De rol van Tumor Necrose Factor bij Multiple Sclerose

Martha Olthuis
Juli 2016

Bachelorscriptie Gedrag- en Neurowetenschappen
Begeleider prof. dr. U.L.M. Eisel
Rijksuniversiteit Groningen

Abstract

Multiple Sclerose is een chronische ziekte en het is de meest voorkomende neurodegeneratieve ziekte onder jong volwassenen. Het immuunsysteem valt lichaamseigen myeline cellen van het centrale zenuwstelsel aan en dit leidt uiteindelijk tot beschadigingen aan de axonen. De ziekte is meestal niet dodelijk, maar de symptomen worden wel steeds erger en het heeft grote invloed op het leven van patiënten. Er is geen sprake van erfelijkheid, maar er zijn wel bepaalde genen die betrokken zijn bij het risico op het krijgen van MS en tevens zijn er omgevingsfactoren die invloed hebben op het feit of iemand wel of niet MS krijgt. De exacte oorzaak is echter nog niet bekend, net als het mechanisme achter de ziekte. Het immuunsysteem is met al zijn componenten erbij betrokken, maar waarom het lichaam opeens getriggerd wordt om de myeline aan te vallen is onduidelijk.

Tumor Necrose Factor wordt als een van de belangrijkste mediatoren van een inflammatoire respons gezien en daarom wordt er bij onderzoek naar MS ook veel aandacht aan dit cytokine besteedt. In dit essay wordt dieper ingegaan op de rol die Tumor Necrose Factor speelt bij Multiple Sclerose en welke behandelingen er al beschikbaar zijn. Daarnaast wordt er gekeken naar mogelijke toekomstige therapieën.

Inhoudsopgave

Afkortingen 4
1. Introductie 5
2. Multiple Sclerose 7
2.1 Statistische gegevens van MS 8
2.2 Vormen van MS 8
2.3 Pathogenese van MS 10
2.4 Samenstelling laesies bij MS 12
3. Tumor Necrose Factor 13
3.1 Signaaltransductie 13
3.1.1 TNF-receptor 1 13
3.1.2 TNF-receptor 2 16
4. TNF bij Multiple Sclerose 18
4.1 Therapieën voor MS gericht op TNF 19
5. Discussie en Conclusie 21
Referenties 24

Afkortingen

MS = Multiple Sclerose
CZS = Centraal zenuwstelsel
OLG = Oligodendrocyt
TNF = Tumor Necrose Factor
CSV = Cerebrospinale vloeistof
MRI = Magnetic Resonance Imaging
IgG = Immuunglobuline G
EBV = Epstein-Barr virus
BBB = Bloed-hersenbarrière
RRMS = Relapsing/remitting Multiple Sclerose
SPMS = Secondary progressive Multiple Sclerose
PPMS = Primary progressive Multiple Sclerose
EAE = Experimental autoimmune encephalomyelitis
DC = Dendritische cel
APC = Antigeen-presenterende cel
IL = Interleukine
IFN = Interferon
tmTNF = Transmembraan Tumor Necrosis Factor
TACE = Tumor Necrosis Factor-alfa converting enzyme
TNFR1/2 = Tumor Necrosis Factor-receptor 1/2
PLAD = Preligand binding assembly domain
DD = Death domain
SODD = Silencer of death domains
TRADD = TNFR1-associated death domain protein
RIP = Receptor-interacting protein
TRAF 1/2/3 = TNFR-associated factor 1/2/3
FADD = Fas-associated death domain
cIAP 1/2 = Cellular inhibitor of apoptosis protein 1/2
IKK = IkappaB kinase
I $\varkappa$B = Inhibitor of kappa B
NF- $\varkappa$B = Nuclear factor-kappaB
NEMO = NF-$\varkappa$B essential modulator
DISC = Death-inducing signaling complex
NIK = NF- $\varkappa$B inducing kinase
PKB = Phosphoinositide 3-kinases-protein kinase B
PI3K = Phosphoinositide 3 kinases
Akt = Serine-threonine kinase
MAP3K = Mitogen-activated protein kinase kinase kinase
JNK = c-Jun N-terminal kinase
JNNK1 = JNK-activating kinase
KO = Knock-out
OPC = OLG progenitor cel
VLA-4 = very late antigen-4
ATROSAB = antagonistic TNF receptor one-specific antibody

1. Introductie

Multiple Sclerose is de meest voorkomende neurologische aandoening onder jong volwassenen (Madsen et al. 2016). Het is een chronische inflammatoire demyeliniserende ziekte waarbij het centrale zenuwstelsel (CZS) aangetast wordt (Cudrici et al. 2006). Ondanks dat er veel onderzoek naar MS is geweest en wordt gedaan, is de exacte oorzaak van de aantasting van de hersenen en het ruggenmerg nog niet bekend. De behandelingen die momenteel worden toegepast, kunnen de progressie van de ziekte vertragen, de terugvallen verminderen en de kwaliteit van leven verbeteren, maar ze zijn nog niet zo effectief dat ze in staat zijn om de ziekte te stoppen en/of de schade aan de myeline en axonen terug te draaien (Madsen et al. 2016).

