

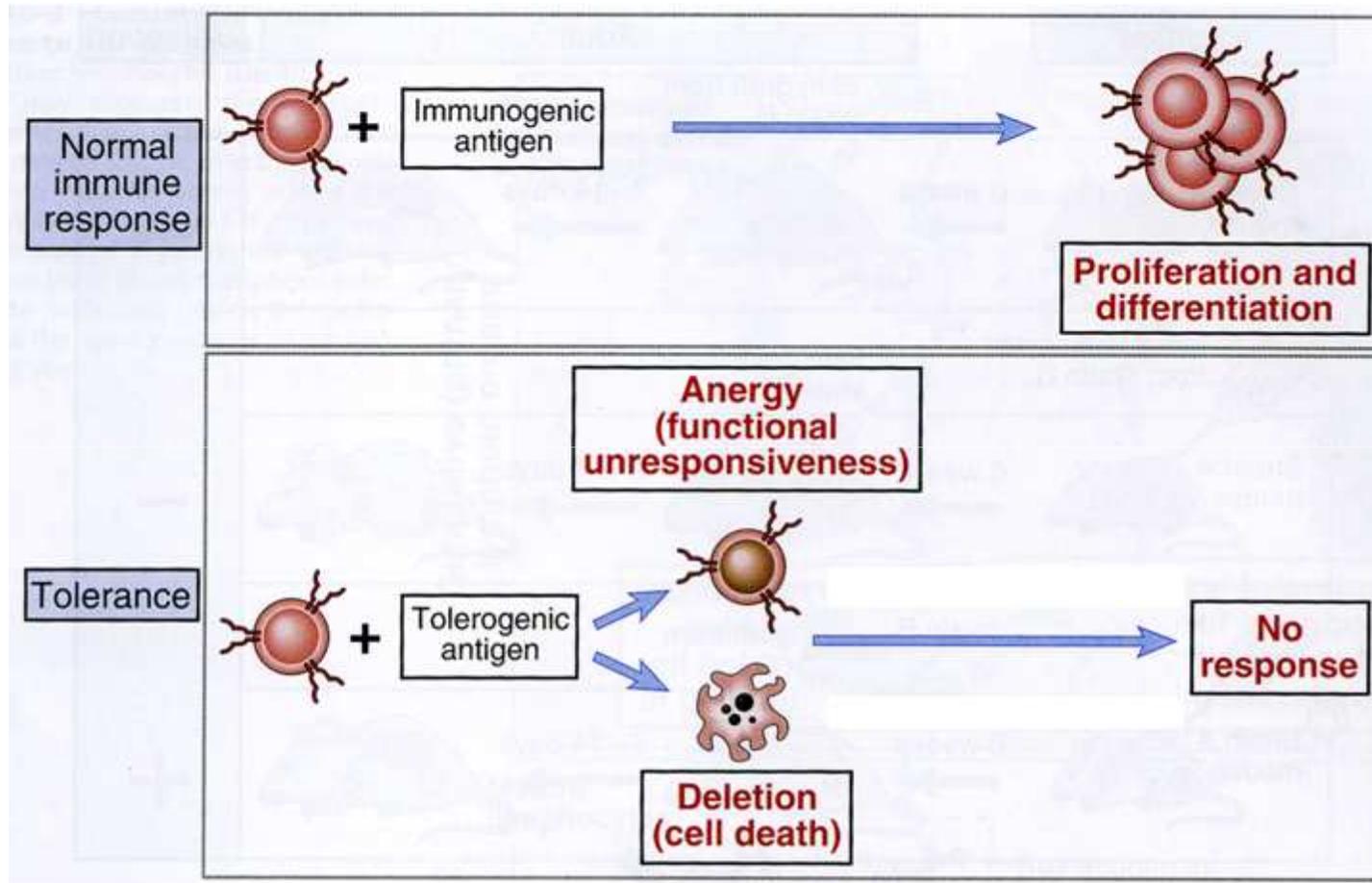
# MECCANISMI IMMUNOLOGICI DI TOLLERANZA NELLA SCLEROSI MULTIPLA

Nuovi markers immunologici

**MARINA SARESELLA**  
Laboratorio di Medicina Molecolare e Biotecnologie  
IRCCS S.M.Nascente  
Fondazione don C.Gnocchi  
MILANO

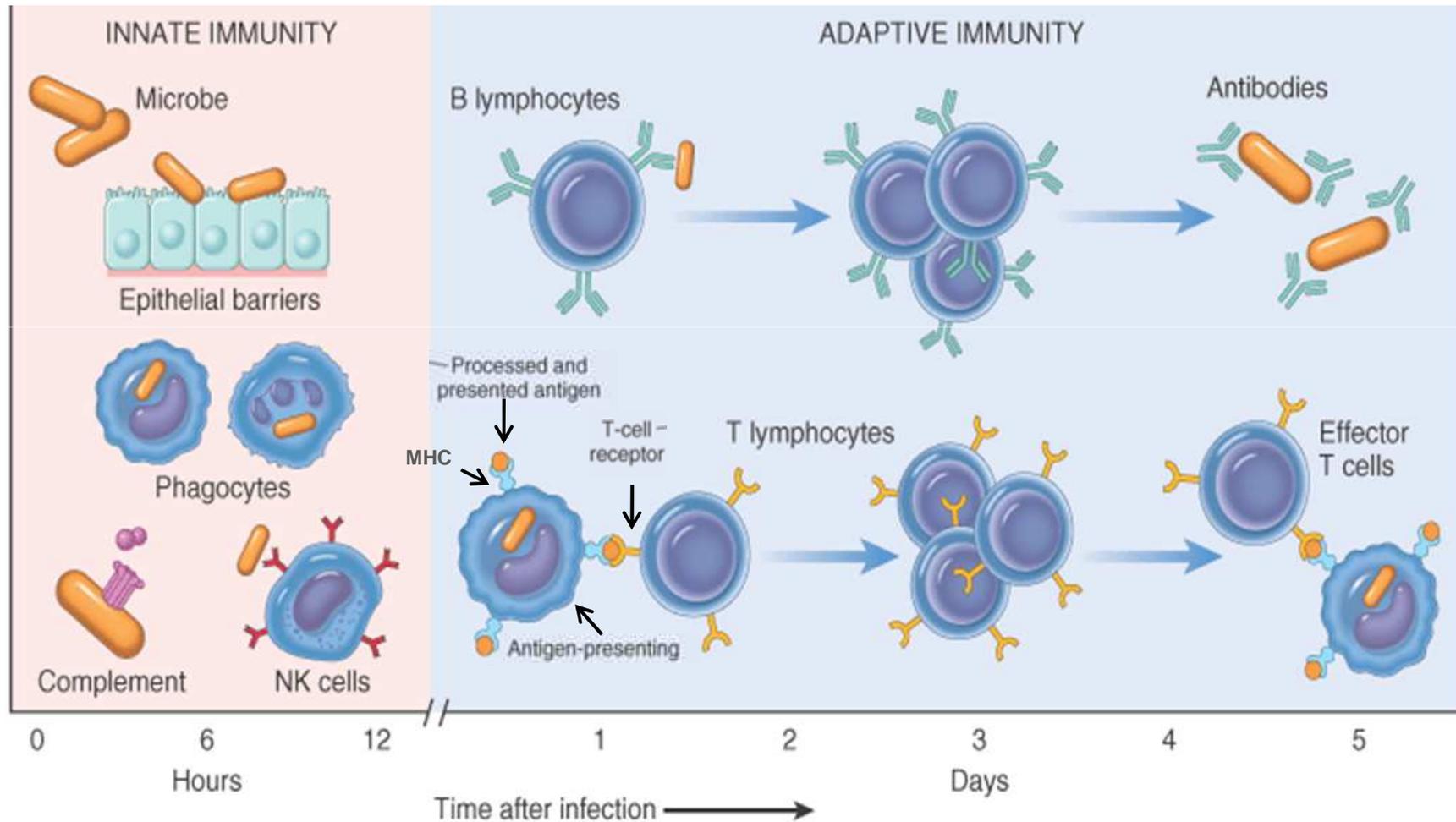
*SCLEROSI MULTIPLA:  
dalla chiarezza diagnostica all'efficacia terapeutica*  
**CAM MONZA**  
giovedì 2 febbraio 2012

