

# EFFICACIA E SICUREZZA DEL BELIMUMAB PER IL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

A cura del Dott. Luigi Iannone

## INTRODUZIONE

Il lupus eritematoso sistemico (LES) è una patologia cronica ad interessamento multisistemico con elevata morbilità e mortalità. Vi sono evidenze, sia in modelli murini che negli uomini, di come le cellule B abbiano un ruolo centrale nella patogenesi della patologia essendo responsabili indirettamente della distruzione tissutale tramite produzione di autoanticorpi (*Abs*), ma anche con meccanismi anticorpo-indipendenti.<sup>1</sup>

Gli *Abs* agiscono attraverso vari meccanismi, tra cui l'attivazione dei recettori FC, espressi sulla superficie dei fagociti e coinvolti nel processo di fagocitosi degli antigeni opsonizzati, mediati da immunocomplessi e la citotossicità complemento-mediata. I meccanismi anticorpo-indipendenti sono anch'essi importanti in quanto includono la presentazione dell'antigene, l'attivazione delle cellule T, la sintesi di citochine infiammatorie e la modulazione delle cellule dendritiche. Nel LES sono state riscontrate anomalie sia qualitative che quantitative delle cellule B.<sup>2</sup>

Sia le cellule B mature che immature hanno bisogno di segnali da numerose fonti per sopravvivere. Di queste, *BLys* (*B-lymphocyte stimulator*), un membro della superfamiglia dei ligandi del *tumor necrosis factor* (*TNF*), è uno dei più importanti fattori determinanti la quantità e la qualità del compartimento B cellulare. È prodotto da numerosi tipi di cellule, tra cui macrofagi, monociti, cellule dendritiche, fibroblasti sinoviali, neutrofili e cellule T in seguito a stimolazione da parte di citochine pro-infiammatorie (IFN e IL-10) e del fattore stimolante le colonie di granulociti (G-CSF)<sup>3</sup>. *BLys* lega il recettore *BAFF* (*BAFF-R*) / *BLyS receptor 3* (*BR-3*) espresso su cellule umane immature, transizionali, naïve, del centro germinale (GC) e sulle cellule B della memoria, che garantisce la sopravvivenza delle cellule B e transizionali, sostiene la motilità dei plasmablasti, attiva lo switch di classe delle cellule B IgM1-IgD1 (CSR), per produrre IgG, IgA e IgE, e co-stimola la proliferazione e la secrezione di citochine da parte delle cellule T. *BLys* lega anche due altri recettori: *TACI* (*trans-membrane activator and calcium-modulator and cytophilin ligand interactor*) sulle cellule B della memoria, plasmablasti ed alcune cellule T, e il *B-cell maturation antigen* (*BCMA*) sulle cellule B e sui plasmablasti<sup>4</sup>. L'iper-espressione costitutiva di *BLys* in animali transgenici porta a manifestazioni *autoimmune-like*, come la presenza di anticorpi anti-DNA, fattore reumatoide (RF), complessi circolanti e deposizione di complessi a livello renale che causano glomerulonefriti.<sup>5</sup> Tutte queste sono manifestazioni tipiche di patologie autoimmuni umane, come il LES, l'artrite reumatoide e la sindrome di Sjogren. Elevati livelli di *BLyS* sono stati perciò cercati e trovati in pazienti con il LES. Alcuni autori hanno però osservato come studi precedenti non abbiano dimostrato una chiara correlazione tra i livelli di questa citochina circolanti e l'attività della malattia nel lupus. È stato ipotizzato che ciò potrebbe essere dovuto a misurazioni

inadeguate.<sup>2,3,6</sup> Considerata l'iperattività delle cellule B e gli elevate livelli di BlyS circolante, vari anticorpi monoclonali sono stati sviluppati o sono in fase di sviluppo, non solo contro il BlyS, ma anche contro i recettori BAFF o TACI solubili ed il peptide FC di fusione. Tra questi, il maggiormente indagato e l'unico approvato è il Belimumab (*Lymphostat-B, Benlysta, BEL*).<sup>7</sup>