Het exacte mechanisme achter MS is dus nog onbekend, maar het is wel duidelijk dat er een fout in het afweersysteem zit waardoor dit lichaamseigen cellen gaat aanvallen. Oligodendrocyten (OLG's) zijn de cellen in het CZS die zorgen voor de aanmaak van de myelineschedes rondom de axonen. Een van de 'hallmarks' van MS is dat er een auto-immuunreactie optreedt tegen deze OLG's, wat vervolgens focaal leidt tot gedemyeliniseerde laesies in de myelineschedes en uiteindelijk tot degeneratie van axonen en tot neuronale celdood. Daarnaast is het bekend dat vrijwel alle componenten van het immuunsysteem betrokken zijn bij deze ziekte (Maier et al. 2013).

Waarom en waardoor het immuunsysteem bij MS getriggerd wordt om lichaamseigen cellen aan te vallen, is tot nog toe onduidelijk gebleven. Het is geen erfelijke ziekte, maar er is wel sprake van een samenspel van genetische en omgevingsfactoren. Onder andere heeft het gebied waar iemand woont invloed op de kans op het ontwikkelen van MS. Er is een hypothese die suggereert dat vitamine D hierin een rol speelt, een andere hypothese stelt dat er een virus bij betrokken is. Er zijn echter nog geen harde bewijzen gevonden die een van deze hypotheses bevestigen (Smolders 2008; Skys, 2013).

Bij een ontsteking gaan de immuuncellen pro-inflammatoire cytokines produceren. In een normale toestand helpen deze cytokines bij het verwijderen van schadelijke stimuli en dragen op die manier bij aan het herstellen van de homeostase. Wanneer de homeostase hersteld is, treedt er een negatieve feedback op en gaat de productie van cytokines weer terug naar het niveau van voor de ontstekingsreactie (Montgomery et al. 2011).

Een van de cytokines die geproduceerd wordt bij een ontstekingsreactie, is Tumor Necrose Factor (TNF). TNF werd voor het eerst herkend door William B. Coley. Hij herkende het toen nog niet als dusdanig, maar Coley beschreef de antitumorrespons van het immuunsysteem als gevolg van een bacteriële infectie. Het duurde nog tot 1975 voordat TNF werd geïdentificeerd als een eiwit dat wordt geproduceerd bij activatie van het immuunsysteem. TNF heeft onder andere een cytotoxisch effect op tumorcellen en het kan cellen aanzetten om in apoptose te gaan (Wajant et al. 2003).

Zoals hiervoor gezegd is er bij MS sprake van chronische inflammatie. In de plaques die ontstaan zitten onder andere T-lymfocyten en macrofagen en beide celtypes produceren TNF (Sherief en Hentges, 1991). Door Hofman et al. 1989, is er een post mortem onderzoek gedaan op de hersenen van patiënten met MS. Hun resultaten lieten zien dat er in MS laesies TNF aanwezig is en dat dit is geassocieerd met astrocyten en macrofagen. Deze bevindingen waren niet te zien in de controlegroepen (Hofman et al. 1989). In 1991 hebben Sharief en Hentges de cerebrospinale vloeistof (CSV) van MS patiënten onderzocht, hieruit kwam naar voren dat zij verhoogde TNF-α niveaus hadden. Tevens vonden zij een correlatie tussen het niveau van de TNF-α en de ernst en mate van progressie van de ziekte (Sharief en Hentges, 1991).

TNF speelt dus een rol bij MS. Onderzoeken op diermodellen lieten positieve effecten van TNF blokkering zien op demyeliniserende ziektes. Vanwege deze uitkomsten ging de Lenercept Multiple Sclerose Study Group een fase II studie uitvoeren bij patiënten met MS. Het middel wat zij gingen testen heet Lenercept en is een volledige TNF remmer. De uitkomsten waren verontrustend en het onderzoek

werd meteen gestopt. De behandeling liet zien dat het middel de symptomen en bijwerkingen van de ziekte alleen maar erger maakte (Arnason et al. 1999).
Tot nog toe is er geen medicijn gevonden waarmee MS kan worden genezen. Wel wordt er steeds meer bekend over de mechanismes achter de ziekte. Vele aspecten zijn erbij betrokken, maar in dit essay wordt voornamelijk toegespitst op de rol van Tumor Necrose Factor bij Multiple Sclerose.

2. Multiple Sclerose

Multiple Sclerose is een chronische ziekte, waarbij demyelinisatie van het CZS optreedt. Myeline is een witte, vettige stof en zit rondom axonen. Het doel van de myelineschede is het versnellen van de impulsgeleiding. Het vormt een soort isolatielaag en er zitten onderbrekingen in de schedes. Deze onderbrekingen worden insnoeringen van Ranvier genoemd. Een impuls kan van insnoering naar insnoering gaan en dit gaat vele malen sneller dan wanneer er geen myelineschedes om het axon zou zitten. Bij demyelinisatie worden stukken myeline beschadigd, wat tot gevolg heeft dat de zenuwen niet meer goed in staat zijn om signalen door te geven, hierdoor kan er een breed scala aan symptomen optreden (Dong et al. 2015).