# TOLLERANZA vs RISPOSTA IMMUNE

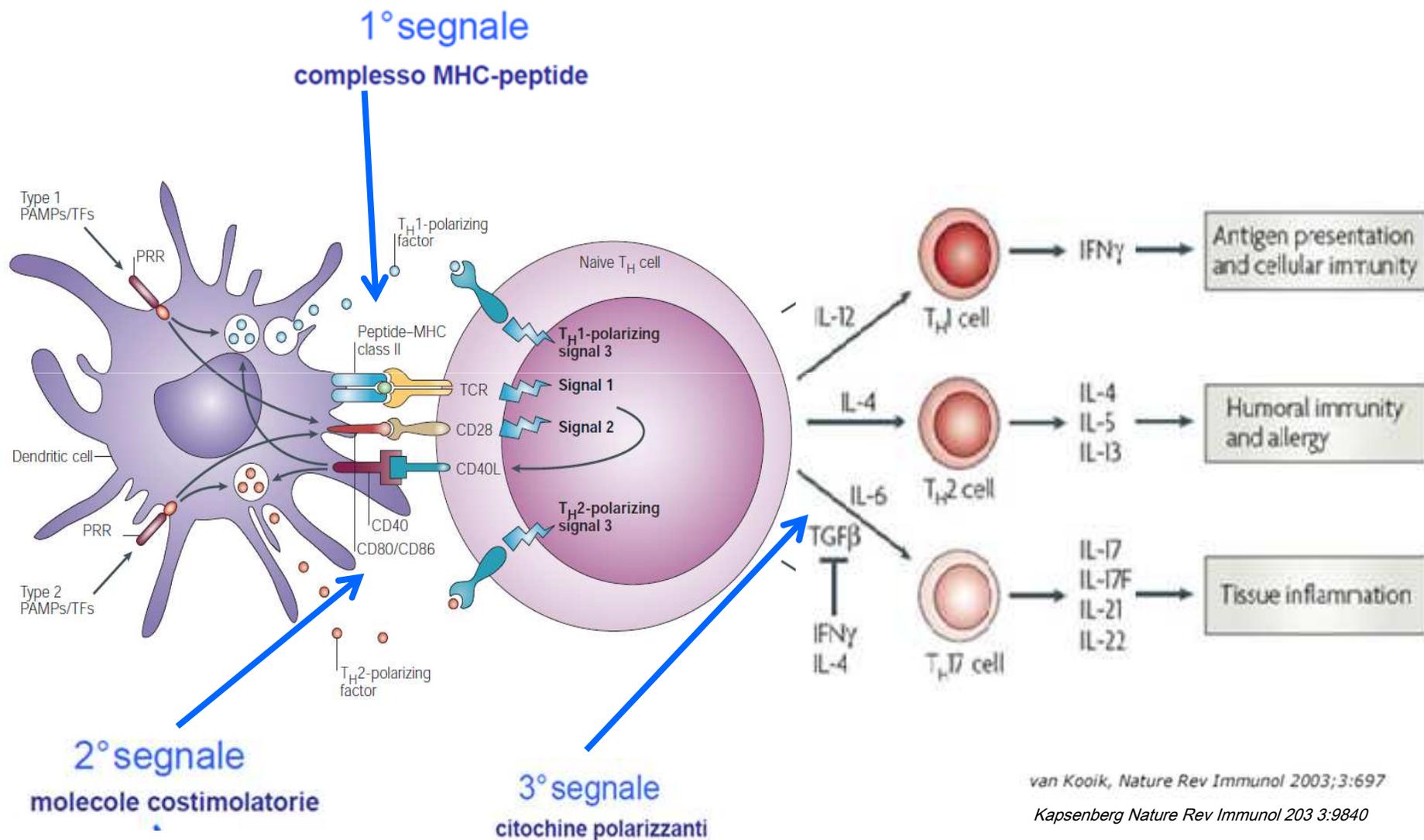


Mancata responsività a specifico antigene

# IMMUNITA' INNATA E ADATTATIVA



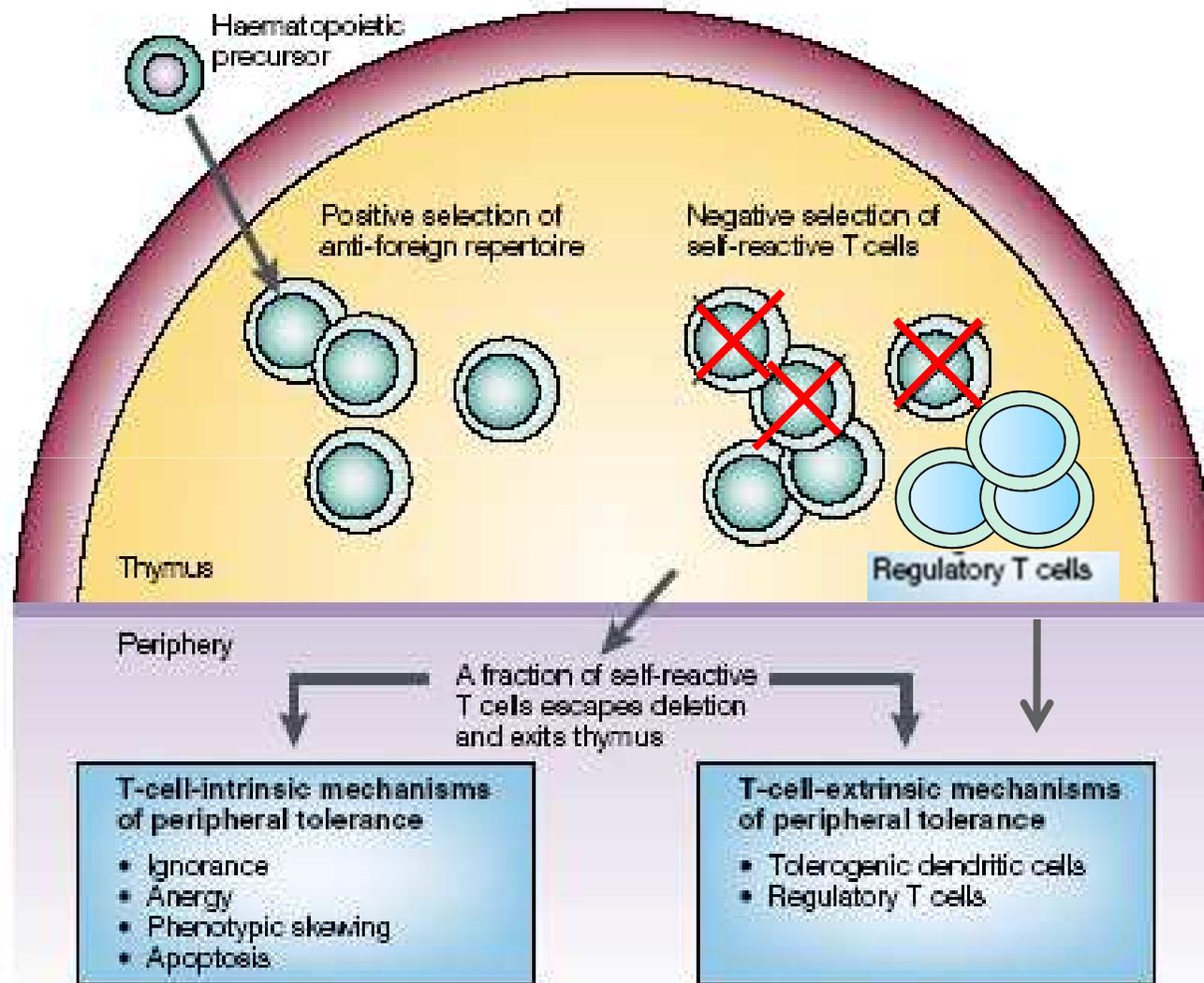
# ATTIVAZIONE RISPOSTA IMMUNE ADATTATIVA



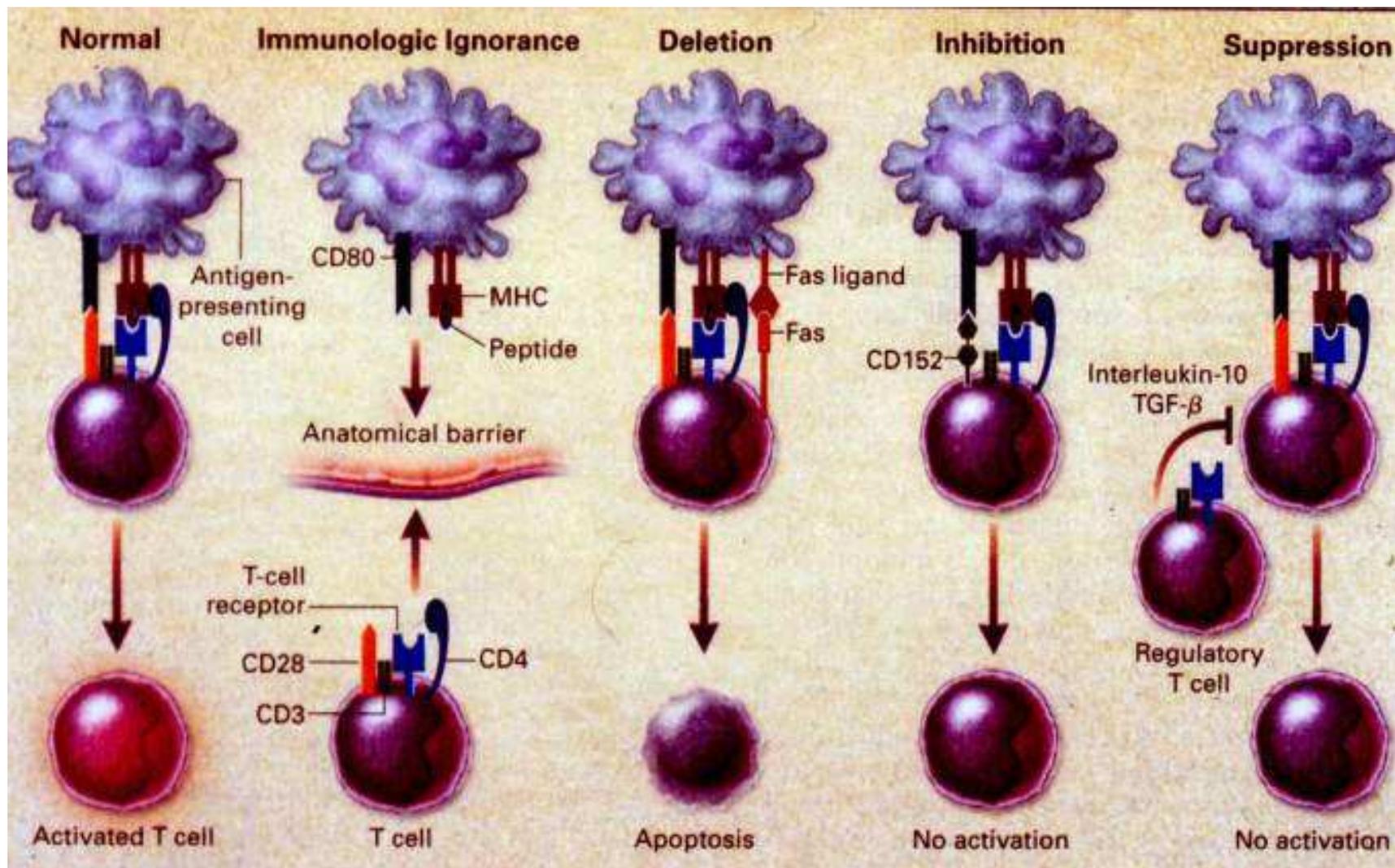
van Kooik, Nature Rev Immunol 2003;3:697

Kapsenberg Nature Rev Immunol 2003;3:9840

