

Systemic lupus erythematosus

TRANSLATIONAL SCIENCE

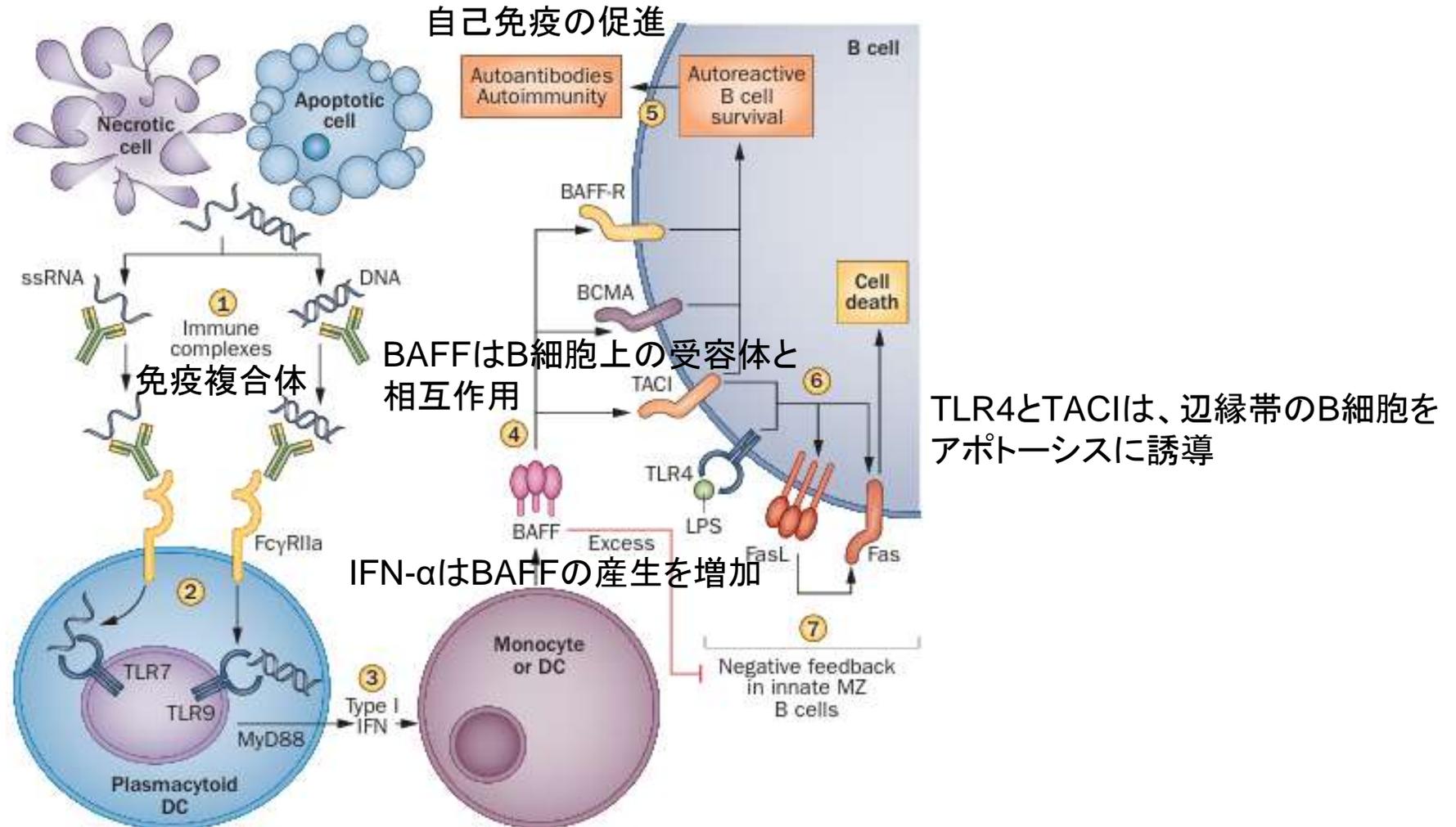
Molecular basis for the disease-modifying effects of belimumab in systemic lupus erythematosus and molecular predictors of early response: blood transcriptome analysis implicates the innate immunity and DNA damage response pathways

Georgia-Savina Moysidou ,^{1,2} Panagiotis Garantziotis,^{1,3} George Sentis,¹ Dimitra Nikoleri,⁴ Nikolaos Malissovass,¹ Myrto Nikoloudaki,⁵ Eirini-Maria Stergioti,¹ Styliani Polia,⁵ Nikolaos Paschalidis,¹ Anastasia Filia,¹ Maria Grigoriou ,^{1,6} Dionysis Nikolopoulos ,^{1,7} Noemin Kapsala,² Spyridon Katechis,⁸ Antonis Fanouriakis ,⁹ George Bertsias ,^{5,10} Dimitrios T Boumpas  ^{1,2}

Ann Rheum Dis Epub ahead of print.

膠原病・リウマチ内科
竹内 遼

SLEの病態: Type I IFNの亢進およびBAFFの過剰発現



TLR(Toll like receptor)とIFN-α産生を活性化

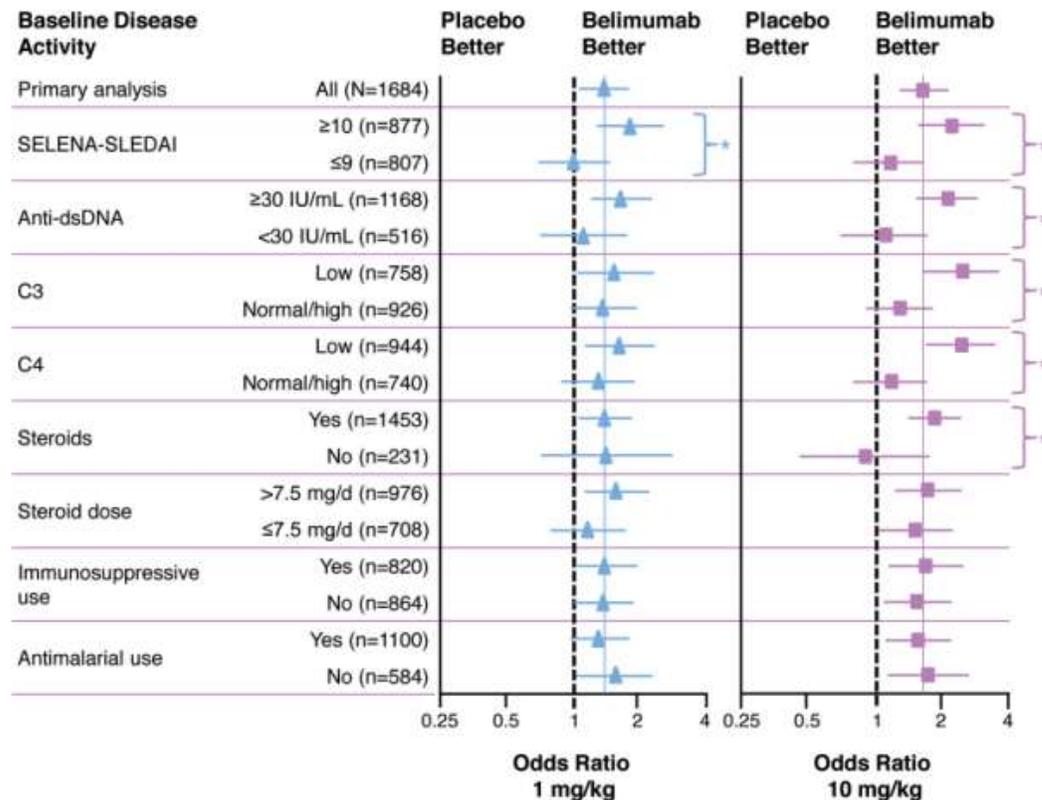
SLEDAI高値、抗ds-DNA抗体高値、低補体、GCを使用している場合にBELは有効