## **BELIMUMAB**

BEL è un anticorpo monoclonale IgG1 totalmente umano specifico per il BlyS solubile nell'uomo ed agisce inibendo la sua attività biologica. Non lega il BlyS di membrana, né gli altri ligandi della famiglia TNF (*TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , Fas ligand, APRIL, IL-4, ed IL-18*).<sup>8</sup> Ha dimostrato di inibire la proliferazione delle cellule B in vitro e negli studi sugli animali vi è una significativa riduzione delle cellule B CD20 e plasmacellule CD21 nel sangue periferico e nel tessuto linfoide.<sup>7</sup> In studi effettuati con scimmie *cynomolgus*, trattate con BEL a 5, 15 o 50 mg/kg ogni 7 giorni per 4 cicli, vi è stata una riduzione significativa dei livelli di B cellule sia nella milza che nei linfonodi. Risultati simili sono stati evidenziati anche in esperimenti con i topi.<sup>9</sup>

## **STUDI FASE I**

Il primo studio che ha utilizzato il BEL nell'uomo è stato effettuato in pazienti con LES. È stato realizzato uno studio di fase I, in doppio cieco e randomizzato che ha valutato gli effetti del BEL contro placebo in 70 pazienti con LES da lieve a moderato. I pazienti sono stati suddivisi in 4 gruppi con dosaggi differenti (1.0, 4.0, 10 e 20 mg/kg) ed un gruppo placebo. Hanno ricevuto una o due dosi di BEL e sono stati seguiti per 84-105 giorni dopo la somministrazione del farmaco. È stata dimostrata una significativa riduzione delle cellule B periferiche nei gruppi in trattamento rispetto al placebo; comunque, in questa coorte di pazienti l'attività della patologia rispetto al baseline non si è significativamente modificata. Il farmaco è risultato ben tollerato e con eventi avversi sovrapponibili al placebo. Solo un paziente ha avuto reazione all'infusione, facilmente trattata con antistaminici.<sup>10</sup> Lo studio sembra dimostrare l'efficacia biologica in vivo del BEL, nonostante non vi siano modifiche significative dell'attività di malattia, con un buon profilo di sicurezza ed ha posto le basi per studi di fase II per valutare la sicurezza e l'attività clinica del BEL.

## **STUDI FASE II**

È stato disegnato uno studio di fase II dal gruppo *LBSL02/99*, che ha arruolato 449 pazienti rientranti nella diagnosi di LES utilizzando i criteri dell'*American College of Rheumatology (ACR)*, con malattia attiva e con

regime di trattamento stabile. L'attività del Lupus è stata definita dalla presenza di score SS (*Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus: National Assessment SELENA-SLEDAI*) di almeno 4.<sup>11</sup> La SS è un punteggio basato sull'attività della malattia che ha 24 parametri a cui vengono assegnati dei punti e poi sommati. I parametri considerati sono sia clinici (ad esempio, rash e artrite) sia di laboratorio (ad es. dsDNA Ab, conta piastrinica ecc). Alcuni pazienti sono stati esclusi dal trial in quanto trattati con ciclofosfamide intravenosa negli ultimi 180 giorni, con insufficienza renale severa o trattati con terapia target contro cellule B. 336 pazienti sono stati randomizzati per ricevere 1, 4 o 10 mg/kg di BEL e 113 per ricevere placebo tramite infusione EV nei giorni 0,14,28 e successivamente ogni 28 giorni per 52 settimane più lo *standard of care* (SOC). Gli endpoint co-primari di efficacia sono stati la percentuale di modifica nello score SELENA-SLEDAI dal baseline (giorno 0) alla 24esima settimana e il tempo d'insorgenza di un *flare* lieve/moderato o severo durante le 52 settimane dello studio. Endpoint secondari di efficacia includono modifiche negli score SELENA-SLEDAI e BILAG alla 52esima settimana, tempo del primo *flare* durante e dopo le prime 24 settimane e la percentuale di pazienti con una dose di prednisone  $\leq 7.5$  mg/giorno o ridotta del 50% dal baseline durante le settimane 40 e 52. Altri endpoint secondari di efficacia sono stati la modifica alla 52esima settimana rispetto al baseline dei livelli auto-anticorpali e del complemento, B cellule, PGA, SF-36 e livelli di Ig. Non sono state riscontrate differenze significative tra il gruppo trattamento, ad ogni dosaggio, ed il gruppo placebo per nessuno degli endpoint primari. Infatti la riduzione dello score SELENA-SLEDAI dal baseline è stato 19.5% nel gruppo combinato del trattamento con BEL contro il 17.2% del gruppo placebo ed il tempo medio di insorgenza del primo *flare* è stato 67 giorni nel gruppo combinato BEL contro 83 giorni del gruppo placebo.

Visto il mancato raggiungimento degli endpoint primari, sono state effettuate analisi *post hoc* per identificare sottogruppi con maggiore risposta al trattamento.