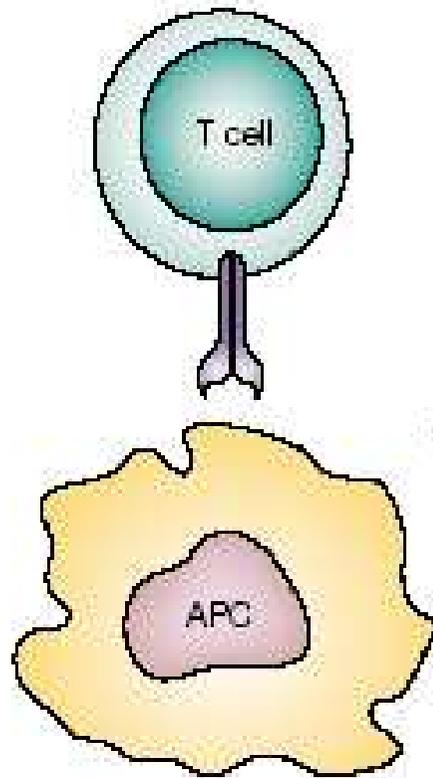
# TOLLERANZA CENTRALE



# TOLLERANZA PERIFERICA

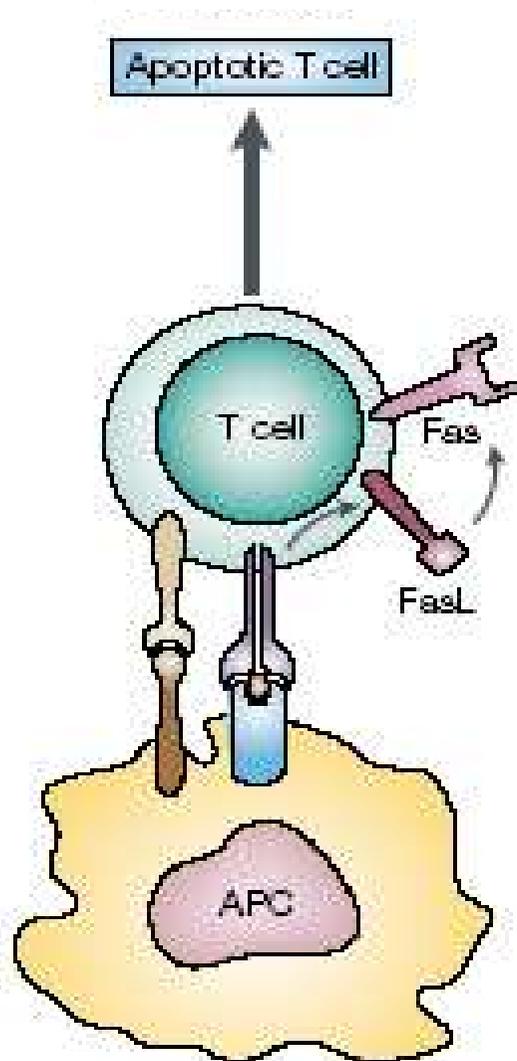


# IGNORANZA



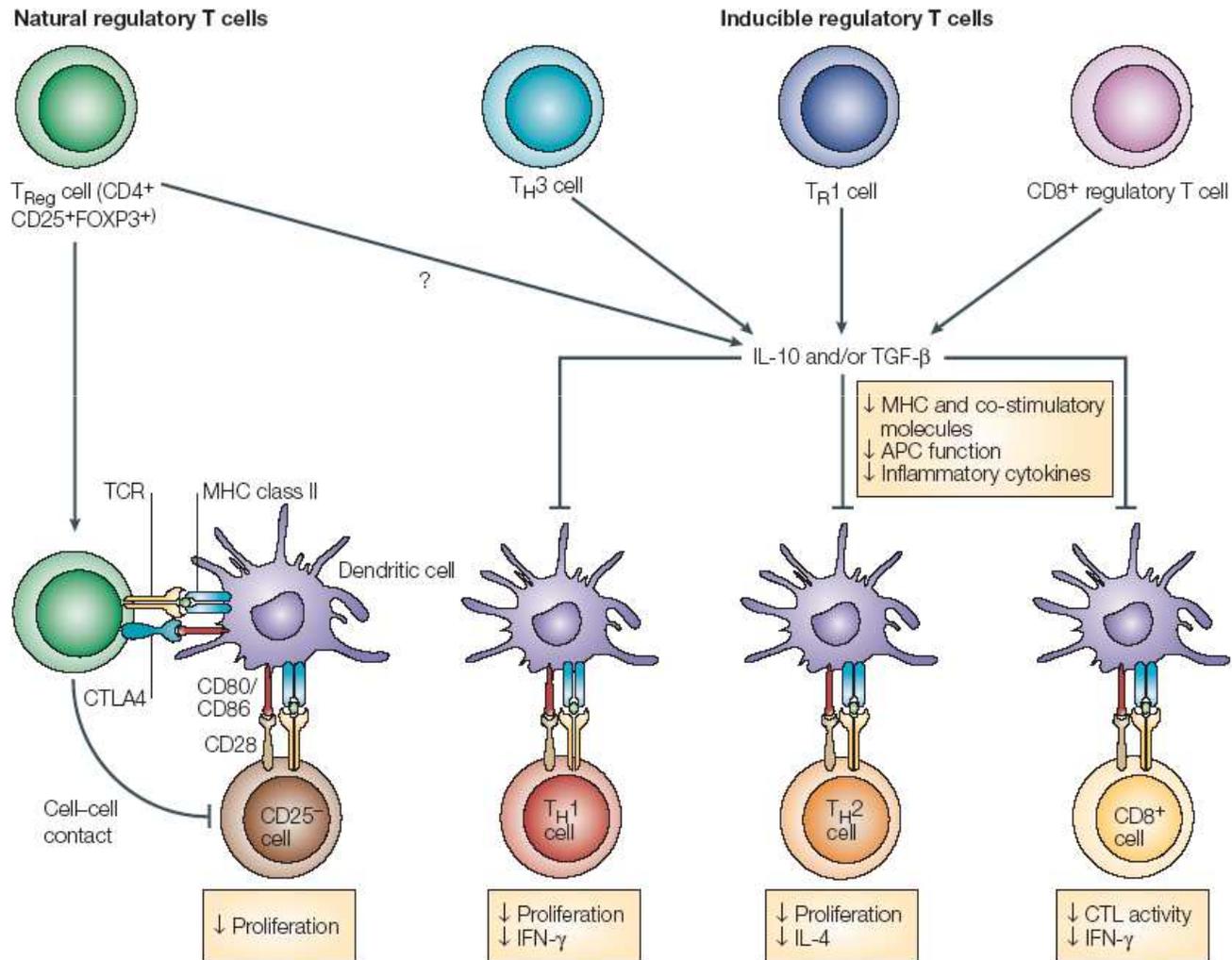
- **SEPARAZIONE FISICA DELL'ANTIGENE**  
(es Barriera Emato encefalica)
- **BASSE CONCENTRAZIONI DI ANTIGENE**
- **ASSENZA DI MOLECOLE COSTIMOLAZIONE**

