapie (natalizumab a další), JCV vstupuje do mozku buď v B-buňkách nebo volně a infikuje a destruuje oligodendrocyty s následnou demyelinizací. Ztráta této buněčné

imunologické surveillance (dohledu) vede ke zvýšené aktivaci transkripčních faktorů, zejména NFAT 4 (nuclear factor of activated T cells) a NFκB (nuclear factor kappaB), které jsou pod vlivem prozánětlivých cytokinů a vedou k transkripci genů JCV [12,13]. Naopak C/EBPβ (family transcription factors controlling the ACC-alpha gene expression) potlačuje transkripci JCV v odpovědi na prozánětlivý cytokin TNF-α. Vzájemné působení mezi pozitivním účinkem NF-κB a negativním účinkem C/EBPβ na genovou transkripci JCV může být klíčovým faktorem v rovnováze mezi latencí JCV a reaktivací JCV lokalizovaného v oligodendrocytech a astrocytech. Jejich aktivace zánětlivými cytokiny umožňuje virovou expresi a replikaci viru [14]. B-lymfocyty mohou rovněž hrát důležitou roli v patogenezi PML jako rezervoár JCV a na základě skutečnosti, že při léčbě natalizumabem došlo ke změnám transkripčních faktorů při B-lymfocytární proliferaci s ovlivněním transkripce JCV vč. transkripčního faktoru Spi-B [15]. I když je dysfunkce imunitního systému klíčovým předpokladem rozvoje PML, výrazný rozdíl mezi vysokou prevalencí JCV a nízkou incidencí PML nabízí i možnost specifických charakteristik JCV, které jsou významné v progresi od asymptomatické JCV infekce k PML. Povrchový virový protein VP1 (viral protein 1) je

významný faktor v infekčnosti JCV. Gen *VP1* je vysoce polymorfní a v současnosti je identifikováno 13 podtypů. Mutace *VP1* na pozicích 55 a 269 významně mění receptorově vazebné vlastnosti viru, které mohou podpořit invazi viru do CNS omezením vazby na receptory v periférii a být dalším významným faktorem v patogenezi PML [16].

Imunomodulační léčba natalizumabem a PML

Progresivní multifokální leukoencefalopatie, která se vyskytuje při léčbě autoimunitních chorob monoklonálními protilátky, přináší otázky ohledně bezpečnosti této léčby a také poskytuje nové informace ohledně patogeneze PML. Natalizumab (Tysabri, Biogen, Ženeva, Švýcarsko) je monoklonální protilátka používaná v léčbě relaps remitentní RS vázající se na buněčnou adhezivní molekulu VLA-4 (very late antigen-4) a $\alpha 4\beta 7$ integriny na hematopoetických buňkách. Tato vazba zabraňuje adhezí aktivovaných lymfocytů na vaskulární buněčnou adhezivní molekulu (vascular cell adhesion molecule; VCAM), a tak zabraňuje jejich přestupu přes hematoencefalickou bariéru. Protože léčba natalizumabem není spojena s jinými oportunními infekcemi kromě PML, musí existovat specifický mechanismus, který vede ke vzniku PML. Natalizumab se váže na CD34+ hematopoetické prekursorové buňky, zvyšuje jejich počet v krvi a kostní dřeni a rovněž zvyšuje počet B-lymfocytů obsahujících transkripční faktor Spi-B v periférii, a tak může zvyšovat riziko aktivity JCV [17]. Tyto změny vytvářejí příhodné prostředí pro JCV v latentním stavu v kostní dřeni, kdy může dojít za pomoci B-lymfocytů k virové replikaci. Zabránění vstupu dendritických buněk a CD4+ lymfocytů a B-lymfocytů do CNS může vést k dramatickému snížení imun-surveillance. U většiny pacientů, kteří vyvinuli PML při léčbě natalizumabem, došlo po obnovení imunokompetence k rozvoji syndromu IRIS (immune reconstitution inflammatory syndrome), který zvyšuje morbiditu a mortalitu onemocnění. IRIS je způsoben rychlým obnovením T-lymfocytární populace po odstranění natalizumabu (plazmaferéza, imunoabsorpce) a vede k masivnímu přestupu specifických lymfocytů přes hematoencefalickou bariéru a k masivní infiltraci lézí PML cytotoxickými CD8+ lymfocyty. Léčba plazmaferézou s cílem odstranit natalizumab a rekonstituovat imunitní systém neprokázala zlepšení v přežití a klinických parametrech a je doporučena obe-

zřetnost při jejím použití v budoucnosti, nicméně IRIS není považován za důsledek léčby plazmaferézou. V současnosti není k dispozici specifická antivirová léčba při výskytu PML.