Het eerste goed beschreven historische geval van MS is die van Augustus d'Esté. Hij werd geboren in 1794 als de kleinzoon van koning George III van Engeland. In 1822, toen hij 28 jaar oud was, trad bij hem waarschijnlijk het eerste symptoom op; hij verloor zijn gezichtsvermogen. Hij heeft een dagboek bijgehouden waarin hij de progressie van de ziekte beschrijft. In de jaren na de uiting van het eerste symptoom traden er steeds meer symptomen op; hij verloor kracht in zijn benen, zijn handen begonnen te trillen en hij kreeg last van duizeligheid en gevoelloosheid. De laatste vier jaren van zijn leven heeft Augustus in een rolstoel doorgebracht en in 1848 kwam hij te overlijden (Landtblom, 2010). Destijds kon hij nog niet gediagnosticeerd worden met MS, omdat de ziekte nog onbekend was. Echter, omdat hij een dagboek had bijgehouden kon de diagnose MS later alsnog vastgesteld worden.

De eerste die de symptomen onderscheidde tot een op zichzelf staande ziekte was Jean-Martin Charcot (1825-1893). Hij kwam met gedetailleerde omschrijvingen van MS, hij omschreef het als "la sclerose en plaques", en hij maakte de eerste tekeningen die de uitbreiding van laesies vanuit de ventrikels naar de cerebrale hemisferen lieten zien. Dit was het eerste inzicht in de pathologie van MS, waarbij zowel de hersenen als het ruggenmerg betrokken waren. Charcot was de eerste die de symptomen correleerde met post mortem bevindingen. Gebaseerd op deze bevindingen heeft hij verschillende vormen van MS beschreven: in het hoofd/brein, in het ruggenmerg en een combinatie van beide, de cerebrospinale vorm. Hij omschreef zelfs drie vaste kenmerken om MS te diagnosticeren: verlies van gezichtsvermogen, onwillekeurige spiersamentrekkingen en spraakstoornissen (Kumar et al. 2011).
Multiple is afgeleid van het Latijnse woord *multiplex* en betekent meervoudig/uit meerdere delen bestaand (Veen, 1997). Sclerose is afgeleid van het Griekse *sklērōsis* en betekent verharding (Veen, 1997). Charcot zag de vele verhardingen in het CZS en vandaar de naam Multiple Sclerose.

Charot zijn criteria voor MS waren niet correct, maar ze waren wel een belangrijke stap richting de diagnose van MS. Tegenwoordig zijn er een aantal criteria opgesteld aan de hand waarvan wel of niet de diagnose MS bij een patiënt kan worden vastgesteld. Deze criteria heten de McDonald Criteria en zijn voor het laatst herzien in 2010 (Polman et al. 2011). De diagnose MS is lastig vast te stellen, maar er wordt in ieder geval gekeken naar het patroon in de klachten van de patiënt. De klachtaanvallen moeten minstens twee keer hebben plaatsgevonden of de klachten moeten het afgelopen half jaar progressief zijn geweest. Daarnaast worden er ook MRI scans gemaakt van de hersenen en van het ruggenmerg om te kijken of er MS laesies aanwezig zijn en wordt er CSV afgenomen om te kijken of hier oligoclonale banden inzitten en/of dat er sprake is van een verhoogde Immuunglobuline G (IgG) gehalte. Oligoclonale banden zijn typisch voor MS, hierbij wordt er dan gekeken of er lymfocyten de bloed-hersenbarrière (BBB) zijn doorgegaan (Polman et al. 2011).

Het exacte mechanisme achter MS is nog niet bekend en het is ook nog niet gelukt om patiënten met MS te genezen. Wel is bekend dat het aangeboren en het verworven immuunsysteem erbij betrokken zijn. De laesies bij MS worden namelijk onder andere gekenmerkt door T-cellen, B-cellen, macrofagen en geactiveerde microglia (Cudrici et al. 2006). Echter, het is nog niet duidelijk welke van deze pathways de

bron van de respons is (Boyle en McGeer. 1990). In de volgende paragrafen zal dieper worden ingegaan op de rol van het immuunsysteem bij MS.

2.1 Statistische gegevens van MS

Multiple sclerose is de meest voorkomende chronische inflammatoire aandoening van het centrale zenuwstelsel. De ziekte openbaart zich meestal tussen het 20ste en 40ste levensjaar, maar bij 5% van de patiënten voor het 16de jaar en bij 2% al voor het 10de jaar (Compston en Coles, 2002). MS komt voor bij 0,05% tot 0,15% van de blanke populatie en komt twee keer zo vaak voor bij vrouwen dan bij mannen (Hemmer et al. 2003). De incidentie van MS is ongeveer 7 per 100.000 mensen elk jaar en de prevalentie is ongeveer 120 per 100.000 mensen. Bij ongeveer een kwart van de patiënten heeft MS geen effect op hun dagelijkse leven, 15% van de patiënten zijn daarentegen binnen afzienbare tijd ernstig gehandicapt (Compston en Coles, 2002).