Clinical and epidemiological research

EXTENDED REPORT

Belimumab in the treatment of systemic lupus erythematosus: high disease activity predictors of response

Ronald F van Vollenhoven,¹ Michelle A Petri,² Ricard Cervera,³ David A Roth,⁴ Beulah N Ji,⁵ Christi S Kleoudis,⁶ Z John Zhong,⁷ William Freimuth⁷



- BLISS-52、76に参加していた1,684例における52wにおけるSRI-4の達成率に関して多変量解析
- **SELENA-SLEDAI \geq 10、抗ds-DNA抗体価 \geq 30、C3低値、C4低値、GCを使用している場合**
標準治療にBEL 10mg/kgを加えた方が標準治療より有意にSRI-4を達成しやすい
- **BEL 10mg/kgの方がBEL 1mg/kgよりも標準治療との差が明確化**

BLyS mRNA、Type I IFN mRNA高値の場合BELは有効

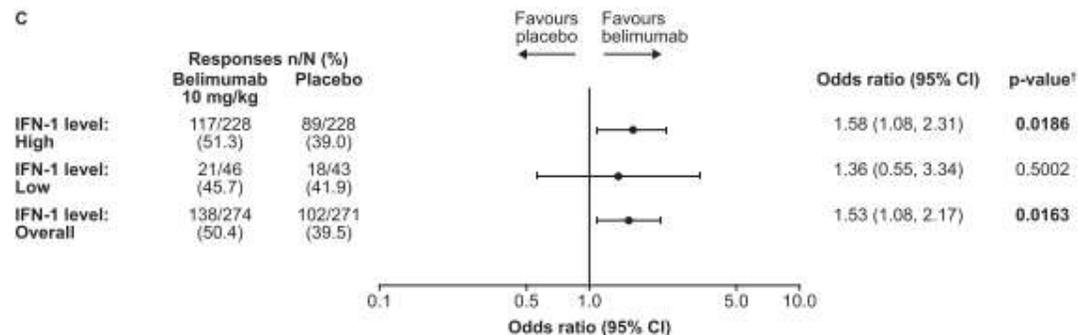
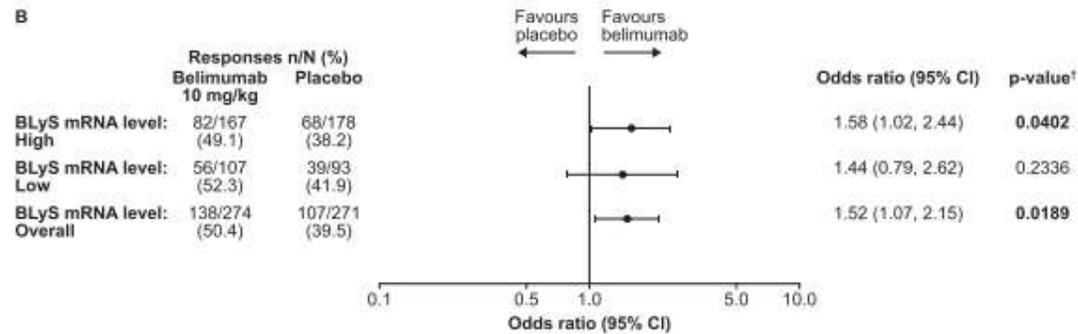
RESEARCH ARTICLE

Open Access



The role of baseline BLyS levels and type 1 interferon-inducible gene signature status in determining belimumab response in systemic lupus erythematosus: a post hoc meta-analysis

Christel Wilkinson¹, Robert B. Henderson¹, Angela R. Jones-Leone², Shaun M. Flint¹, Mark Lennon¹, Roger A. Levy^{2*}, Beulah Ji³, Damon L. Bass⁴ and David Roth⁴



- BLISS-52、76に参加していた554例の post-hoc analysis

- **BLyS mRNA高値、Type I IFN mRNA高値の場合** 52wにおけるSRI-4を達成しやすい

Methods

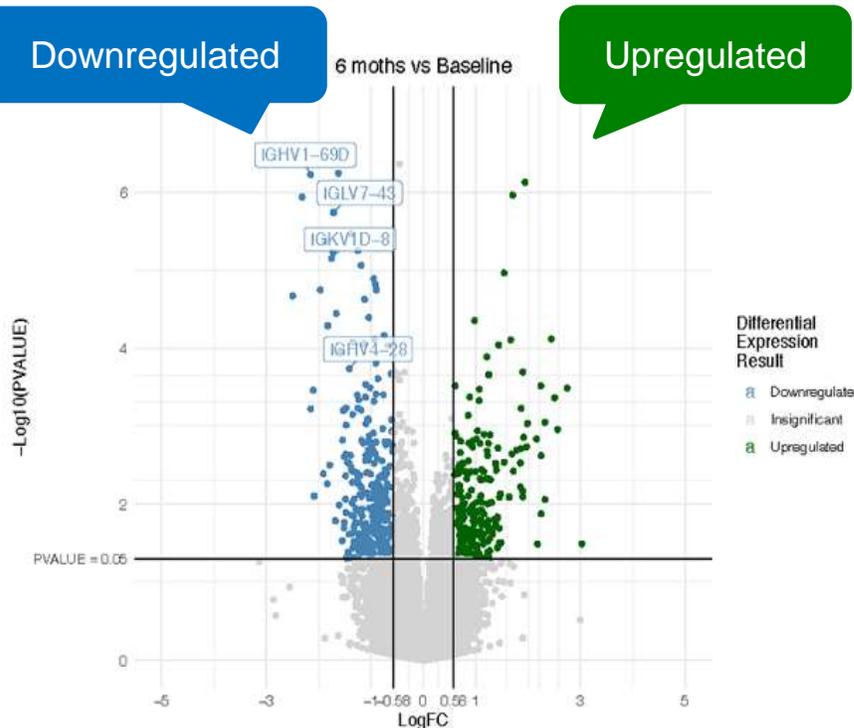
- ギリシアにある2つの病院(Attikon University Hospital、University Hospital of Heraklion)に通院中の活動性がある(SLEDAI-2K \geq 6、PGA \geq 1.5)SLEの58例
- SLEの分類基準
2019年 ACR/EULARの分類基準、2012年のSLICCの分類基準を使用
- RNA抽出: Qiagen RNeasy kit
- RNA sequence: Illumina NextSeq 500、Illumina HiSeq
Sampleは全血を-80°Cで保存
- RNA library: Illumina stranded TruSeq kit