Laboratorní diagnostika JCV

Infekce JCV je předpokladem rozvinutí PML. Pro detekci protilátek JCV v séru byla vytvořena v roce 2012 dvoukroková ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) druhé generace s vysokou senzitivitou a specifitou. JCV protilátkový index se vypočítá jako poměr optické denzity protilátek detekovaných metodou ELISA v séru pacienta a optické denzity kontrolního vzorku sér získaných od anti-JCV pozitivních zdravých dárců. Metoda je schopna detekovat koncentrace 1,7 ng/ml s využitím humanizované monoklonální protilátky anti-JCV se senzitivitou 97,5 %. Specifita metody byla testována za použití příbuzného BK polyomaviru, který má 80% homologii s JCV, a činí 95 % [19,20]. Metodou pro detekci JCV v likvoru je metoda polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction; PCR), která detekuje JCV DNA v mozkomíšním moku s extrémně vysokou specifitou [21]. Přestože se metoda PCR neustále zlepšuje, je nutné si být vědom i negativního průkazu DNA JCV v mozkomíšním moku, a to i u pacienta s prokázanou PML v důsledku nízkého počtu kopií. Přítomnost viru v mozkomíšním moku nekoreluje jednoznačně s přítomností DNA JCV v mozkové tkáni [22].

Aktuální výskyt PML u pacientů léčených natalizumabem

Natalizumab je vysoce účinným lékem u RS. Natalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka, která se selektivně váže na $\alpha 4$ podjednotku $\alpha 4\beta 1$ - a $\alpha 4\beta 7$ -integrinů exprimovaných na povrchu lidských leukocytů. Natalizumab je schválen k léčbě relabující-remitentní RS. Natalizumab signifikantně redukuje roční počet relapsů (relapse rate) o 68 % ($p < 0,001$), riziko potvrzené progresivní disability o 42 % ($p < 0,0001$) a akumulaci nových T2 hyperintenzních a rozšiřujících se ložisek v mozku v obraze MR o 83 % ($p < 0,001$) ve srovnání s placebo skupinou a rovněž snižuje progresi mozkové atrofie [23]. Léčba je však spojena se zvýšeným rizikem vzniku PML. V současnosti jsou známy rizikové faktory spojené s léčbou natalizumabem. Jsou to délka léčby natalizumabem více než 2 roky, pozitivní specifický protilátkový index JCV-AI (JCV antibody index) a předchozí