# MORTE CELLULARE INDOTTA DA ATTIVAZIONE

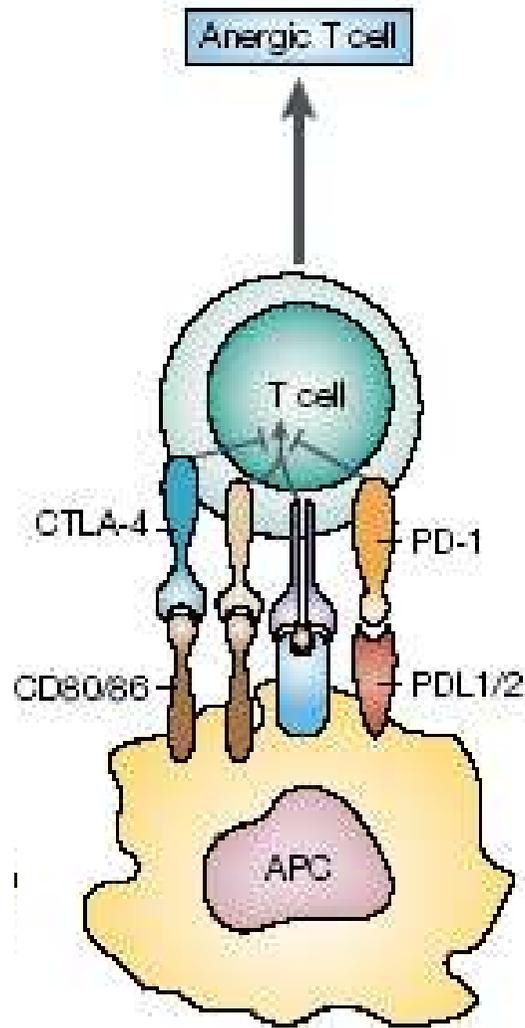


- **Fas/Fas Ligand** presente su linfociti T ripetutamente attivati
- Probabilmente responsabile dell'inattivazione di linfociti T specifici per il self