患者背景(Baseline、BEL開始6m後)

	Baseline	M6
SLEDAI 2K [*] , mean (SD)	8.3 (3)	4.1 (2.3)
SLEDAI 2K ≥ 10, n (%)	14 (31.1)	0 (0)
PGA ^{**} , mean (SD)	1.7 (0.3)	0.9 (0.7)
Corticosteroids use, n (%)	27 (60)	23 (51.1)
Corticosteroids > 7.5 mg/day, n (%)	10 (22.2)	3 (6.7)
Corticosteroids dose (mg/day), mean (range)	9.3 (0-80)	4.4 (0-20)
Active arthritis ⁺ , n (%)	44 (97.8)	25 (55.6)
Active rash ⁺ , n (%)	24 (53.3)	15 (33.3)
Anti-dsDNA [§] , n (%)	10 (22.2)	4 (8.9)
Low C3 or C4 ^{§§} , n (%)	10 (22.2)	6 (13.3)
Proteinuria ⁺ , n (%)	6 (13.3)	3 (6.7)
Hematuria ⁺ , n (%)	4 (8.9)	0 (0)
Active hair loss ⁺ , n (%)	15 (33.3)	4 (8.9)
Ulcers ⁺ , n (%)	12 (26.7)	6 (13.3)
Leucopenia ⁺ , n (%)	3 (6.7)	0 (0)

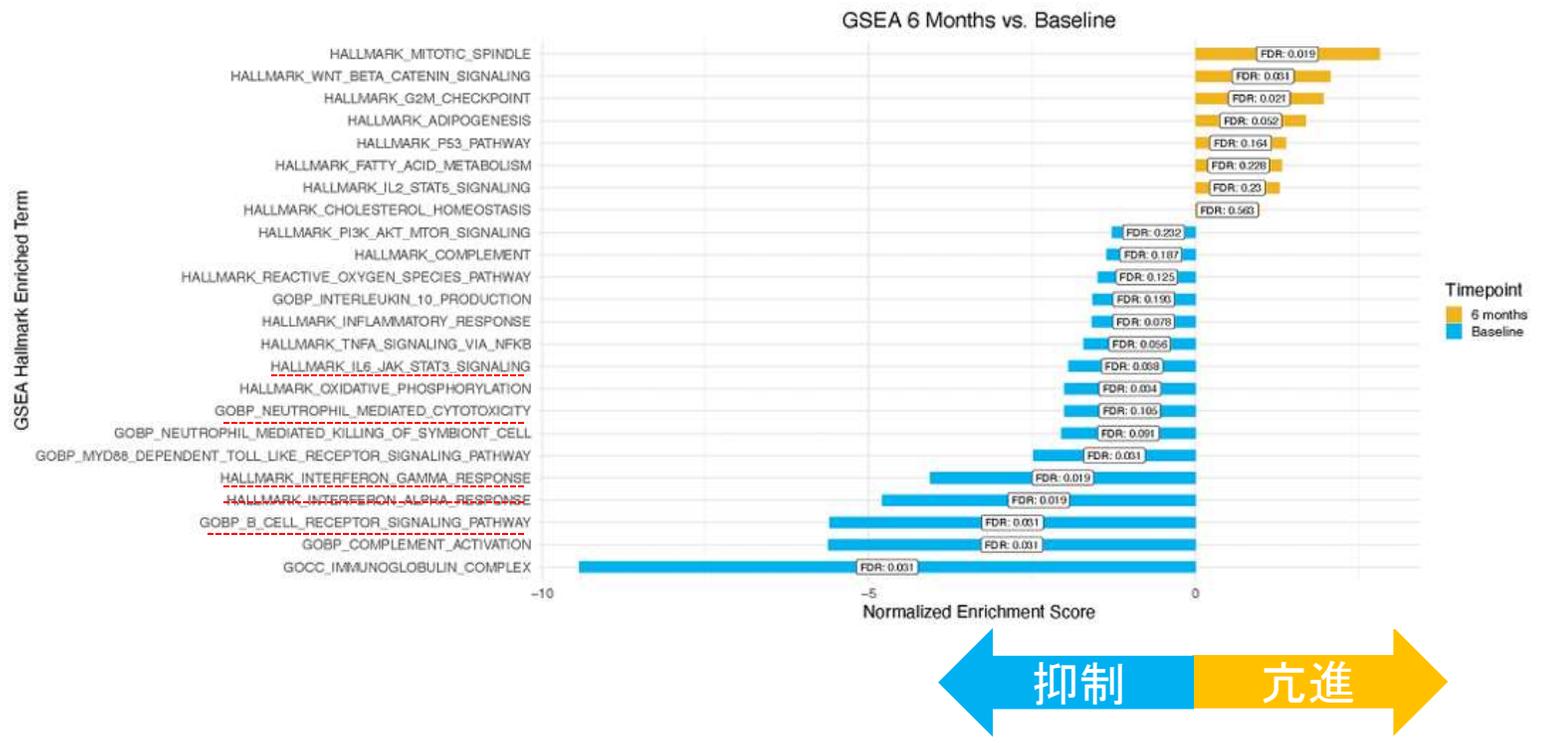
- BaselineのSampleが得られたのは58例
- Baseline、BEL開始6m後ともにSampleが得られたのは45例
- Baselineは58例中56例(96.6%)が女性、年齢は46.7歳
- BEL開始までの罹病期間は5.9年
- **関節炎、皮疹が多い**
- 6m後のSRI-4: 31例(53.4%)
LLDAS: 31例(53.4%)

BEL: B cell, Type I/II IFN, IL-6/STAT3, 好中球の活性化経路の遺伝子発現を抑制



- BLM開始6か月後の遺伝子発現を治療開始前と比較
- 1,121DEGs(発現変動遺伝子)

