

## PROEFSCHRIFTEN

# Clinical and Experimental Interventions in Psoriasis

A.J. Onderdijk

*Aios, afdeling Dermatologie, Erasmus MC, Rotterdam*

*Correspondentieadres:*

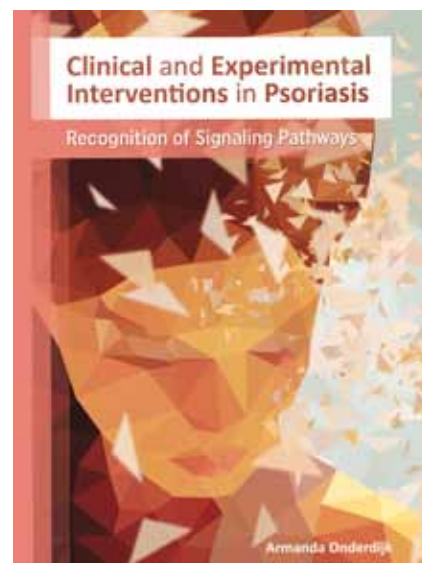
*Dr. Armanda J. Onderdijk*

*E-mail: a.onderdijk@erasmusmc.nl*

Op 25 september 2015 promoveerde Armanda Onderdijk aan het Erasmus Medisch Centrum Rotterdam op haar proefschrift getiteld: *Clinical and Experimental Interventions in Psoriasis*. Haar promotoren waren prof. dr. E.P. Prens en prof. dr. J.D. Laman.

Hoewel psoriasis geen levensbedreigende aandoening is, heeft de ziekte een grote impact op de kwaliteit van leven van patiënten. Door onderzoek is de afgelopen jaren steeds meer duidelijk geworden over de immunologische processen in de huid en dit heeft geleid tot meer en specifiekere behandelingsmogelijkheden. Hoe de vicieuze cirkel van chronische ontsteking in de huid precies in elkaar steekt, is echter niet geheel duidelijk. Het doel van dit proefschrift was om de moleculaire pathways verder te ontrafelen door klinisch en experimenteel onderzoek.

Het is bekend dat psoriasis kan worden uitgelokt door verschillende omgevingsfactoren, waaronder mechanische beschadiging van de huid (ook wel het koebnerfenomeen genoemd), medicijnen (antimariatabletten, lithium,  $\beta$ -adrenerge antagonisten, systemische corticosteroïden en indomethacin) en infecties. Deze omgevingsfactoren leiden in erfelijk belaste personen tot de productie van antimicrobiële peptides, die in de huid complexen vormen met eigen DNA of eigen RNA. Deze complexen zorgen ervoor dat de plasmacytoïde dendritische cellen geactiveerd worden en type I- $\text{INF-}\alpha$ , IL-12 en IL-23 gaan produceren. Innate lymfoïdecellen (ILC), die IL-22 produceren en (de nog omstreden) IL-17A producerende  $\gamma\delta$  T-cellen zijn in grote aantallen aanwezig in lesionale psoriasis-huid. Deze cellen spelen waarschijnlijk een belangrijke rol bij de initiatie van psoriasis.  $\text{INF-}\alpha$ , IL-12 en IL-23 zorgen voor de differentiatie van CLA<sup>+</sup> Th1/Th17-cellen, die vanuit de lymfeklieren naar de huid migreren. In de huid zorgen IL-22, de IL-24-familie, IL-17A en waarschijnlijk ook andere cytokines die geproduceerd



*Figuur 1. Cover van het proefschrift.*

worden door ILC,  $\gamma\delta$  T-cellen, Th1, Th17 en waarschijnlijk de LL-37-specifieke T-cellen voor activatie en proliferatie van de keratinocyten. Dit resulteert in de productie van nog meer pro-inflammatoire mediators en meer antimicrobiële peptides, die niet alleen geproduceerd worden door T-cellen, maar ook door macrofagen, neutrofielen, keratinocyten en fibroblasten. Uiteindelijk leidt dit tot een vicieuze cirkel van inflammatie en de klinisch karakteristieke erythemasquameuze plaques.