# T REGOLATORIE



# ANERGIA

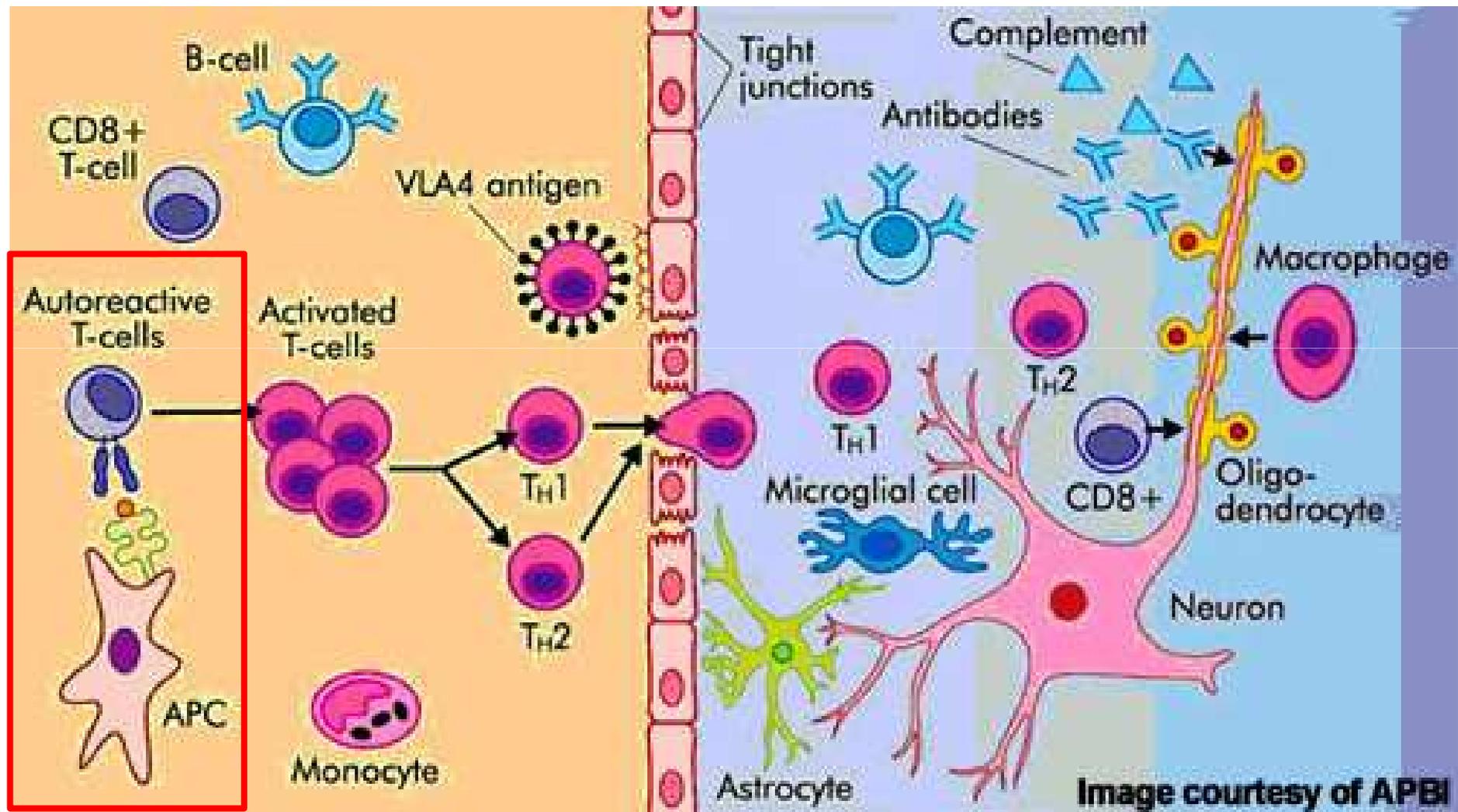


- ASSENZA DI MOLECOLE DI COSTIMOLAZIONE
- LEGAME DI **CTLA-4** CON **B7**
- LEGAME DI **PD-L1** CON **PD-1**

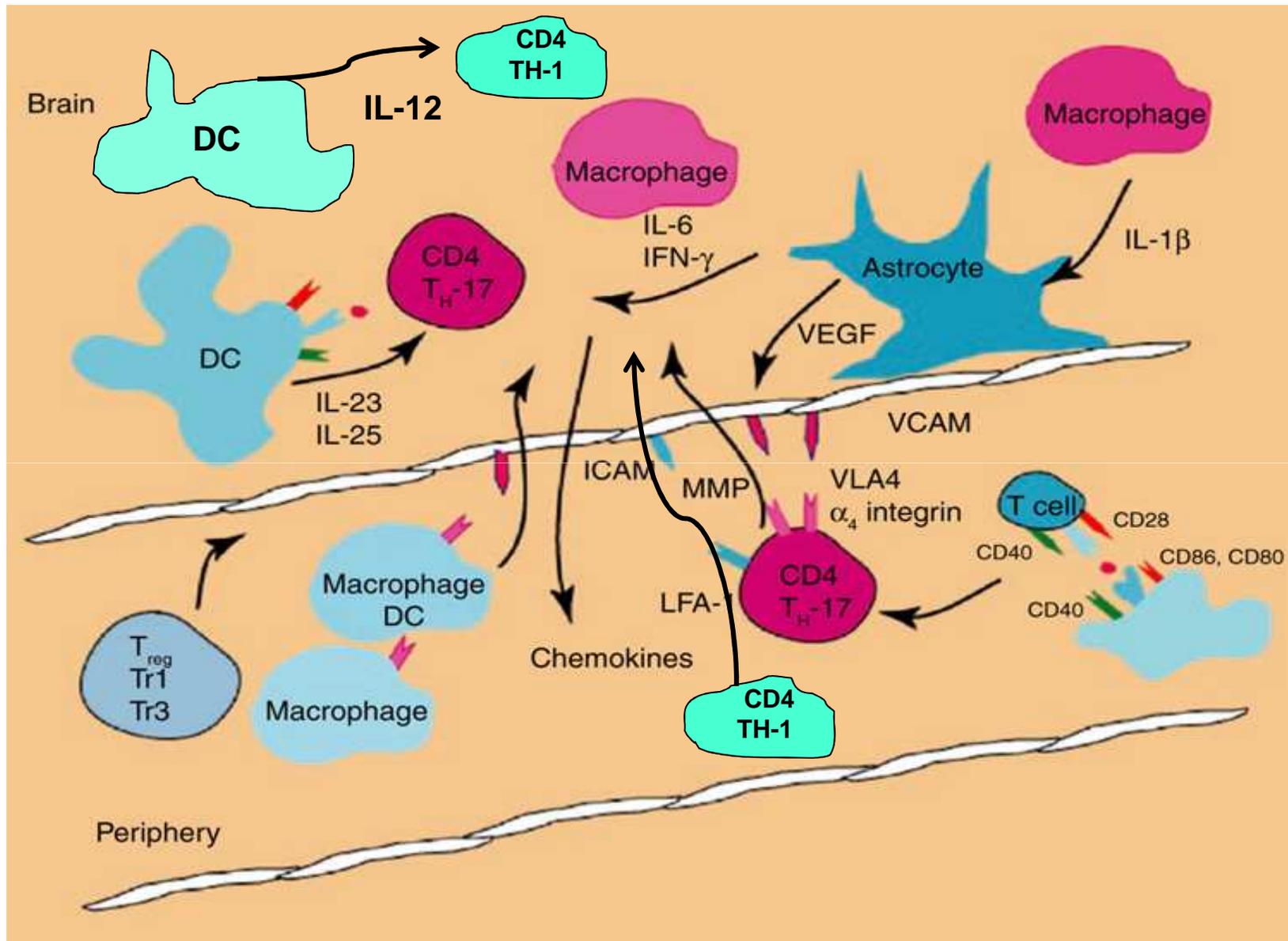
# ATTIVAZIONE LINFOCITI AUTOREATTIVI



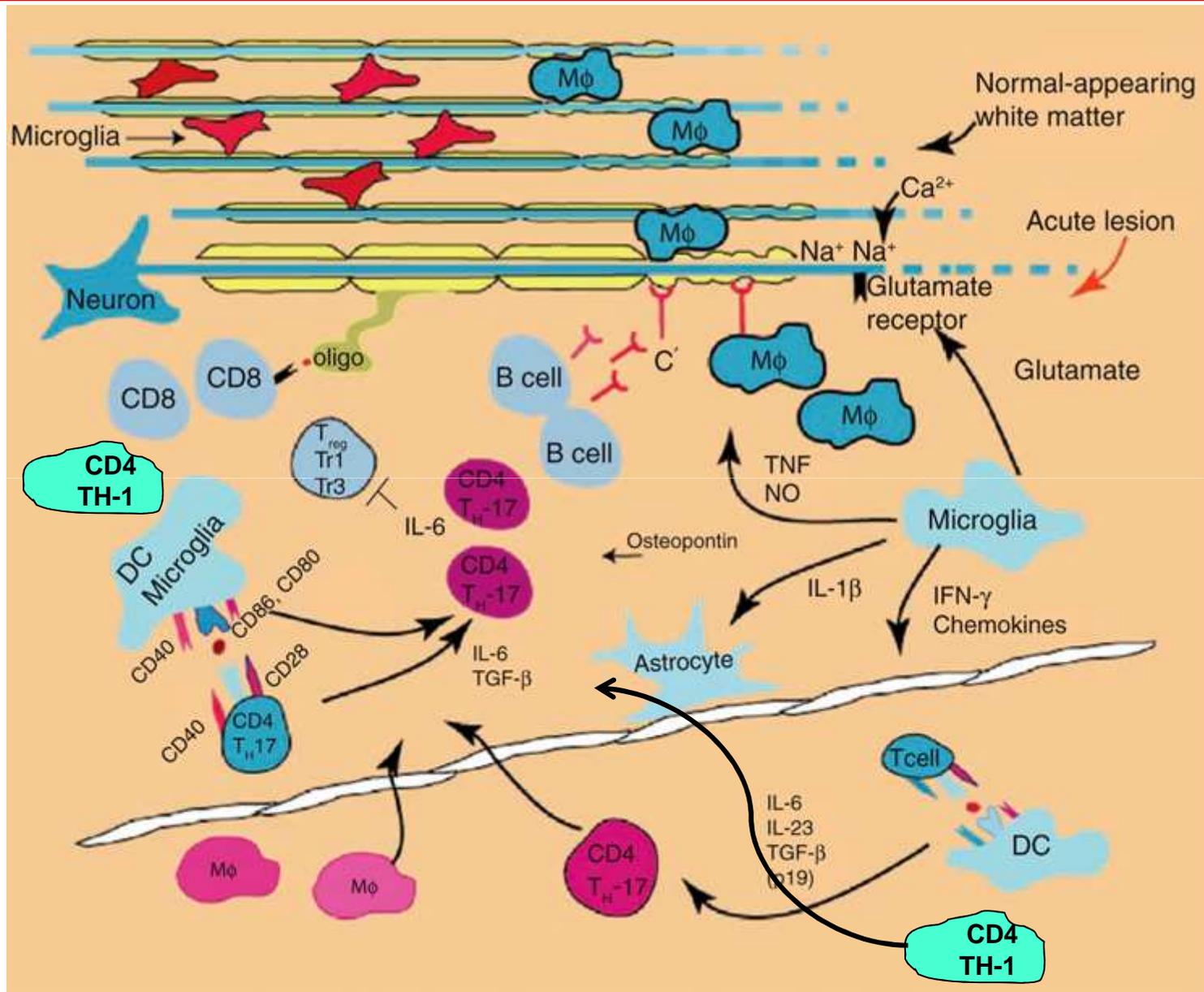
# IMMUNOPATOGENESI SCLEROSI MULTIPLA



# IMMUNOPATOGENESI SCLEROSI MULTIPLA

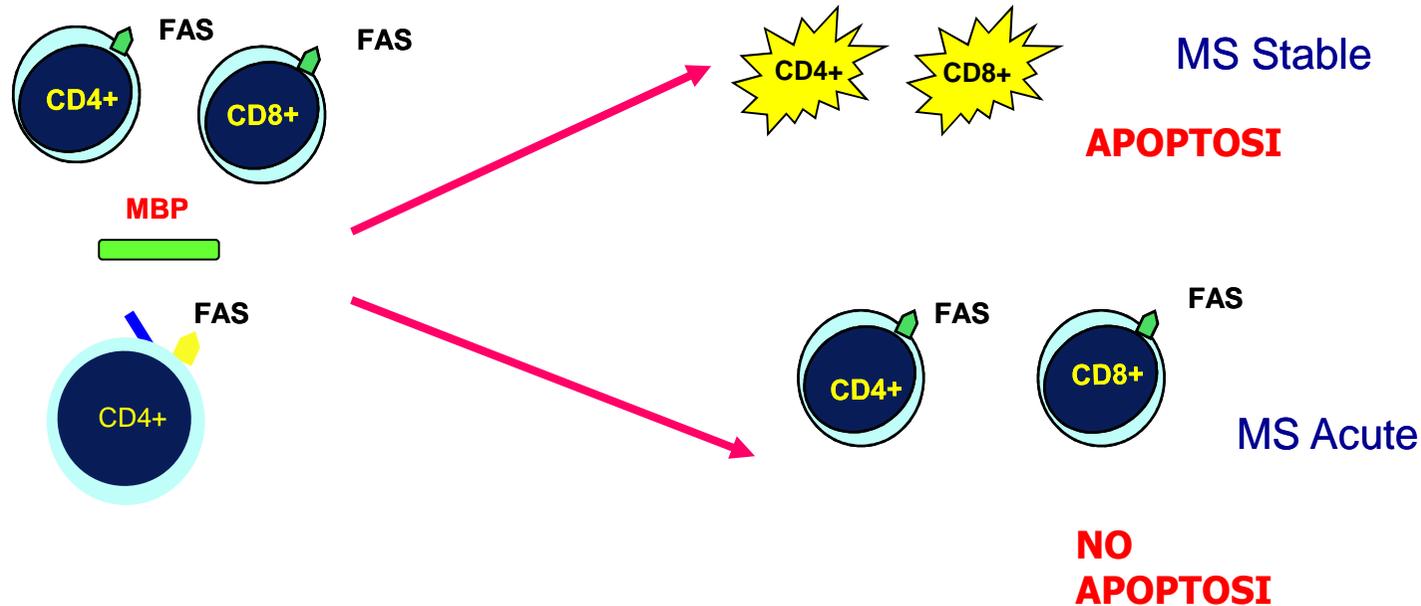
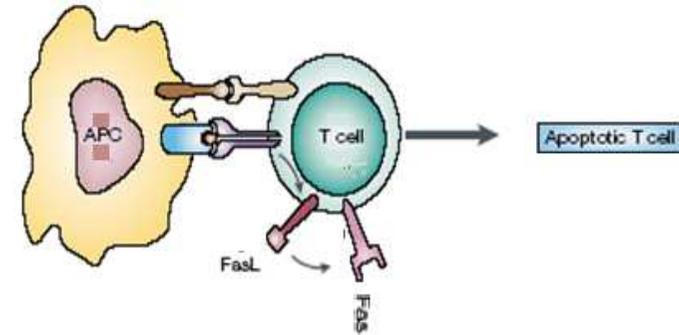