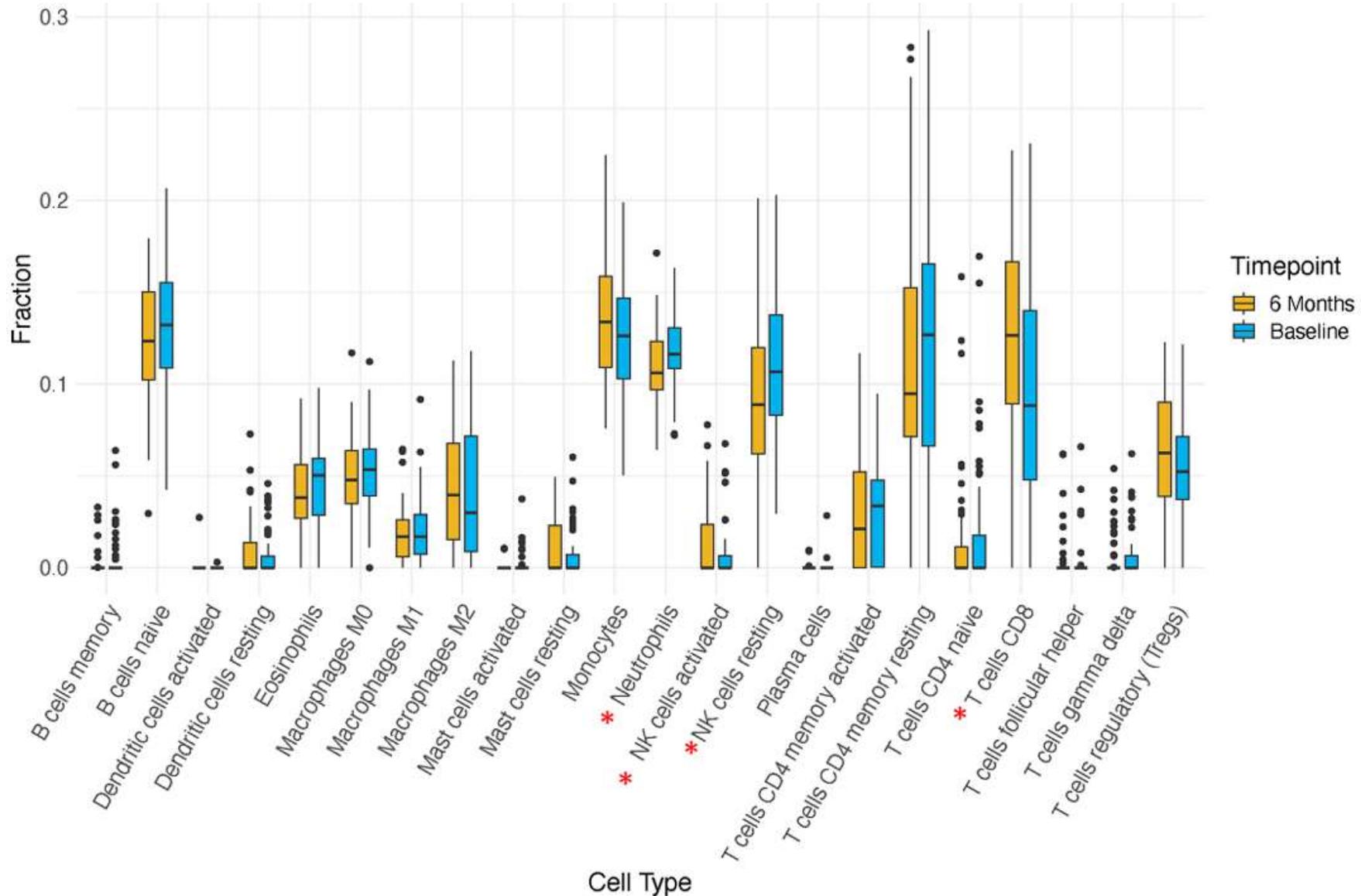
GSEAによるenrichment解析



- B cellを介した反応、TypeI/II IFN、IL-6/STAT3経路、好中球活性化経路の遺伝子発現をBELは抑制

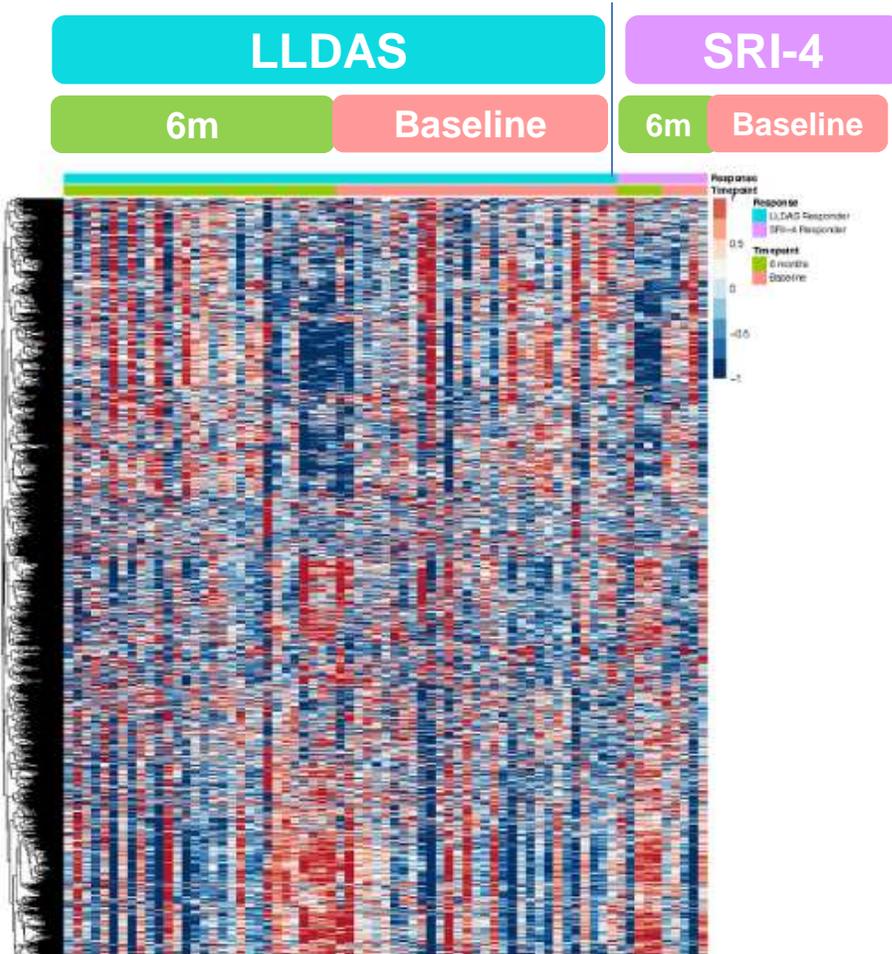
GSEA: Gene Set Enrichment Analysis

Deconvolution analysis: BELによる免疫細胞の増減を計算推定した解析



BELにより好中球が減少、CD8 T cellが有意に増加

LLDAS: SRI-4に比較して炎症性経路の抑制と関連