Ondanks dat de oorzaak van MS tot dusver nog onduidelijk is, wordt in het algemeen aangenomen dat er zowel genetische als omgevingscomponenten bij het ontstaan van de ziekte betrokken zijn en dat beide evenveel invloed hebben op de gevoeligheid voor het krijgen van MS en ook op het verloop van de ziekte. De ziekte treft voornamelijk blanken. Aziaten en Afrikanen worden nauwelijks getroffen (Hemmer et al. 2003). MS is niet erfelijk, maar de familie van een patiënt heeft wel een verhoogde kans op het krijgen van de ziekte. De kans op herhaling in de familie is ongeveer 15%. Het risico, gecorrigeerd voor leeftijd, is het grootst voor broers/zussen (3%), dan voor ouders en kinderen (2%), en voor tweede- en derde-graads familieleden is de kans nog weer kleiner. Daarnaast is de kans voor half-broers/half-zussen kleiner dan voor volle broers/zussen, maar bij monozygote tweelingen is de kans op herhaling maarliefst 35%. Tevens is er nog een verschil in de kans op MS wanneer beide ouders MS hebben en in het geval dat een van de ouders MS heeft. De kans op MS is bij kinderen van twee ouders met MS 20% in tegenstelling tot 2% voor kinderen waarvan een van de ouders MS heeft (Compston en Coles, 2002). Er is ook gekeken naar echtgenoten en geadopteerde kinderen, de prevalentie bleek in deze groepen niet verhoogd te zijn. Uit onderzoeken is gebleken dat er bij MS sprake is van polygenetische kenmerken, waar veel genen bij betrokken zijn. Deze genen worden met een Engelse term ook wel susceptibility genes genoemd en dragen elk een beetje bij aan een verhoogd risico op het krijgen van MS (Hemmer et al. 2003). Een opvallende omgevingscomponent is de breedtegraad component. Het blijkt namelijk dat hoe verder een populatie van de equator vandaan leeft, des te hoger de prevalentie van MS is. Echter, wanneer iemand in de eerste twintig jaar van zijn of haar leven van een gebied met een lage prevalentie naar een gebied met een hoge prevalentie verhuist, wordt de kans dat deze persoon MS krijgt groter (Compston en Coles, 2002; Stys, 2013). Het is niet bekend waarom geografie invloed heeft op de prevalentie van MS, maar er is een hypothese die suggereert dat een tekort aan vitamine D een rol speelt bij het ontwikkelen van MS en dat dit een oorzaak kan zijn van de verschillen tussen de prevalenties in verschillende landen. Populaties rond de evenaar worden meer blootgesteld aan UV straling van het zonlicht en hun lichaam kan daarom meer vitamine D aanmaken. In het noorden is de UV straling maar een paar maanden dusdanig dat het lichaam vitamine D kan genereren en hierdoor komt een vitamine D tekort vaak voor. Bekend is dat vitamine D een modulator is van het immuunsysteem en dat het de functie van regulatoire T-cellen verbeterd en hiermee zorgt voor een meer anti-inflammatoire immuunrespons. Een tekort zou kunnen zorgen voor problemen en dit is mogelijk gekoppeld aan MS, wat de breedtegraad gradiënt zou kunnen verklaren (Skys, 2013; Munger et al. 2004). Naast vitamine D wordt ook het Epstein-Barr virus (EBV) in verband gebracht met MS. Er komt steeds meer bewijs voor de hypothese die suggereert dat een infectie met dit virus het risico op MS vergoot (Ascherio en Munger. 2007).