# IMMUNOPATOGENESI SCLEROSI MULTIPLA



Programmed cell death of myelin basic protein-specific T lymphocytes is reduced in patients with acute multiple sclerosis

Marina Saresella<sup>a</sup>, Ivana Marventano<sup>a</sup>, Livianna Speciale<sup>a</sup>, Stefania Ruzzante<sup>a</sup>,  
Daria Trabattoni<sup>b</sup>, Silvia Della Bella<sup>c</sup>, Massimo Filippi<sup>d</sup>, Francesca Fasano<sup>b</sup>,  
Rosella Cavarretta<sup>e</sup>, Domenico Caputo<sup>e</sup>, Mario Clerici<sup>b</sup>, Pasquale Ferrante<sup>a,f,\*</sup>

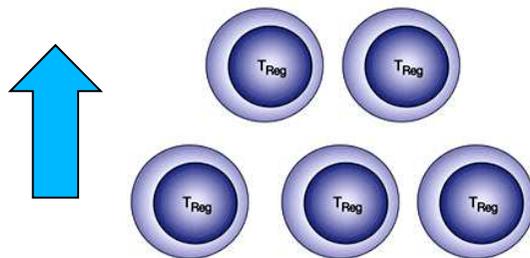
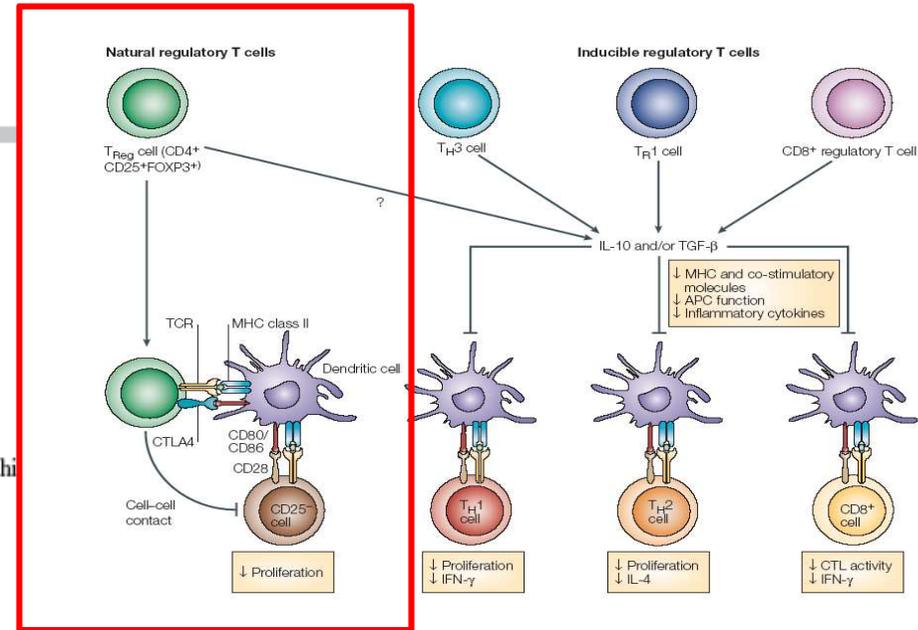


**La persistenza di cloni autoreattivi promuoverebbe la distruzione della guaina mielinica mediata dal processo flogistico e favorirebbe l'insorgenza della fase di recidiva nei pazienti affetti da sclerosi multipla**

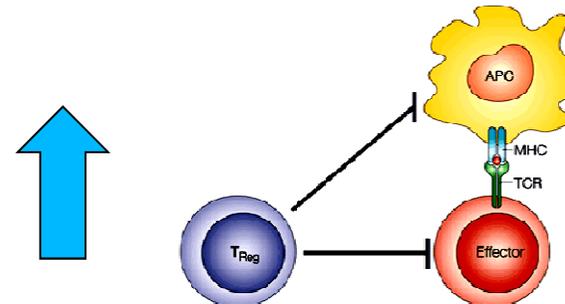
# CD4+CD25+FoxP3+PD1- regulatory T cells in acute and stable relapsing-remitting multiple sclerosis and their modulation by therapy

Marina Saresella,\* Ivana Marventano,\* Renato Longhi,<sup>†</sup> Francesca Lissoni,<sup>§</sup> Daria Trabattoni,<sup>§</sup> Laura Mendozzi,<sup>†</sup> Domenico Caputo,<sup>†</sup> and Mario Clerici\*<sup>‡,1</sup>

\*Laboratory of Molecular Medicine and Biotechnology and <sup>†</sup>Multiple Sclerosis Unit, Don C. Gnocchi ONLUS Foundation, IRCCS, Milan, Italy; <sup>‡</sup>ICRM-CNR, Milan, Italy; and <sup>§</sup>DISP LITA Vialba and <sup>‡</sup>Department of Biomedical Sciences and Technologies, University of Milan, Milan, Italy



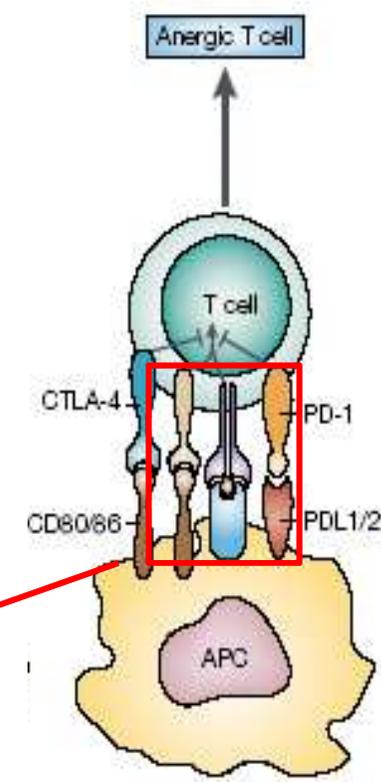
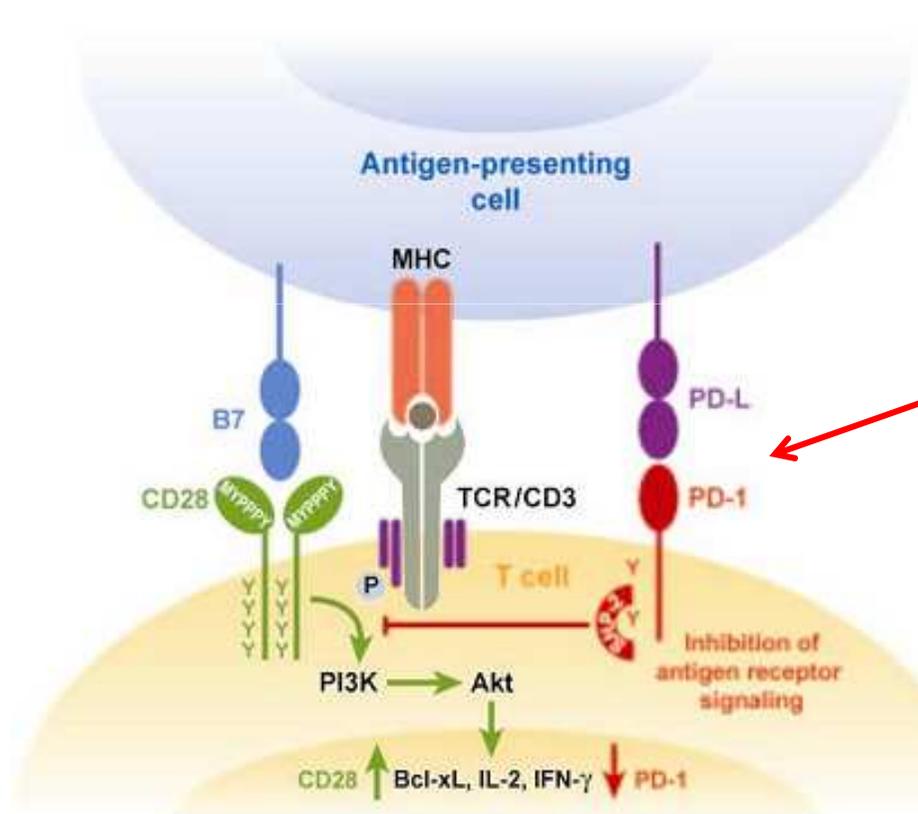
**Nella fase di stabilità di malattia e durante il trattamento con COPAXONE i Treg aumentano nel periferico.**