- 治療開始前を基準としてBEL開始6か月後の遺伝子発現をLLDASとSRI-4で比較
- 1,253DEGs

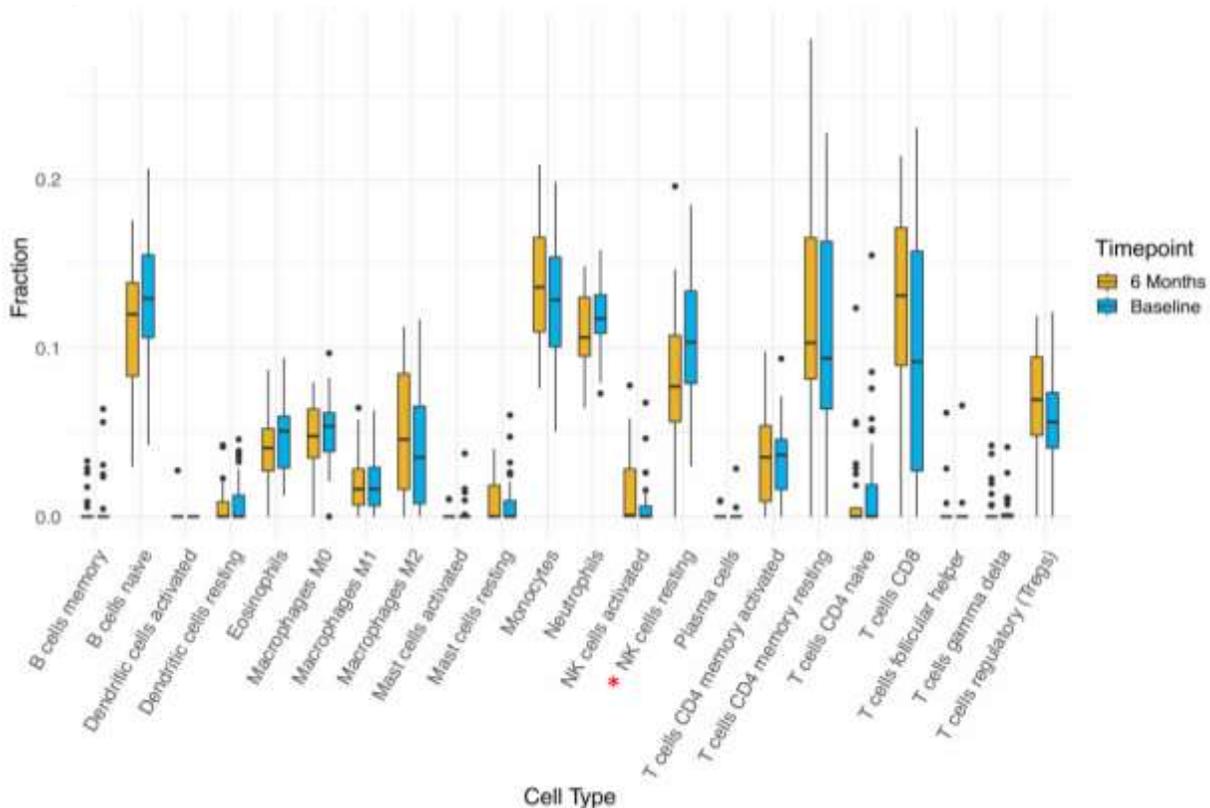
GSEAによるenrichment解析



- LLDAS: Type I/II IFN、補体の活性化、IL-6経路、B cellを介した反応の抑制、IL-2経路の亢進と関連
- SRI-4: B cell遺伝子の抑制との相関↓、IL-6経路の亢進と関連

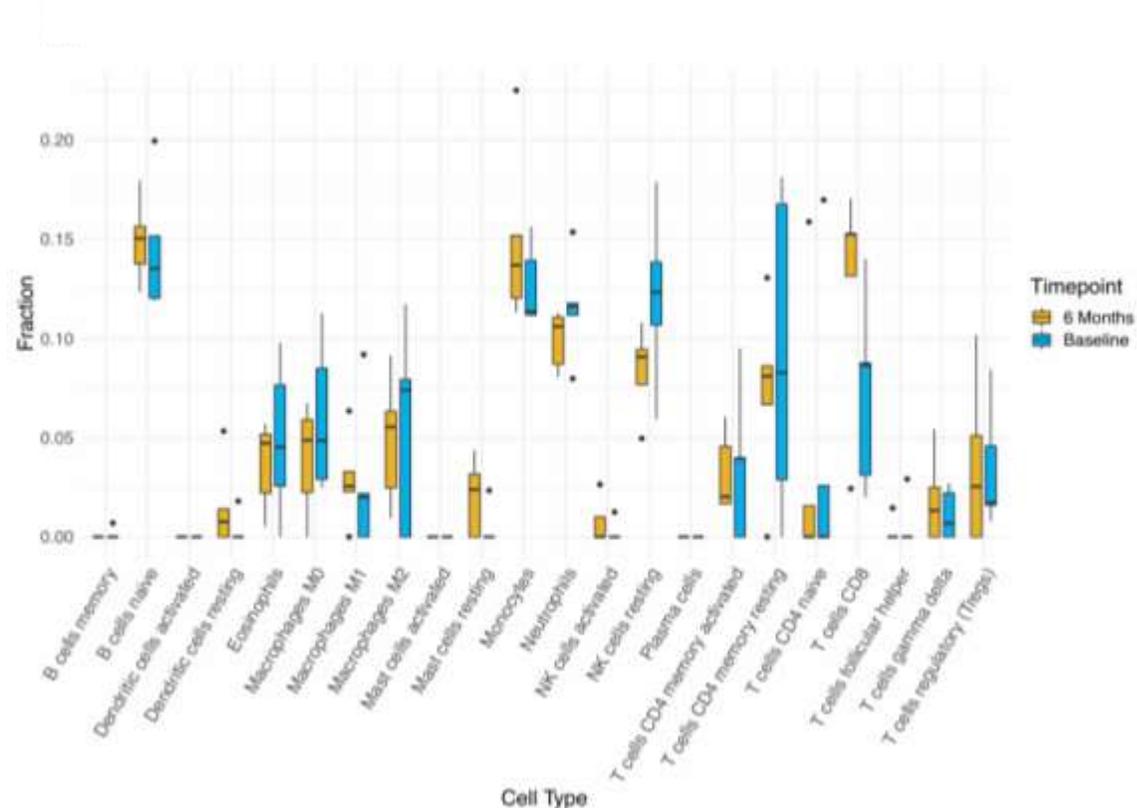
LLDASとSRI-4の場合におけるDeconvolution analysis