La prima di queste analisi *post hoc* si è focalizzata sullo stato sierologico. L'attività sierologica al baseline è stata definita come un titolo ANA di almeno 1:80 o anti-dsDNA Ab di almeno 30 IU/ml. Ne è risultato come il 71.5% dei pazienti reclutati rientri in questi parametri. In questo gruppo di pazienti sierologicamente attivi, il trattamento con BEL ha determinato una riduzione dello score SELENA-SLEDAI alla 52esima settimana rispetto al placebo (28.8% contro 14.2%;  $P = 0.0435$ ) Inoltre il trattamento ha determinato una riduzione tra il 63 ed il 71% delle cellule B naïve, attivate e plasmocitoidi ed una riduzione del titolo anti-dsDNA ( $P \leq 0.0017$ ) entrambi valutati alla 52esima settimana. Non vi è stata differenza tra i tassi di eventi avversi sia lievi che severi tra il gruppo placebo ed i gruppi in trattamento.<sup>11-13</sup> Nonostante gli endpoint primari non siano stati raggiunti, i dati provenienti dagli studi *post hoc*, hanno portato al disegno di due studi di fase III, *Bliss-52* e *Bliss-76*.

### STUDI FASE III

Bliss-52 è stato uno studio dalla durata di 52 settimane che ha reclutato 865 pazienti provenienti da tre continenti, Asia, Europa orientale e Sud America<sup>14</sup>.

Bliss-76 ha avuto una durata di 76 settimane reclutando 826 pazienti provenienti da Nord America ed Europa. Entrambi gli studi sono stati realizzati in doppio cieco, controllati con placebo e multicentrici, con l'obiettivo di valutare la sicurezza e l'efficacia di BEL in pazienti con LES sieropositivo.<sup>15</sup>

Così come negli studi di fase II precedentemente descritti, questi studi hanno arruolato soggetti con diagnosi clinica di LES seguendo i criteri stabiliti dall'ACR. I pazienti arruolati erano tutti in trattamento cronico, con una concentrazione di 1:80 ANA ed almeno 30 IU/ml anti-dsDNA. Sono state escluse dallo studio donne in gravidanza, pazienti che hanno ricevuto un'altra terapia *target* per le cellule B, con grave patologia renale o del SNC e quelli che hanno ricevuto ciclofosfamide EV negli ultimi 180 giorni. I pazienti del trial Bliss-52 sono stati divisi in tre gruppi: il primo ha ricevuto lo standard terapeutico per il LES più il placebo, il secondo ha ricevuto lo standard con aggiunta di BEL 1 mg/kg ed il terzo ha avuto lo standard più BEL 10 mg/kg. I pazienti sono stati trattati i giorni 0, 14, e 28 e successivamente ogni 28 giorni fino alla fine dello studio. *Endpoint* primario di entrambi gli studi è stata la risposta clinica al trattamento valutata con l'SRI (*SLE Responder Index*). Vi è stato un maggiore tasso di *responders*, ossia pazienti con SRI migliorato, valutato alla 52esima settimana, nel gruppo trattato con 10mg/kg di BEL rispetto al gruppo placebo (43.2% versus 33.5%;  $P=0.017$ ), mentre nel gruppo trattato con la dose di 1mg/kg i *responders* sono stati il 40.6% (sempre contro placebo 33.5%;  $P=0.089$ ). Alla 76esima settimana, il 38.5% ( $P=0.13$ ) ed il 39.1% ( $P=0.11$ ) dei pazienti che hanno ricevuto, rispettivamente, 10 mg/kg e 1 mg/kg di BEL, contro il placebo (32.4%), hanno mostrato una risposta al trattamento valutata sempre con l'SRI. <sup>16,17</sup>BEL non ha dimostrato significatività statistica sugli *endpoint* secondari, quale riduzione dello score SS, miglioramento nella valutazione globale e nella riduzione della dose di steroidi somministrati. Il tasso di risposta al trattamento è risultata maggiore con il BEL rispetto al placebo alla 76esima settimana, ma la differenza non è stata statisticamente significativa. Il tasso di insorgenza di infezioni è risultato simile tra tutti i gruppi studiati. Nessun tumore è stata segnalato nello studio Bliss-52. Mentre sono stati riportati sei tumori maligni in Bliss-76: due nel gruppo BEL a 10 mg/kg, tre nel gruppo BEL 1 mg/kg ed uno nel gruppo placebo. Complessivamente, il farmaco è risultato ben tollerato ed il tasso di sospensione, dato da effetti secondari indesiderabili, era paragonabile fra i gruppi trattati ed il placebo.