léčba imunosupresivou, např. azathioprinem. K datu 2. března 2020 byla globální kumulativní incidence PML ve spojitosti s léčbou natalizumabem 3,99/1 000 pacientů (95 % CI 3,73–4,27/1 000 pacientů). K uvedenému datu bylo evidováno 832 potvrzených případů PML, 829 případů s léčenou RS, 3 pacienti s diagnózou Crohnovy choroby, z toho 76 % pacientů onemocnění PML přežilo s různým stupněm disability. Ke stejnému datu byl počet dávek natalizumabu od zahájení léčby do rozvoje PML v rozmezí od 8 do 148 dávek, průměrná doba do rozvoje PML tak byla 51 měsíců [24]. Vzhledem k tomu, že do klinické praxe byl zaveden princip stratifikace rizika na základě výše uvedených parametrů, je zajímavé sledovat vývoj incidence PML u pacientů léčených natalizumabem v čase. Byly publikovány výsledky potvrzující skutečnost, že celková incidence PML při léčbě natalizumabem je od roku 2016 stabilní. Tato stabilizace je v časové koincidenci se zavedením principů stratifikace rizika do klinické praxe od roku 2016. Největší nárůst incidence PML byl letech 2009–2013. Z příložené tabulky stratifikace rizika (obr. 1) vyplývá, že pokud je JCV protilátkový index $\leq 0,9$, je rozmezí rizika rozvoje PML 0,1–0,6/1 000 pacientů. Pokud je protilátkový index v rozmezí $> 0,9 \leq 1,5$, pak je míra rizika rozvoje PML 0,1–3/1 000 pacientů, a pokud je hodnota protilátkového indexu $> 1,5$, pak je riziko rozvoje PML v rozmezí 0,2–10/1 000 pacientů léčených natalizumabem. Pokud je pacient ve skupině s nejvyšší mírou rizika, provádíme kontrolní vyšetření MR mozku každé 3 měsíce, pokud je ve střední míře rizika, provádíme vyšetření alespoň dvakrát ročně, a u pacientů ve skupině s nejnižší mírou rizika jedenkrát ročně. Při dodržení tohoto bezpečnostního algoritmu je vyšší pravděpodobnost zachytu PML v asymptomatické fázi s lepšími klinickými výsledky. V ČR bylo v období 2009–2018 diagnostikováno celkem 14 případů PML u pacientů s RS léčených natalizumabem, jejichž klinická a radiologická charakteristika byla publikována [25]. Stratifikace rizika a pravidelné vyšetření pacientů MR vedou k zajištění maximální bezpečnosti této jinak vysoce účinné léčby [26]. Další alternativou ke zvýšení bezpečnosti léčby natalizumabem – při zachované účinnosti – je prodloužení intervalu podávání ze 4 na 6 týdnů ověřené v souboru 25 pacientů při očekávání potvrzení výsledků tohoto léčebného schématu na základě evropské multicentrické randomizované studie [27].

Závěr

John Cunningham virus je polyomavirus způsobující závažné onemocnění PML. Etiopatoogeneze tohoto onemocnění není plně prozkoumána, ale je zřejmé, že mutace viru a imunitní dysregulace zejména v buněčných subpopulacích jsou významnými faktory. Léčba RS natalizumabem přes svoji vysokou účinnost přináší specifické riziko vzniku PML. Toto riziko může být významně sníženo za použití algoritmu stratifikace rizika. Další poznatky v etiopatoogenezi onemocnění mohou nakonec vést k eliminaci této závažné komplikace.

Grantová podpora

Tato práce byla podpořena MZČR, RVO(FNBr,65269705).