2.2 Vormen van MS

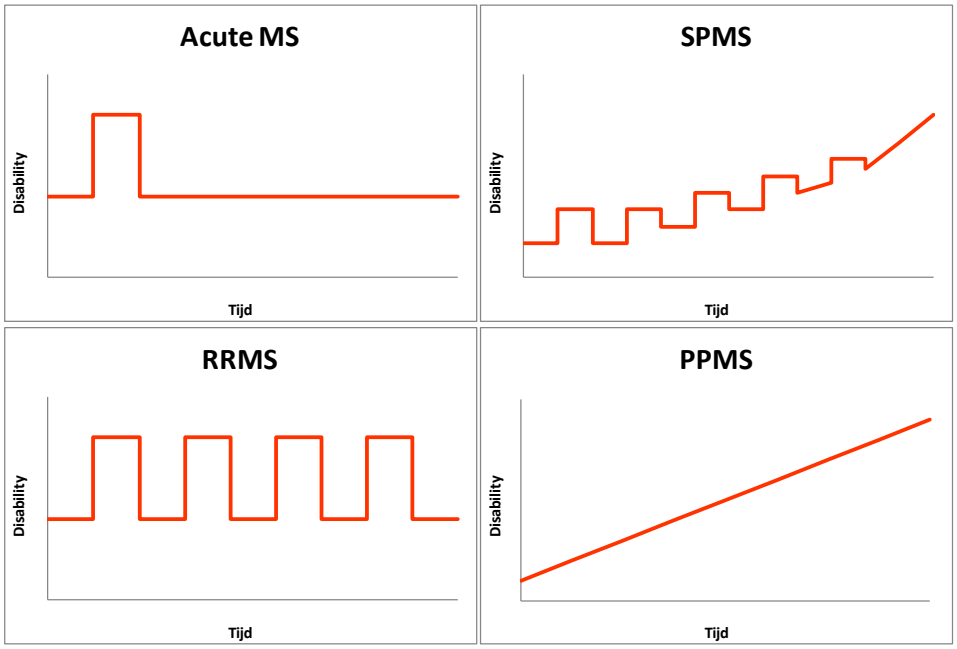
Er bestaan verschillende vormen/stadia van MS. Zoals eerder gezegd, uit de ziekte zich meestal rond het 40ste levensjaar en bij de meeste patiënten begint de ziekte met een periode met steeds terugkerende

aanvallen van demyelinisatie, dit wordt relapsing/remitting MS (RRMS) genoemd. Deze periode van terugkerende aanvallen wordt meestal gevolgd door een fase die de progressieve fase wordt genoemd, ook wel secondary progressive MS (SPMS). In de eerste fase kan het lichaam de beschadigingen aan de myelineschede nog redelijk opvangen. Dit herstel heeft wel even tijd nodig, daarom zijn er aan het begin van een dergelijke aanval (de relapsing fase) symptomen te zien, maar deze verdwijnen dan in de herstel (remitting) fase. Het lichaam kan het opvangen van de beschadigingen niet blijvend volhouden en dus zullen steeds meer zenuwcellen verdwijnen en komt de patiënt in de secundaire progressieve fase. De symptomen worden langzamerhand steeds erger en er is geen sprake meer van herstel. Het kan ook voorkomen dat de ziekte vanaf het begin progressief is, dit wordt primary progressive MS (PPMS) genoemd (Lassmann et al. 2007). PPMS komt veel minder vaak voor dan SPMS, in 10% tot 20% van de gevallen is er sprake van PPMS (Hemmer et al. 2003). De MS-vormen zijn weergegeven in figuur 1.

Kutzelnigg et al. deden in 2005 een onderzoek naar de verschillen tussen de hersenen van patiënten met acute of relapsing MS en patiënten met progressieve MS. Bij alle stadia van MS waren er focale gedemyeliniseerde plaques aanwezig. Bij acute of relapsing MS worden er voornamelijk nieuwe actieve focale plaques gevormd, deze zitten vooral in de witte stof van de hersenen. Bij progressieve MS zijn deze focale plaques niet of veel minder actief, maar vindt er nu niet alleen beschadiging plaats op de plek van de laesies, maar ook er tussenin. De hersenen worden nu meer globaal aangetast en er is ook weefselbeschadiging te zien in de cerebrale cortex (Kutzelnigg et al. 2005).

Steeds nieuwe inflammatie aanvallen van het perifere immuunsysteem dringen door tot in de hersenen en het ruggenmerg, waar het dus lokaal in de witte stof voor laesies zorgt. De oorzaak hier is dus de inflammatie. Het blijkt dat in de progressieve fase de inflammatie vast komt te zitten achter de bloed-hersenbarrière. Nu heeft de periferie geen controle meer over de inflammatie in de hersenen. De inflammatie wordt nu chronisch en verspreidt zich door het gehele brein. De diffuse aantasting van de witte stof wordt voornamelijk veroorzaakt door axonale vernietiging en niet door de primaire demyelinisatie. Kenmerkend aan de progressieve fase is dat er atrofie van de witte en grijze stof optreedt en er weinig nieuwe inflammatoire laesies gevormd worden (Lassmann et al. 2007).

De pathogenese van acute en relapsing MS is een fase van inflammatie en bij progressieve MS gaat de pathogenese over in een fase van neurodegeneratie. Eenmaal belandt in de progressieve fase, zijn de beschadigingen irreversibel (Cudrici et al. 2006).