**La capacità soppressoria è aumentata nei pazienti con stabilità di malattia ed in entrambi i gruppi di pazienti in trattamento con COPAXONE e IFNβ, suggerendo una diversa azione dei farmaci sulle Treg.**

## Costimulatory Pathways in Multiple Sclerosis: Distinctive Expression of PD-1 and PD-L1 in Patients with Different Patterns of Disease<sup>1</sup>

Marina Saresella,<sup>2†</sup> Daria Trabattoni,<sup>2\*</sup> Michela Pacei,<sup>\*</sup> Ivana Marventano,<sup>†</sup> Laura Mendozzi,<sup>‡</sup> Marco Rovaris,<sup>‡</sup> Domenico Caputo,<sup>‡</sup> Manuela Borelli,<sup>\*</sup> and Mario Clerici<sup>3†§</sup>



**L'attivazione del recettore PD-1 ,  
mediante interazione con il suo  
ligando, inibisce la fosforilazione di  
Akt e down regola la proteina anti-  
apoptotica Bcl-XI, aumenta la  
produzione di IL-10**

Keir ME, et al. 2008.  
Annu. Rev. Immunol. 26:677–704

# MATERIALI E METODI

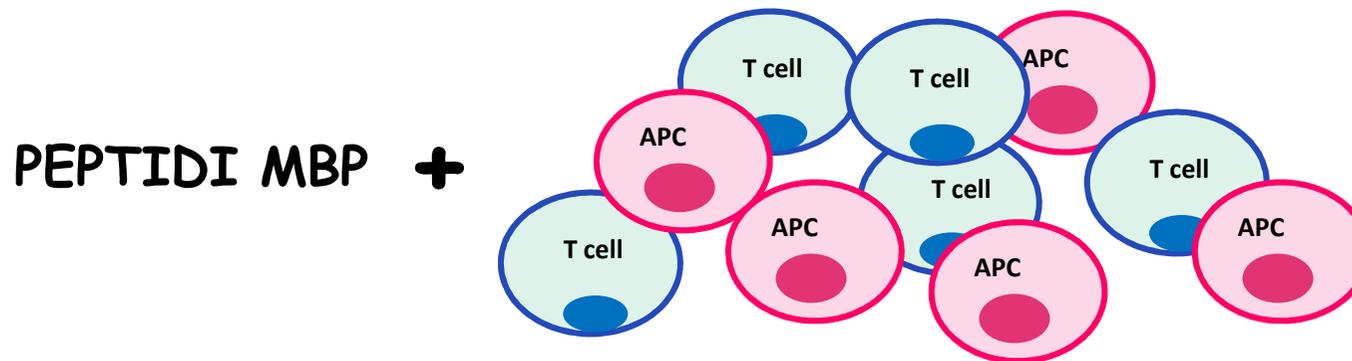
100 PAZIENTI RR-MS

40 IN FASE ACUTA DI MALATTIA (AMS)

38 IN FASE STABILE DI MALATTIA (SMS)

10 in trattamento IFN $\beta$

12 in trattamento COPAXONE



ANALISI CIRCUITO INIBITORIO PD-1 PD-L1 MEDIANTE CITOMETRIA A FLUSSO:

## ATTIVAZIONE :

ESPRESSIONE PD-1 E PD-L1

PRODUZIONE IL-10

APOPTOSI

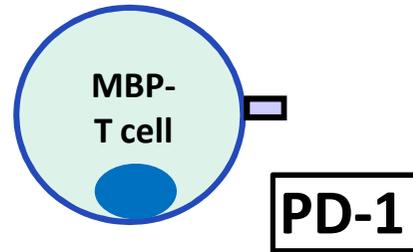
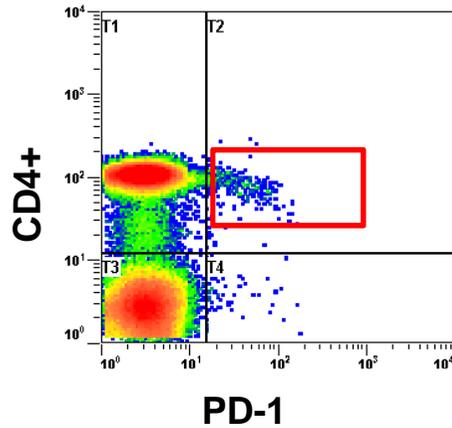
## NON ATTIVAZIONE:

FOSFORILAZIONE DI AKT

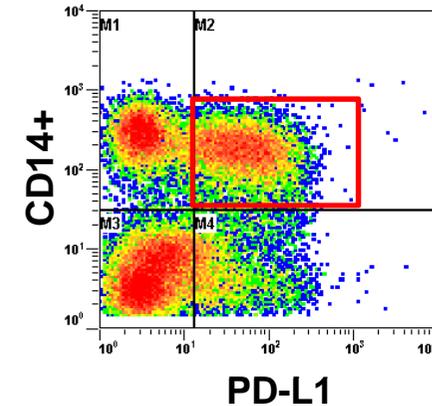
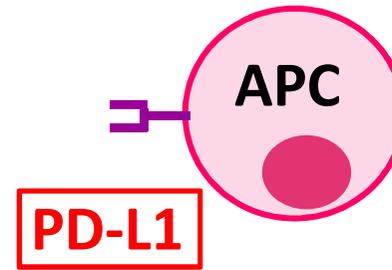
PROLIFERAZIONE