## NEUROGENE INFLAMMATIE

Bovengenoemd scenario omvat echter niet de rol van het zenuwstelsel of neurogene inflammatie bij het ontstaan van psoriasis. Er is weinig onderzoek gedaan naar de rol van neurogene inflammatie en de rol die zenuwen spelen bij psoriasis. Onze interesse hierin werd gewekt door een patiënt die door dermatoloog dr. J. Boer van het Deventer Ziekenhuis naar ons werd verwezen. Bij deze patiënt verdween de psoriasis lokaal aan één arm na perifere zenuwshade veroorzaakt door herhaaldelijke operaties in verband met een gecompliceerde botbreuk van zijn arm. Andere aanwijzingen die de rol van neuro-immunologische factoren bij het

ontstaan van psoriasis ondersteunen, zijn: 1) het verdwijnen van psoriasisplaques na iatrogene denervatie door bijvoorbeeld een operatie, 2) de vaak symmetrische verdeling van plaques over het lichaam, 3) de rol van psychologische stress bij exacerbaties en 4) de toename van de zenuwdichtheid en neuropeptides in lesionale huid.

De genexpressie in de gedenerveerde huid van bovengenoemde patiënt werd vergeleken met de normale contralaterale zijde. We constateerden een verlaagde genexpressie van genen die betrokken zijn bij de huidbarrière en genen betrokken bij IFN-signalering zoals *interferon alpha-inducible protein 27 (IFI27)* en *interferon regulatory factor 9 (IRF9)*. Daarnaast observeerden we een sterke vermindering van de inductie van het koebnerfenomeen. We vroegen ons af of niet alleen de instandhouding van psoriasis, maar ook de initiatie van psoriasis afhankelijk is van een intact perifeer zenuwstelsel. Uit ons onderzoek in het imiquimodgeïnduceerde psoriasis-muismodel, bleek dat denervatie de inductie van psoriasis in dit model sterk remt. De remming ging gepaard met een verlaagde expressie van het neuropeptide calcitonin-gene-related-peptide, een verminderd aantal CD11c<sup>+</sup>- en CD4<sup>+</sup>-cellen en een toename van FOXP3<sup>+</sup>-cellen in de gedenerveerde huid.

Verschillende neuropeptides spelen waarschijnlijk een rol bij psoriasisinflammatie, waaronder vasoactieve intestinale peptide (VIP). We vonden dat een van de receptoren van dit neuropeptide (VPAC1) verhoogd tot expressie komt in lesionale psoriasis-

huid en dat tijdens de behandeling met fumaraten de expressie van deze receptor afneemt. Daarnaast vonden we dat stimulatie van normale huid met IL-17A in vitro leidt tot een verhoogde expressie van VPAC1. Uit onderzoek blijkt dat VPAC1 signalering Th17 activatie medieert. De prominente VPAC1 expressie en verhoogde levels van VIP in psoriasis-huid zouden kunnen bijdragen aan de vicieuze cirkel van inflammatie in psoriasis en deze receptor zou een mogelijk interessant therapeutisch target kunnen zijn.

## BEHANDELINGEN

Fumaraten worden steeds meer gebruikt voor de behandeling van psoriasis. Ze worden echter minder gebruikt dan verwacht op basis van klinische effectiviteit en het relatief gunstige langetermijnbijwerkingenprofiel. Een reden hiervoor zou het deels nog onbekende werkingsmechanisme kunnen zijn. We maakten daarom een vergelijking op basis van RNA-expressieprofielen tussen de gereguleerde genen en pathways in psoriasis-huid tijdens behandeling met fumaraten en etanercept om zo fumarataatspecifieke signaalroutes te kunnen vinden. Responders werden vergeleken met non-responders op fumaraten. Behandeling met fumaraten induceerde specifiek glutathione en Nrf2 *pathway*-genen in lesionale psoriasis-huid. In responders reguleerde fumaraten specifiek de transcriptiefactoren PTTG1, NR3C1, GATA-3 en NFκB1. Deze genen zijn belangrijk voor respectievelijk de normale ontwikkeling van de huid, Th2- en Th17-*pathways*.



Figuur 2. Armanda Onderdijk (midden) met haar paranimfen en promotoren.