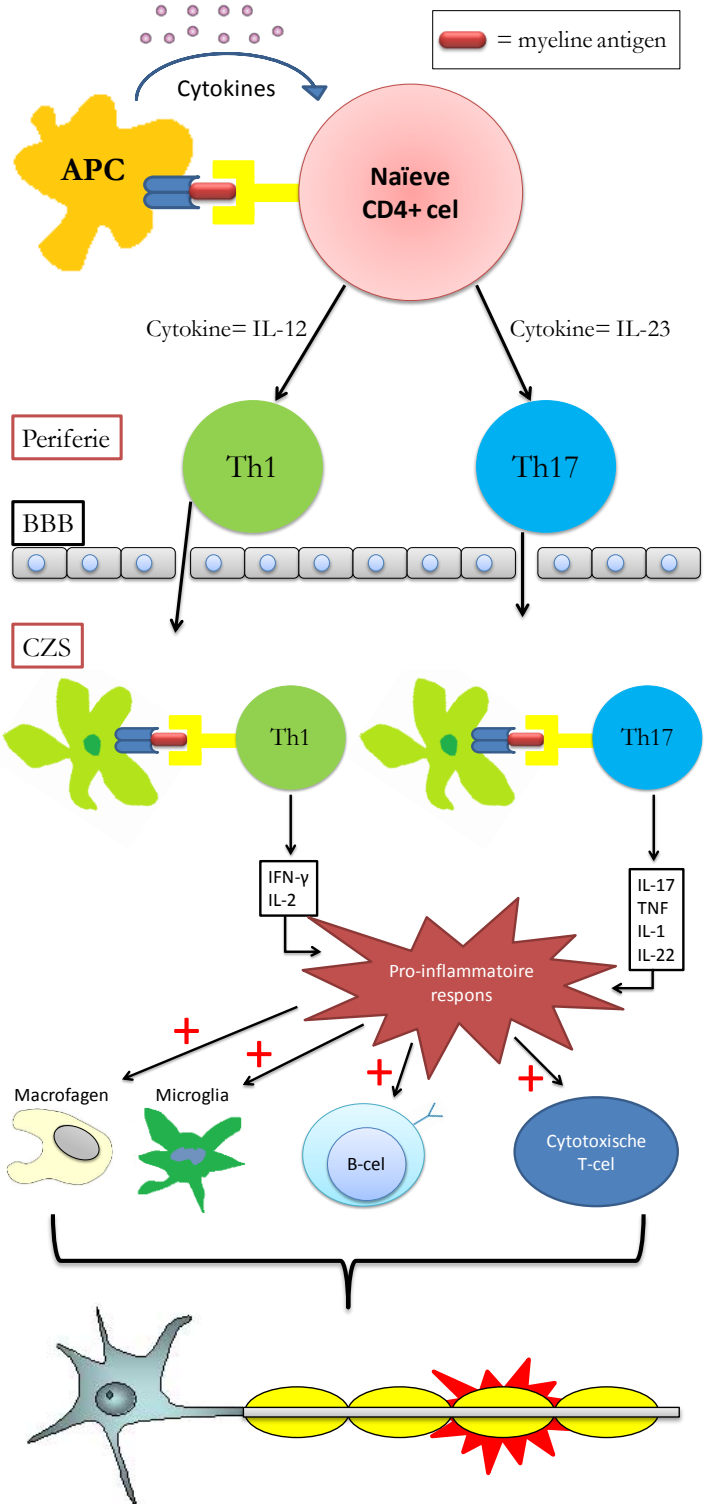


Figuur 1: De verschillende vormen van het verloop van MS: acute MS, SPMS, RRMS en PPMS. Op de verticale as staat de mate van de symptomen weergegeven en op de horizontale as de tijd.

2.3 Pathogenese van MS

Bij een patiënt met MS is er sprake van een abnormale reactie van het immuunsysteem, waarbij zowel het aangeboren als het verworven immuunsysteem zijn betrokken. Het is dus belangrijk dat het immunologische mechanisme ervan begrepen wordt, om zo medicijnen en behandelingen te kunnen ontwikkelen (Lassmann et al. 2007). De meeste concepten van de pathologie achter MS zijn gebaseerd op studies van MS laesies en op studies met een diermodel, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). EAE is een diermodel voor demyeliniserende ziektes en wordt vaak toegepast in knaagdieren (Hohlfeld en Wekerle. 2004). Er zijn wel meer modellen beschikbaar voor neurodegeneratieve aandoeningen, maar EAE wordt het meeste gebruikt voor MS omdat veel van de pathologieën gevonden in het CZS van muizen met EAE sterk overeenkomen met die in MS patiënten (McCarthy et al. 2012). Door het gebruik van EAE-modellen is er veel meer bekend geworden over het mechanisme achter neuroinflammatie en T-cel gemedieerde demyelinisatie (Lassmann et al. 2007).