Konflikt zájmů

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádný konflikt zájmů

Literatura

1. Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM et al. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet* 1971; 1(7712): 1257–1260. doi: 10.1016/S0140-6736(71)91777-6.
2. Åström KE, Mancall EL, Richardson EP Jr et al. Progressive multifocal leuko-encephalopathy, a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia and Hodgkin's disease. *Brain* 1958; 81(1): 93–111. doi: 10.1093/brain/81.1.93.
3. Knowles WA, Pipkin P, Andrews N et al. Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40. *J Med Virol* 2003; 71(1): 115–123. doi: 10.1002/jmv.10450.
4. Brew BJ, Davis NW, Cinque P et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other forms of JC virus disease. *Nat Rev Neurol* 2010; 6(12): 667–679. doi: 10.1038/nrneurol.2010.164.
5. Pietropaolo V, Videtta M, Fioriti D et al. Rearrangement patterns of JC virus noncoding control region from different biological samples. *J Neurovirol* 2003; 9(6): 603–611. doi: 10.1080/13550280390246507.
6. Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. *Annu Rev Med* 2010; 61: 35–47. doi: 10.1146/annurev.med.080708.082655.
7. Monaco MC, Jensen PN, Hou J et al. Detection of JC virus DNA in human tonsil tissue: evidence for site of initial viral infection. *J Virol* 1998; 72(12): 9918–9923. doi: 10.1128/JVI.72.12.9918-9923.1998.
8. Chapagain ML, Nerurkar VR. Human polyomavirus JC (JCV) infection of human B lymphocytes: a possible mechanism for JCV transmigration across the blood-brain barrier. *J Infect Dis* 2010; 202(2): 184–191. doi: 10.1086/653823.
9. Jiang M, Abend JR, Johnson SF et al. The role of polyomaviruses in human disease. *Virology* 2009; 384(2): 266–273. doi: 10.1016/j.virol.2008.09.027.
10. Lima MA, Marzocchetti A, Autissier P et al. Frequency and phenotype of JC virus – specific CD8+ T lymphocytes in the peripheral blood of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Virol* 2007; 81(7): 3361–3368. doi: 10.1128/JVI.01809-06.
11. Tan CS, Koralnik IJ. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2010; 9(4): 425–437. doi: 10.1016/S1473-4422(10)70040-5.
12. Manley K, O'Hara BA, Gee GV et al. NFAT4 is required for JC virus infection of glial cells. *J Virol* 2006; 80(24): 12079–12085. doi: 10.1128/JVI.01456-06.
13. Wollebo HS, Safak M, Del Valle L et al. Role for tumor necrosis factor- α in JC virus reactivation and progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neuroimmunol* 2011; 233(1–2): 46–53. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.11.013.
14. Perez-Liz G, Del Valle L, Gentilella A et al. Detection of JC virus DNA fragments but not proteins in normal brain tissue. *Ann Neurol* 2008; 64(4): 379–387. doi: 10.1002/ana.21443.
15. Lindberg RL, Achtnichts L, Hoffmann F et al. Natalizumab alters transcriptional expression profiles of blood cell subpopulations of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2008; 194(1–2): 153–164. doi: 10.1016/j.jneuroim.2007.11.007.
16. Gorelik L, Reid C, Testa M et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) development is associated with mutations in JC virus capsid protein VP1 that change its receptor specificity. *J Infect Dis* 2011; 204(1): 103–114. doi: 10.1093/infdis/jir198.
17. Marshall LJ, Dunham L, Major EO. Transcription factor Spi-B binds unique sequences present in the tandem repeat promoter/enhancer of JC virus and supports viral activity. *J Gen Virol* 2010; 91(12): 3042–3052. doi: 10.1099/vir.0.023184-0.
18. Tan IL, McArthur JC, Clifford DB et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome in natalizumab – associated PML. *Neurology* 2011; 77(11): 1061–1067. doi: 10.1212/WNL.0b013e31822e55e7.
19. Plavina T, Bergman M, Njenga M et al. Multi-site analytical validation of an assay to detect anti-JCV antibodies in human serum and plasma. *J Clin Virol* 2012; 53: 65–71. doi: 10.1016/j.jcv.2011.10.003.
20. Lee P, Plavina T, Castro A et al. A second-generation ELISA (Stratify JCV™ DxSelect™) for detection of JC virus antibodies in human serum and plasma to support progressive multifocal leukoencephalopathy risk stratification. *J Clin Virol* 2013; 57(2): 141–146. doi: 10.1016/j.jcv.2013.02.002.
21. Cinque P, Scarpellini P, Vao L et al. Diagnosis of central nervous system complications in HIV-infected patients: cerebrospinal fluid analysis by the polymerase chain reaction. *AIDS* 1997; 11(1): 1–17. doi: 10.1097/00002030-199701000-00003.
22. Marzocchetti A, Di Giambenedetto S, Cingolani A et al. Reduced rate of diagnostic positive detection of JC virus DNA in cerebrospinal fluid in cases of suspected progressive multifocal leukoencephalopathy in the era of potent antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol* 2005; 43(8): 4175–4177. doi: 10.1128/JCM.43.8.4175-4177.2005.
23. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354(9): 899–910. doi: 10.1056/NEJMoa044397.
24. Global Natalizumab (Tysabri) Postmarketing PML Update. Updated March 2020, Biogen Tysabri (Natalizumab). [online]. Available from URL: <https://www.tysabrihcp.com/>.
25. Vaněčková M, Martinková A, Tupý R et al. Spektrum MR náálezů progresivní multifokální leukoencefalopatie u kohorty pacientů s roztroušenou sklerózou v ČR. *Cesk Slov Neurol N* 2019; 82/115(4): 381–390. doi: 10.14735/amcsnn2019381.
26. Giovannoni G, Kappos L, Berger J et al. Incidence of natalizumab associated progressive multifocal leukoencephalopathy and its relationship with the pattern of natalizumab exposure over time. ECTRIMS Online Library. Giovannoni G. 10/10/18; 228448; P604.
27. Petržalka M, Meluzínová E, Mojžíšová H et al. Efektivita prodlouženého dávkovacího intervalu natalizumabu u pacientů s roztroušenou sklerózou. *Cesk Slov Neurol N* 2020; 83/116(1): 79–83. doi: 10.14735/amcsnn202079.