**Ustekinumab** is een effectieve biological, die wordt gebruikt bij de behandeling van psoriasis. Ustekinumab neutraliseert IL-12 en IL-23 door binding aan de gedeelde p40-subunit. Op deze manier interfereert ustekinumab met de Th1-en Th17-pathways en de activatie van keratinocyten. Sommige van onze patiënten ondervonden een verminderd koebnereffect van niet-lesionale psoriasis en merkten dat het ontstaan van nieuwe psoriasis-huidafwijkingen verminderde tijdens de behandeling met ustekinumab. We onderzochten of deze klinische observaties verklaard konden worden door verbetering van psoriasisgerelateerde expressie en tapestripreacties in niet-lesionale huid tijdens behandeling met ustekinumab. We analyseerden huidbiopten van niet-lesionale en getapestripte huid van psoriasispatiënten voor en tijdens behandeling. Na vier weken liet *nerve growth factor* een significante reductie zien en waren GATA-3- en IL22RA1-genexpressie significant toegenomen. Deze bevindingen zijn indicatief voor een afgenomen respons van de huid op epidermale triggering. De expressie van de antimicrobiële peptides hBD2, S100A7 en LL-37 op baseline en na tapestrippen bleef gelijk tijdens behandeling. Deze bevindingen laten zien dat ustekinumab-behandeling de psoriasisgerelateerde genexpressie vermindert in niet-lesionale huid, waarbij de huid minder gevoelig wordt voor invloeden van buitenaf (tapestrippen), echter zonder aantasting van de antimicrobiële respons.

Hoewel ustekinumab effectief is, is het een kostbare therapie met minimale maandelijkse kosten van 1.200 euro per patiënt in Nederland. Ondanks de hoge effectiviteit behaalt ongeveer 30% van de patiënten geen PASI-75 verbetering (75% verbetering van de huidafwijkingen). Wanneer de respons op behandeling vooraf voorspeld kan worden, zou dit kosten en tijd besparen waarin patiënten niet optimaal behandeld worden. We beoogden markers te identificeren en cytokineprofielen vast te stellen die kenmerkend zijn voor een respons op behandeling. Serummonsters werden afgenomen voorafgaand aan de start van de behandeling. Patiënten die achteraf een goede respons lieten zien op de behandeling werden vergeleken met patiënten die geen goede respons lieten zien op de behandeling. Het serum werd onderzocht met een cytokinearray en de resultaten werden geanalyseerd met *Ingenuity*

*Pathway Analysis*. Een geactiveerde IFN type I/II-signatuur in het serum van patiënten voor de start van de behandeling was geassocieerd met een succesvolle respons op de behandeling. Daarbij werd een opregulatie van IL-12p40, IFN- $\beta$ , IFNAR2, IL-1 $\beta$ , IL-20, VEGF en IL36B gezien. Deze set van genen zou een predictieve biomarkerset kunnen zijn voor een positieve respons op behandeling. Een beperking van deze studie is dat er een kleine groep patiënten werd onderzocht. Desondanks geeft de studie een interessante setup voor toekomstige experimenten in een groter cohort.

Psoriasispatiënten die werden behandeld in een klinische trial met recombinant humaan **interleukine 4 (IL-4)** lieten een duidelijke verbetering zien met een PASI-reductie tot 68% in zes weken. Momenteel wordt IL-4 niet gebruikt bij de behandeling van psoriasis, omdat er andere biologicals beschikbaar zijn die specifiekere aangrijpen in de pathogenese van psoriasis. Deze IL-4-geïnduceerde verbetering werd aanvankelijk gelinked aan effecten op de Th1/Th2-balans in het dermale infiltraat. Later werd aangetoond dat IL-4-behandeling de cutane expressie van IL-23p19 en IL-17 reduceert en dat IL-4 de expressie van IL-1 $\beta$ , IL-6 en IL-23 in dermale dendritische cellen remt. Effecten van IL-4 op het epidermale compartiment van psoriasislaesies werden niet eerder onderzocht. We vonden dat IL-4 zorgt voor een shift weg van Th1/Th17-inflammatie, waarbij de veranderde balans in psoriasis-huid van pro-inflammatoire cytokines en groeifactoren in het epidermale compartiment wordt hersteld. Daarnaast remde IL-4 de IL-1 $\beta$ - en IL-17A-geïnduceerde expressie van antimicrobiële peptides. De klinische effecten van recombinant humaan IL-4 worden waarschijnlijk ook niet alleen verklaard door effecten van IL-4 op het dermale infiltraat, maar ook door effecten op het epidermale compartiment. Door de inhibitie van IL-1 $\beta$  en IL-6 grijpt IL-4 vroeg aan in de immunologische cascade in psoriasis. Concluderend kunnen we zeggen dat de interactie tussen genen, omgevingsfactoren en (neuro)immunologische factoren uiteindelijk leidt tot psoriasis. In dit proefschrift laten we zowel klinische als experimentele data zien, die ons meer inzicht verschaffen in de (neuro)immunologische mechanismen die een rol spelen in de pathogenese van psoriasis.