LLDAS



- LLDASの場合
NK cellがBELによる治療で有意に減少

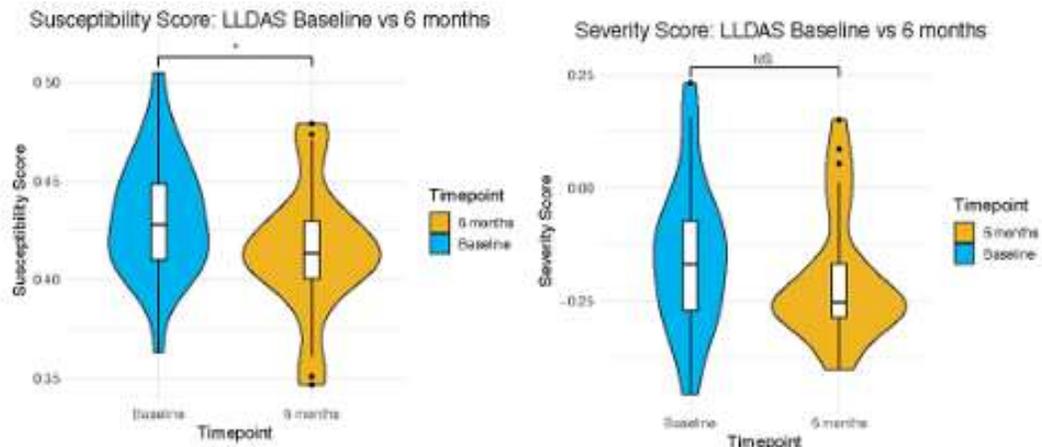
SRI-4



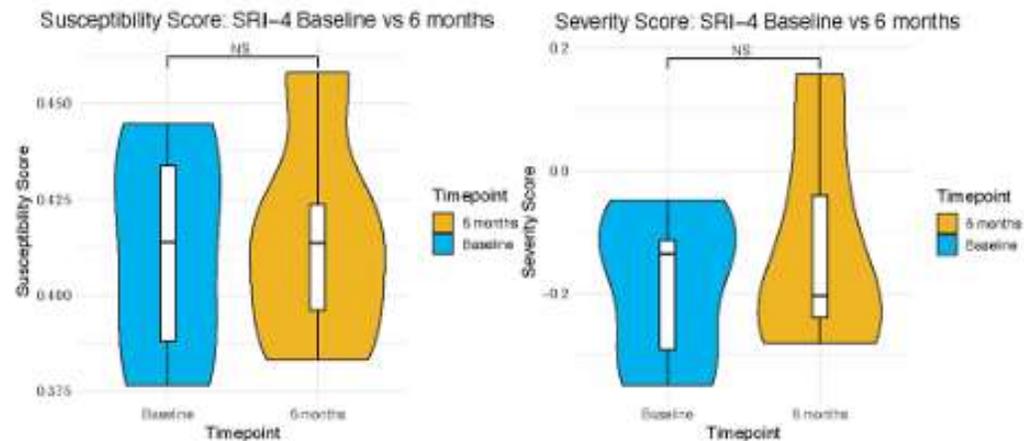
- SRI-4の場合
治療開始前と6か月後で有意な違いはなし

LLDAS: Susceptibility signatureはBELによる治療で低下

LLDAS



SRI-4



- Susceptibility signature
治療後SLEのcSLEDAI-2K=0の症例で発現する
2,726DEGs
- Severity signature
SLEの重症度にかかわる3,690DEGs

Ann Rheum Dis 2019; 78: 1079-89.

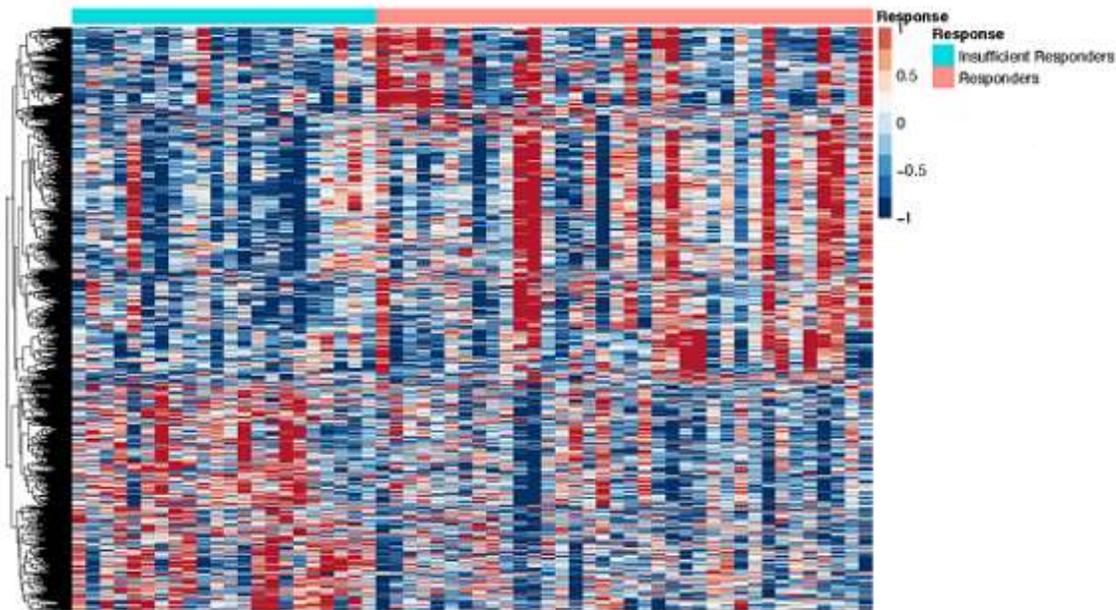
- LLDASの場合
Susceptibility signatureがBELによる
治療で有意に低下