Samengevat is EAE een $CD4^+$ T-cel gemedieerde, demyeliniserende autoimmuunziekte van het CZS en wordt gekenmerkt door mononuclaire celinfiltratie. Er bestaan twee veel gebruikte manieren om EAE te induceren bij de proefdieren. De eerste manier is actieve inductie door middel van immunisatie met myeline antigenen en de tweede manier is passieve immunisatie door myeline specifieke T-cellen, die vooraf zijn geactiveerd, over te brengen in naïeve muizen. Normaal gesproken zijn de T-cellen in de periferie tolerant voor lichaamseigen cellen. Echter, wanneer er antigenen gericht tegen myeline worden ingespoten, gaat de perifere tolerantie verloren en wordt er een immuunrespons in gang gezet (McCarthy et al. 2012). Dendritische cellen (DC's) behoren tot het aangeboren immuunsysteem en zijn antigeen-presenterende cellen (APC's). In figuur 2 is te zien dat deze cellen de ingespoten myeline antigenen oppikken en presenteren deze op hun celoppervlakte aan cellen van het verworven immuunsysteem, zoals $CD4^+$ naïeve T-cellen. Naïeve T-cellen tasten het oppervlakte van APC's af en zodra zij een antigen hebben gevonden die op hun specifieke receptor past, binden zij dit. Vanaf nu kunnen de naïeve T-cellen zich gaan differentiëren en prolifereren. De APC scheiden verschillende cytokines uit. Wanneer er voornamelijk interleukine-12 (IL-12) aanwezig is, ontwikkelen de naïeve $CD4^+$ T-cellen zich tot een Th1-helpercel. Bij aanwezigheid van IL-23 differentiëren ze tot Th17-cellen (Grigoriadis et al. 2015). In mensen zonder MS worden ook T- en B-cellen in de periferie geactiveerd en vindt er klonale expansie en proliferatie van effectorcellen plaats. Echter, dit proces wordt nauwkeurig gecontroleerd door regulatoire T-cellen. Bij MS werken deze regulatoire T-cellen niet zoals het hoort, hierdoor valt de controle op geactiveerde klonen van T- en B-cellen weg. Deze cellen kunnen nu de BBB overgaan en kunnen daar een autoimmuunreactie opwekken (Grigoriadis et al. 2006). Deze cellen zijn nu auto-reactief geworden, ze zijn immers gericht tegen myeline, wat lichaamseigen is. De geactiveerde T-cellen brengen bepaalde adhesie moleculen tot expressie en zorgen voor verhoging van de expressie van complementaire moleculen op het endotheel van de bloedvaten. De permeabiliteit van de BBB wordt verhoogd en door middel van diapedese kunnen de T-cellen de hersenen in. Eenmaal in de hersenen, worden de T-cellen opnieuw geactiveerd door een APC die een myeline antigen presenteert. Bij deze heractivatie wordt de immuunrespons in gang gezet en worden pro-inflammatoire cytokines geproduceerd door de T-cellen, zoals IL-17, interferon-gamma (IFN-γ) en TNF-α (McCarthy et al. 2012). De cytokine productie zorgt ervoor dat macrofagen aangetrokken en geactiveerd worden, dat er proliferatie plaatsvindt van cytotoxische T-cellen, dat de humorale respons in gang wordt gezet en dat de microglia worden geactiveerd. Deze microglia gaan nu als APC fungeren en vergemakkelijken zo de immuunrespons, tevens zorgen zij voor opsonisatie van myeline en OLG's waardoor deze nu extra goed te herkennen zijn door de immuuncellen. De myeline en de OLG's worden aangevallen en er ontstaan beschadigingen in de hersenen. Vanaf nu zullen de symptomen van MS beginnen (Compston, 2004).



Figuur 2: De immuunrespons bij MS. Een APC presenteert een antigen gericht tegen de myeline aan een $CD4^+$ naïeve T-cel en deze gaat zich ontwikkelen tot een Th1- of een Th17-cel, afhankelijk van de uitgescheiden cytokines. De permeabiliteit van de BBB gaat omhoog en de cellen gaan de hersenen in. Hier wordt aan de T-cellen opnieuw het antigen gericht tegen myeline gepresenteerd door een APC en hierdoor wordt er een immuunrespons opgewekt, waarbij de myeline om de axonen wordt aangevallen en beschadigd.

De nieuwste hypothese voor de pathogenese van MS is dat factor 12, ook wel factor XII of FXII, hierin een belangrijke rol speelt. Factor XII is een stollingsfactor en een deficiëntie ervan leidt tot een ernstige trombosziekte. Echter, er komt steeds meer bewijs voor dit factor XII dat het ook een rol speelt bij neurodegeneratieve ziektes. Uit onderzoek kwam dat een genetisch effect in het gen dat voor factor XII codeert of een blokkering van FXII, proefdieren beschermde tegen EAE. Factor XII stimuleert de generering van Th17-cellen via de CD87 marker op DC's. Factor 12 blijkt een belangrijke mediator te zijn van het adaptieve immuunsysteem tijdens neuroinflammatie. Mede hierdoor, en door de bevinding dat MS patiënten verhoogde levels van factor 12 hebben in hun bloedplasma, lijkt het erop dat de specifieke blokkering van dit factor een toekomstige geschikte behandelingsvorm zou kunnen zijn (Göbel et al. 2014).