# RISULTATI

Espressione di PD-1 su T



Espressione di PD-L1 su APC

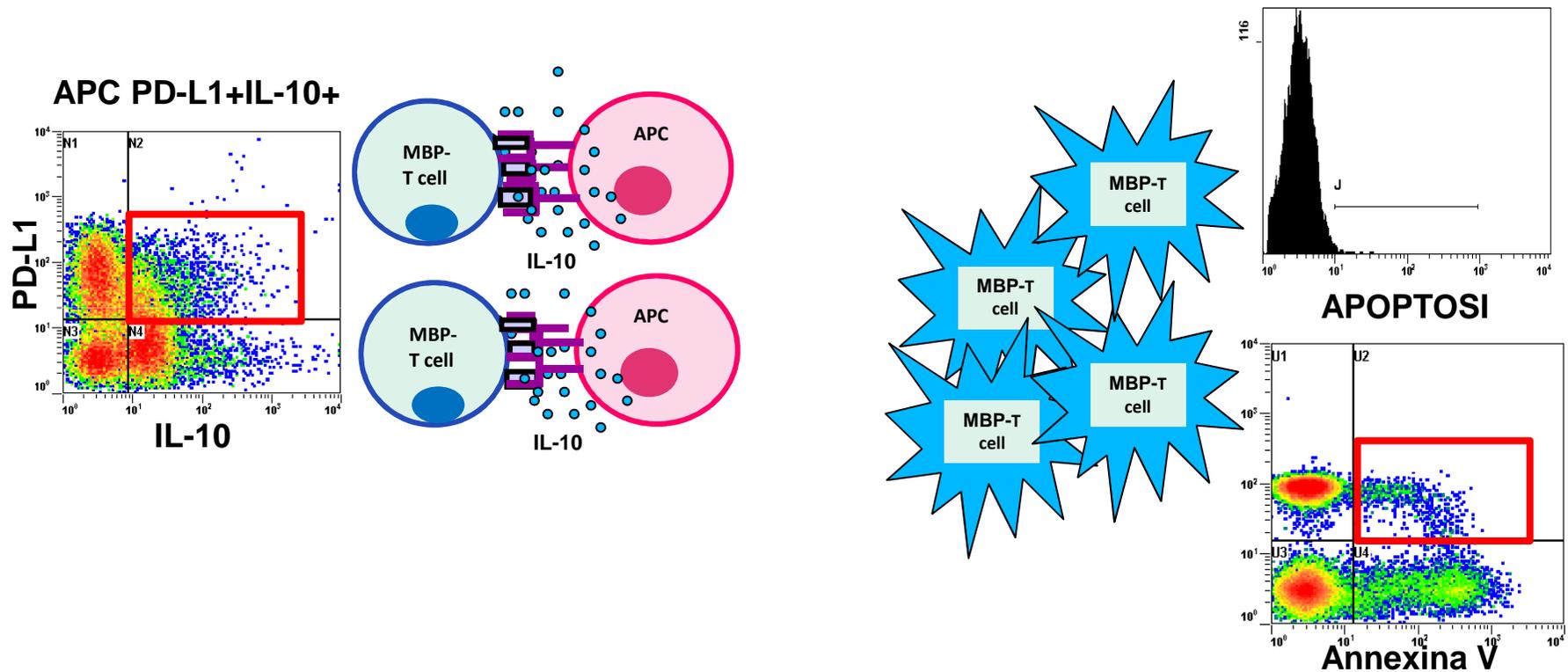


**%LINFOCITI T CD4+,CD8+ PD-1+ E APC/PD-L1+AUMENTATI  
SIGNIFICATIVAMENTE IN SMS vs AMS  
NESSUNA ALTERAZIONE NEI PAZIENTI TRATTATI**

# RISULTATI

## Funzionalità circuito PD-1-PD-L1

### ATTIVATO IN SMS

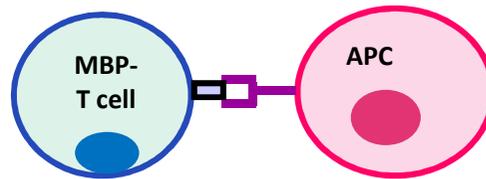


**AUMENTO LINFOCITI T CD4+,CD8+ SPECIFICI PER MBP ANERGICI O IN APOPTOSI E DI APC/PD-L1+ PRODUCENTI IL-10 IN SMS vs AMS  
NESSUNA ALTERAZIONE NEI PAZIENTI TRATTATI**

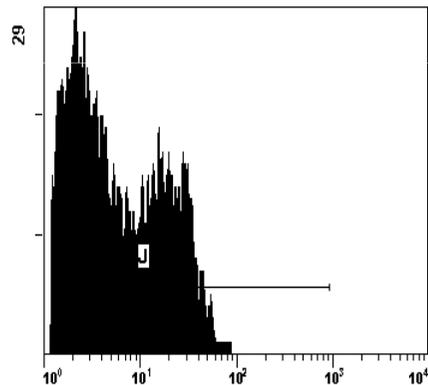
# RISULTATI

## Funzionalità circuito PD-1-PD-L1

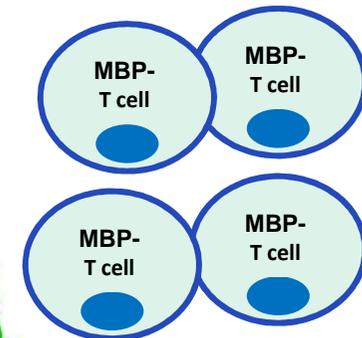
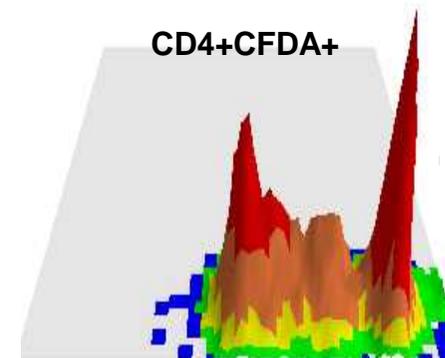
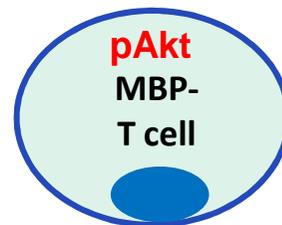
### NON ATTIVATO IN AMS



#### Fosforilazione Akt



#### Proliferazione di linfociti T specifici per MPB



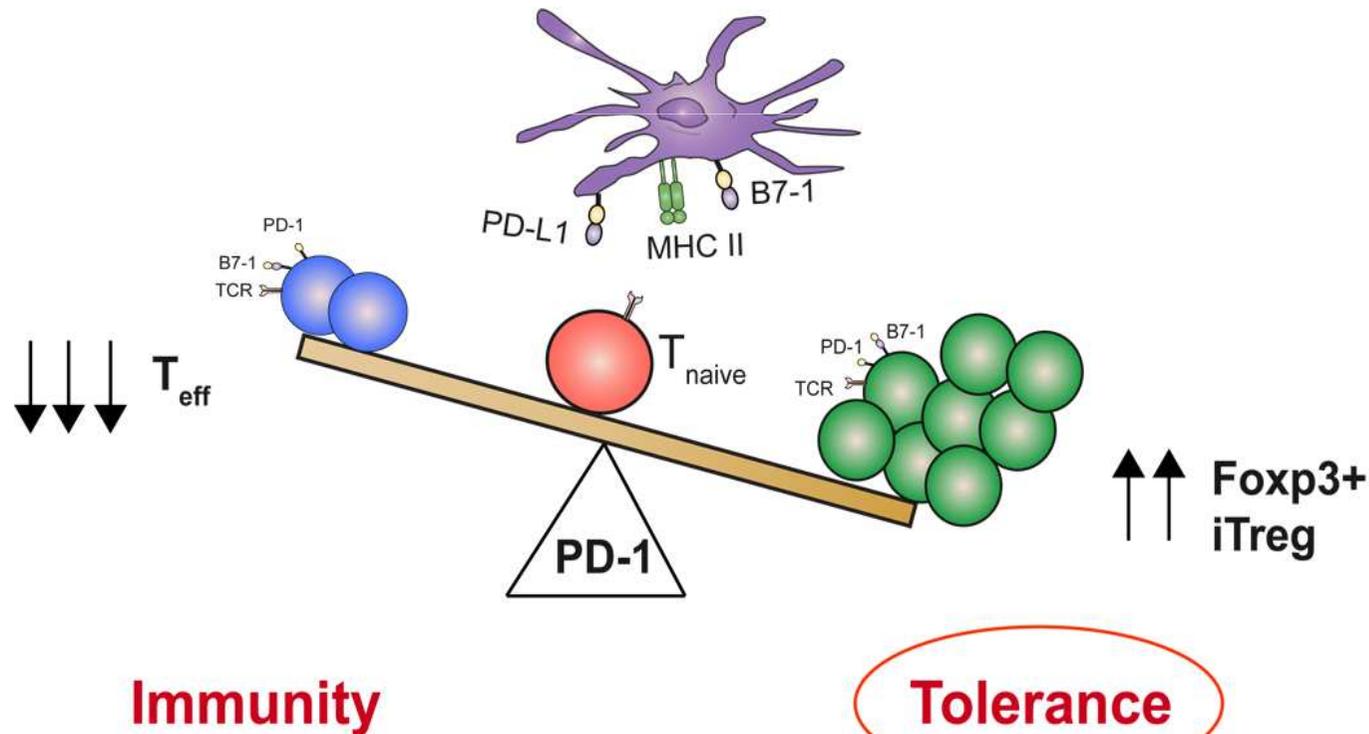
**AUMENTO LINFOCITI T CD4+,CD8+ PROLIFERANTI SPECIFICI PER MBP IN  
AMS vs SMS  
NESSUNA ALTERAZIONE NEI PAZIENTI TRATTATI**

# CONCLUSIONI

**Il circuito inibitorio PD1/PD-L1 gioca un ruolo importante nella modulazione della risposta specifica per MBP nei pazienti SM**

**Nei pazienti SM trattati con COPAXONE e IFNs non si è osservata nessuna modulazione risposta specifica per MBP mediata da PD-1 PD-L1**

**il monitoraggio e il target di queste molecole potrebbero offrire vantaggi diagnostici e terapeutici.**



# **RINGRAZIAMENTI**

## **FONDAZIONE DON C.GNOCCHI**

**Laboratorio di Medicina  
Molecolare e Biotecnologie**

**Prof. Mario (mago) Clerici**

**Sig. Ivana Marventano  
Dr.ssa Federica Piancone  
Dr. Andrea Gatti**

**Reparto Sclerosi Multipla**

**Dr. Domenico Caputo  
Dr. Marco Rovaris  
Dr.ssa Laura Mendozzi  
Dr.ssa Rosella Cavarretta  
Dr.ssa Paola Tortorella**

## **UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO**

**Prof. Mario (mago) Clerici  
Prof.ssa Daria Trabattoni**