## **CONCLUSIONI**

In conclusione, nonostante il *targeting* delle cellule B nel LES, così come in altre patologie autoimmuni, sia un promettente trattamento, non vi sono ancora evidenze statisticamente significative di efficacia clinica del BEL ai dosaggi utilizzati in fase III di 1 o 10mg/kg in pazienti con LES lieve. Inoltre non sono ancora stati valutati gli effetti del farmaco a lungo termine ed in pazienti con LES grave con interessamento del SNC o con nefrite lupica. Nonostante sia già stato approvato sia negli USA che in Europa, sono necessari altri studi per aumentare il numero di pazienti trattati, valutare gli effettivi benefici clinici e per delineare le sottopopolazioni che si avvantaggiano maggiormente del trattamento.

### **PUNTI CHIAVE**

- *BEL è un anticorpo monoclonale IgG1 totalmente umano che lega il BlyS solubile nell'uomo ed inibisce la sua attività biologica*
- *Inibisce la proliferazione delle cellule B in vitro e negli studi sugli animali vi è una significativa riduzione delle cellule B CD20 e plasmacellule CD21*
- *Sono necessari altri studi per aumentare il numero di pazienti trattati, valutare gli effettivi benefici clinici e per delineare le sottopopolazioni che beneficiano maggiormente del trattamento.*

## BIBLIOGRAFIA

1. Nardelli, B. *et al.* Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* **97**, 198–204 (2001).
2. Sabahi, R. & Anolik, J. H. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus. *Drugs* **66**, 1933–48 (2006).
3. Moore, P. A. *et al.* BLYS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* **285**, 260–3 (1999).
4. Collins, C. E. *et al.* B lymphocyte stimulator (BLyS) isoforms in systemic lupus erythematosus: disease activity correlates better with blood leukocyte BLyS mRNA levels than with plasma BLyS protein levels. *Arthritis Res. Ther.* **8**, R6 (2006).
5. Sciascia, S. *et al.* Efficacy of belimumab on renal outcomes in patients with systemic lupus erythematosus: A systematic review. *Autoimmun. Rev.* **16**, 287–293 (2017).
6. Kumagai, S., Sredni, B., House, S., Steinberg, A. D. & Green, I. Defective regulation of B lymphocyte colony formation in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* **128**, 258–62 (1982).
7. Baker, K. P. *et al.* Generation and characterization of LymphoStat-B, a human monoclonal antibody that antagonizes the bioactivities of B lymphocyte stimulator. *Arthritis Rheum.* **48**, 3253–65 (2003).
8. Espinosa, G. & Cervera, R. Belimumab, a BLYS-specific inhibitor for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Drugs of Today* **46**, 891 (2010).
9. Halpern, W. G. *et al.* Chronic Administration of Belimumab, a BLYS Antagonist, Decreases Tissue and Peripheral Blood B-Lymphocyte Populations in Cynomolgus Monkeys: Pharmacokinetic, Pharmacodynamic, and Toxicologic Effects. *Toxicol. Sci.* **91**, 586–599 (2006).
10. Furie, R. *et al.* Biologic activity and safety of belimumab, a neutralizing anti-B-lymphocyte stimulator (BLyS) monoclonal antibody: a phase I trial in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.* **10**, R109 (2008).
11. Wallace, D. J. *et al.* A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **61**, 1168–1178 (2009).
12. Manzi, S. *et al.* Effects of belimumab, a B lymphocyte stimulator-specific inhibitor, on disease activity across multiple organ domains in patients with systemic lupus erythematosus: combined results from two phase III trials. *Ann. Rheum. Dis.* **71**, 1833–1838 (2012).
13. Furie, R., Wang, L., Illei, G. & Drappa, J. Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Responder Index response is associated with global benefit for patients with SLE. *Lupus* 96120331875850 (2018). doi:10.1177/0961203318758506
14. Navarra, S. V. *et al.* Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* **377**, 721–731 (2011).
15. Furie, R. *et al.* A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **63**, 3918–3930 (2011).
16. Stohl, W. *et al.* Efficacy and Safety of Subcutaneous Belimumab in Systemic Lupus Erythematosus: A Fifty-Two-Week Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Arthritis Rheumatol.* **69**, 1016–1027 (2017).
17. Ginzler, E. M. *et al.* Disease Control and Safety of Belimumab Plus Standard Therapy Over 7 Years in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J. Rheumatol.* **41**, 300–309 (2014).