- SRI-4の場合
いずれも有意差なし

BELの治療反応がよい症例: 好中球の活性化、Type I IFN、パターン認識受容体がenrich

治療反応が不十分

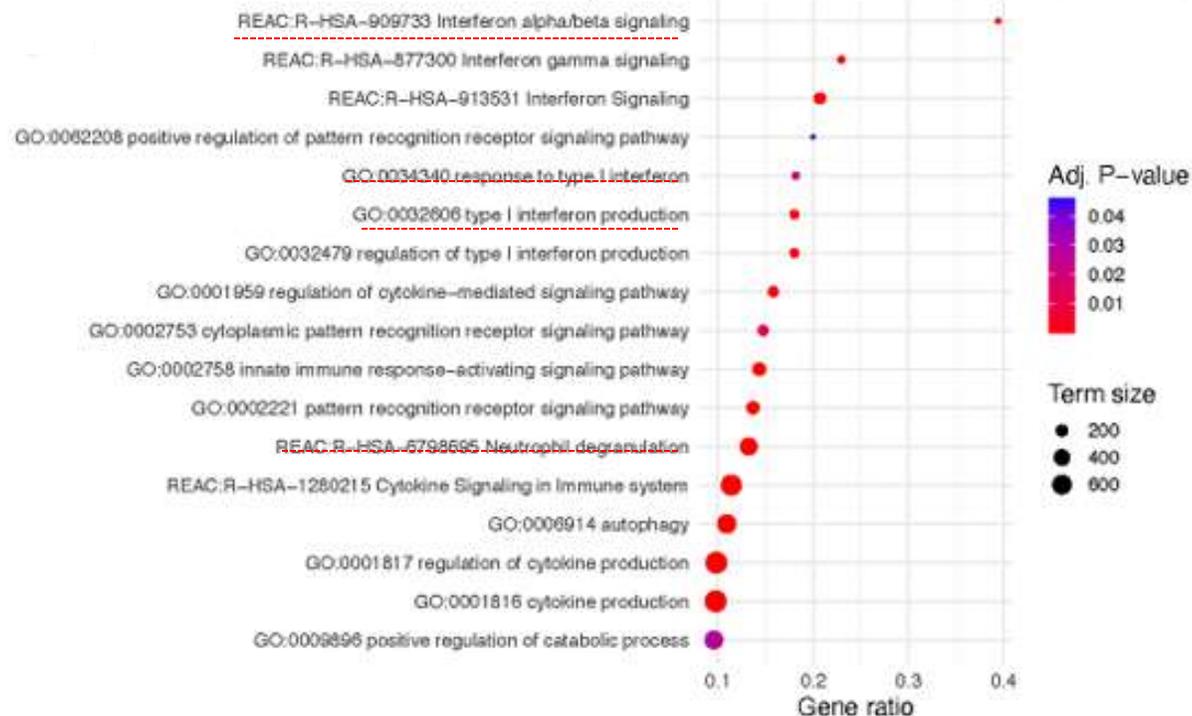
治療反応がよい



- BLMによる治療反応が良い場合と治療反応が不十分な場合で治療開始前の遺伝子発現を比較

• 1,610 DEGs

DEGs Responders vs Insufficient Responders (Baseline)

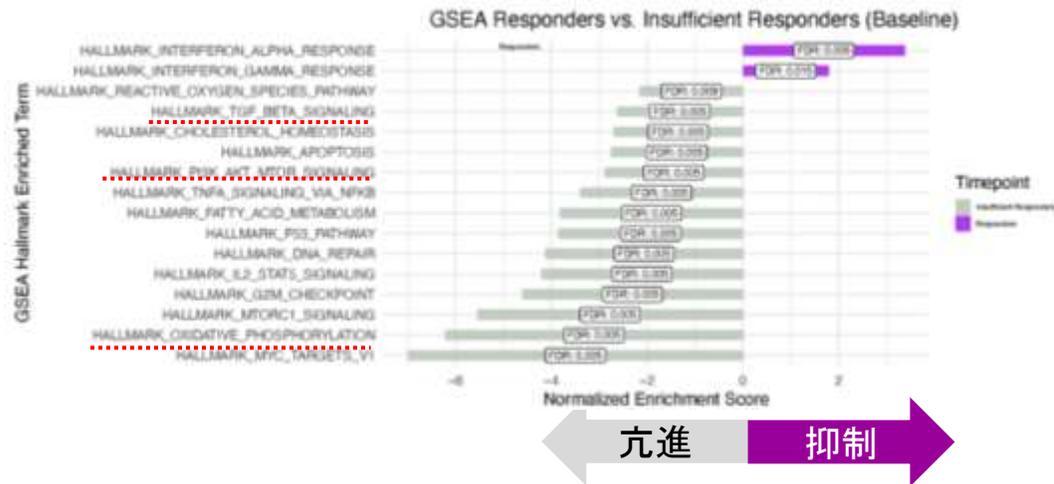


GSEAによるenrichment解析

- BELによる治療反応がよい症例
好中球の活性化、Type I IFN、パターン認識受容体が有意にenrichされている

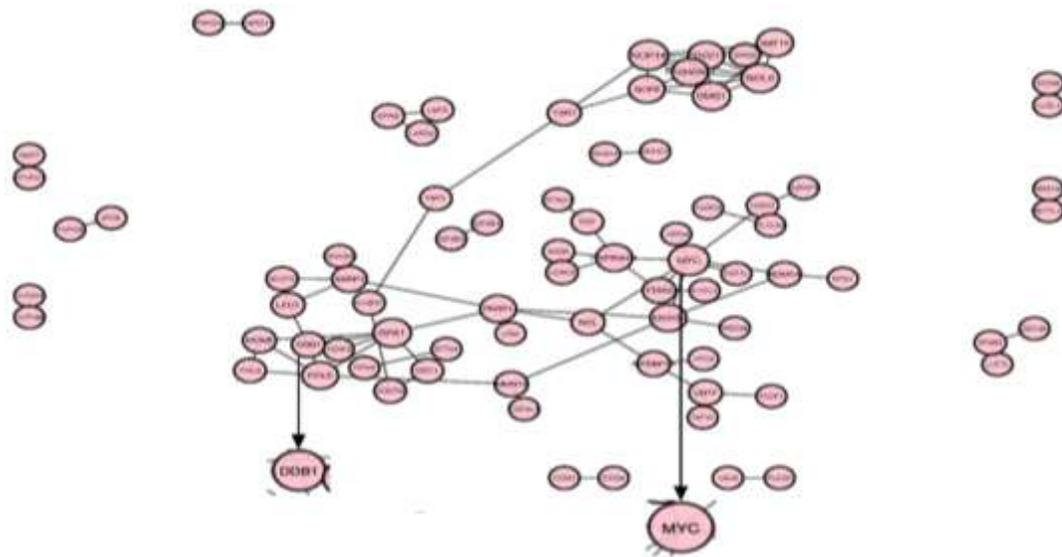
BELの治療効果が不十分な場合に関与する因子

GSEAによるenrichment解析

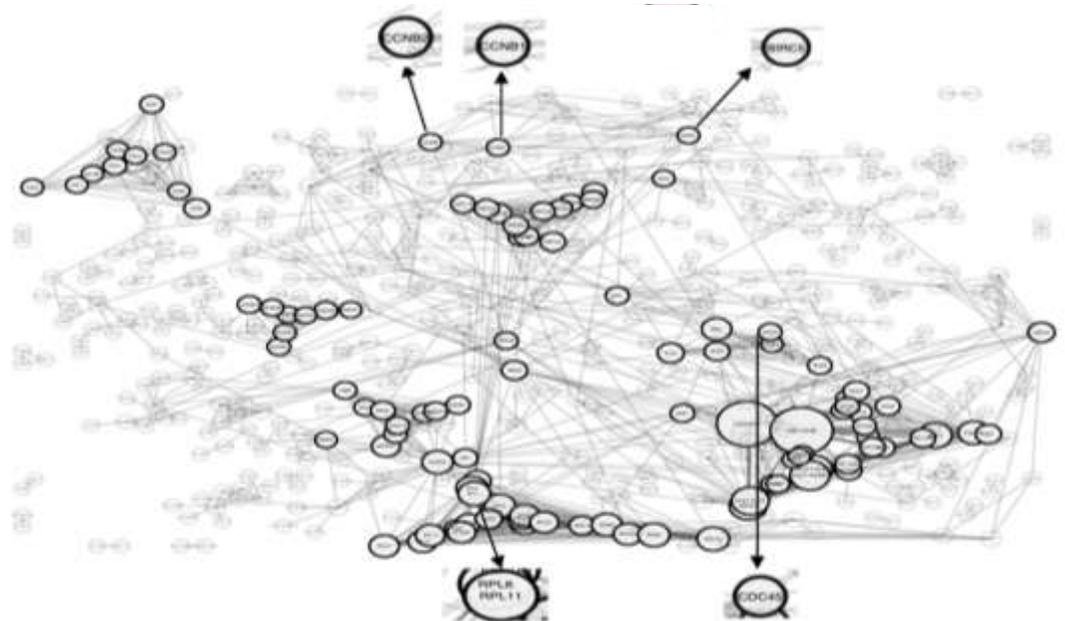


• BELの治療効果が不十分な場合にenrichしている経路
細胞周期チェックポイント、PI3K/Akt/mTOR経路、酸化リン酸化、TGFβ経路

• CCNB2、CCNB1、BIRC5、DDB1を含む
周期チェックポイント、アポトーシス制御、DNA損傷応答(DDR)に関連



Pinkのモジュールの蛋白相互作用



Grayのモジュールの蛋白相互作用

CCL4L2、CARD10、MMP15、KLRC12などの50の遺伝子modelが臨床効果を予測

Prediction: response to belimumab	
Best model	neural network model
Predictors	50 genes
Accuracy	69% (95% CI 0.41-0.89)
Sensitivity	60%
Specificity	84%

- 機械学習(ML: Machine Learning)

Training set 70%

Validation set 30%

- Training set

臨床効果を予測する50遺伝子のmodel

→Best model: **Neural network model**

CCL4L2: 免疫細胞の遊走を制御

CARD10: NF- κ Bやc-JunのN末端のkinaseの経路を活性化

MMP15: 細胞外マトリックス再形成に関連

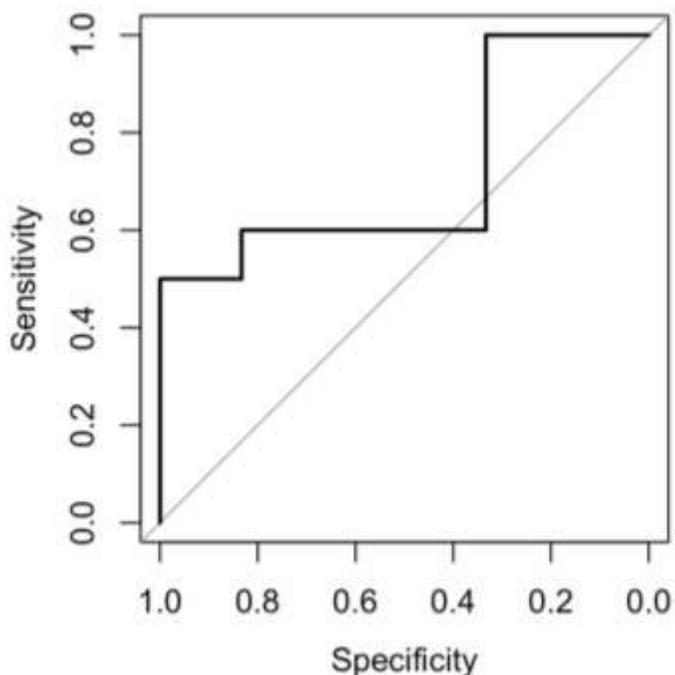
KLRC12: NK cellに関連

- Validation set

感度: 60%

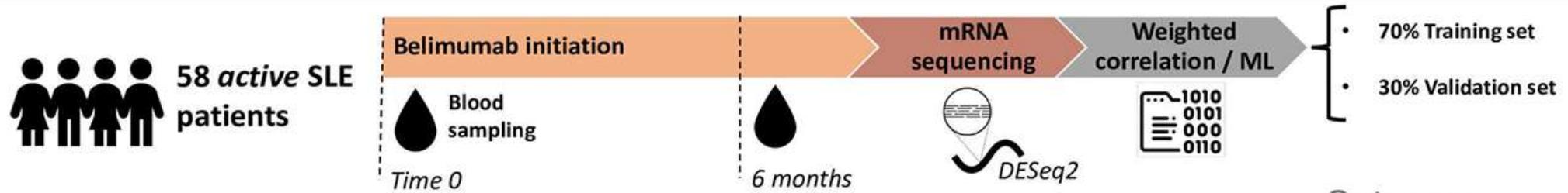
特異度 84%

精度 69%



結果のまとめ

Mechanistic basis for the disease-modifying effects of belimumab in SLE and molecular predictors of early response: Peripheral blood transcriptome analysis implicates the innate immunity and the DNA damage response



Outcomes

6-month belimumab transcriptome changes

Downregulation of humoral and innate immunity

- 1,121 DEGs ($p < 0.05$)
- ↓ B cell mediated responses
- ↓ Type I & II interferon, IL-6 /STAT3 signaling signatures

Treatment effect on responders

LLDAS (53.4%)

- 'Response-induction' signature
- Downregulation of SLE susceptibility & severity signature
- ↓ Type I & II interferon signaling, Complement activation, IL-6 pathway, B cell mediated responses
- ↑ IL-2 signaling pathway

SRI-4

- Less profound humoral immunity downregulation
- ↑ IL-6 pathway

Transcriptome comparison to non-responders

LLDAS attainment correlated with:

- Deregulation of **neutrophil degranulation** pathways, **type I interferon** signaling and **cytokine** production
- **ML model** achieves **69% accuracy**, **60% sensitivity** and **84% specificity** in response status prediction

Discussion

- BELはIL-2/STAT5経路の亢進に伴い、SLEの疾患活動性と相関するType I/II IFN経路の遺伝子発現を抑制
- LLDASはSRI-4 responderより炎症系経路の遺伝子発現を抑制
→LLDASはSLEの病因と関連する経路の改善と関連する可能性
- BELの治療効果を予測する分子モデルができた
- BELの治療反応が不十分な場合
酸化リン酸化やmTOR経路、DDR経路の遺伝子発現亢進
→ミトコンドリア障害、酸化還元反応の障害に関連する酸化ストレスによりDNA損傷が増加

Limitation

- 全血の検体でRNA sequenceを行っている点
- 機械学習でBELの治療反応を予測するモデルを作成した際に、validationのサンプルサイズが小さい点