2.4 Samenstelling laesies bij MS

De laesies die ontstaan bij MS als gevolg van inflammatie zijn niet allemaal gelijk. De laesies kunnen opgedeeld worden in vier histopathologische patronen. Patroon I komt bij 12% van de gevallen voor en patroon II komt bij 53% van de gevallen voor en beide patronen worden gekenmerkt door periveneuze inflammatie en grote demyeliniserende plaques. Periveneus betekent dat de inflammatie rondom de aderen plaatsvindt. Wat patroon II onderscheidt van patroon I is dat er afzetting van immunoglobulinen en geactiveerde complement eiwitten te zien is. Patroon III laesies zijn te vinden bij 30% van de gevallen, deze laesies zijn slecht gemarkeerd en zijn gekoppeld aan relatief vroeg verlies van OLG's door apoptose en het verlies aan myeline-geassocieerde glycoproteïne. In 4% van de gevallen worden er laesies van patroon IV gevonden, de demyelinisatie is nu periveneus en er vindt necrose van cellen plaats. Waar er bij patroon III laesies sprake is van een korte remitting/relapse verloop, is er bij patroon IV laesies sprake van een primair progressief verloop en treden er cognitieve stoornissen op (Lucchinetti et al. 2001; Cudrici et al. 2006).

3. Tumor Necrose Factor

Tumor Necrose Factor is een belangrijke cytokine, die een rol speelt bij de immuniteit, inflammatie, proliferatie en differentiatie van cellen en ook bij apoptose (Caminero et al. 2011). TNF wordt voornamelijk geproduceerd door macrofagen, maar ook door lymfoïde cellen, mestcellen, endotheelcellen, fibroblasten en neuronaal weefsel. De bekendste van de TNF-familie is TNF-α, een pro-inflammatoire cytokine. TNF-α wordt gesynthetiseerd als een type II transmembraaneiwit (tmTNF). De staart van tmTNF, die in het cytoplasma van de cel zit, wordt afgeknipt door het TNF-α converting enzym (TACE). Hierdoor komt er een circulerende/oplosbare vorm van TNF vrij, genaamd soluble TNF (solTNF). tmTNF en solTNF zijn allebei monomeren en moeten eerst een homotrimeer vormen voordat ze hun biologische functies kunnen uitvoeren. Het homotrimere TNF kan vervolgens een interactie aangaan met TNF-receptoren (TNFR); dit zijn homotrimere transmembraanreceptoren. Bij binding aan een van de receptoren kan TNF apoptose of celoverleving induceren (Caminero et al. 2011; Dong et al. 2015).
TNF grijpt aan op twee verschillende receptoren, namelijk TNF-receptor 1 (TNFR1) en TNF-receptor 2 (TNFR2). TNFR1 komt op de meeste celtypes tot expressie en kan worden geactiveerd door zowel tmTNF als solTNF, maar heeft wel een sterkere voorkeur voor solTNF. TNFR2 wordt daarentegen voornamelijk tot expressie gebracht op microglia en endotheelcellen en wordt alleen geactiveerd door tmTNF (McCoy et al. 2008).

Uit verscheidene studies is naar voren gekomen dat TNF waarschijnlijk een belangrijke rol speelt bij verschillende neurodegeneratieve aandoeningen (Dong et al. 2015). TNF is een potente ontstekingsfactor en maakt het daarom een aantrekkelijk doelwit voor therapeutische ontwikkelingen voor onder andere MS (McCoy et al. 2008).

3.1 Signaaltransductie

TNF heeft dus twee receptoren waar het op aangrijpen kan. Beide receptoren zetten een andere cascade in gang en hebben dus verschillende functies. Zowel TNFR1 als TNFR2 hebben in hun extracellulaire domein vier cysteïne rijke domeinen welke langgerekte vormen aannemen. Hiermee gaan ze een interactie aan met de groeves op de laterale zijde van het trimere ligand. Als er geen ligand aanwezig is dan gaan de receptoren een homofiele interactie aan met receptormoleculen. Een dergelijke binding met een receptormolecuul wordt een preligand binding assembly domains (PLAD) genoemd. Deze binding zorgt ervoor dat er geen spontane autoactivatie optreedt (Wajant et al. 2003).

Wanneer de receptoren worden geactiveerd door hun ligand TNF, dan zullen ze verschillende functies hebben. De signaaltransductiepaden van beide receptoren zullen hieronder worden besproken.

3.1.1 TNF-receptor 1

Zoals eerder gezegd komt TNFR1 op de meeste celtypes in het lichaam voor en kan het zowel door tmTNF als door solTNF worden geactiveerd, maar heeft het wel een voorkeur voor binding van solTNF. TNFR1 onderscheidt zich van TNFR2 door de intracellulaire death domains (DD's) die het bezit (McCoy et al 2008).

Bij binding van een ligand aan TNFR1, treedt er eerst herschikking op aan de intracellulaire kant van de receptor. Om te voorkomen dat de intrinsieke DD's, in afwezigheid van een ligand, met zichzelf een complex gaan vormen en vervolgens onafhankelijk een signaal aanzetten, is er een silencer of death domains (SODD) gebonden. Bij aanwezigheid van een ligand, moet dit SODD vervangen worden door een TNFR1-associated death domain protein (TRADD) (Wajant et al. 2003). Dit TRADD kan vervolgens drie adaptor eiwitten aantrekken en vanaf hier kunnen twee verschillende signaalcomplexen worden

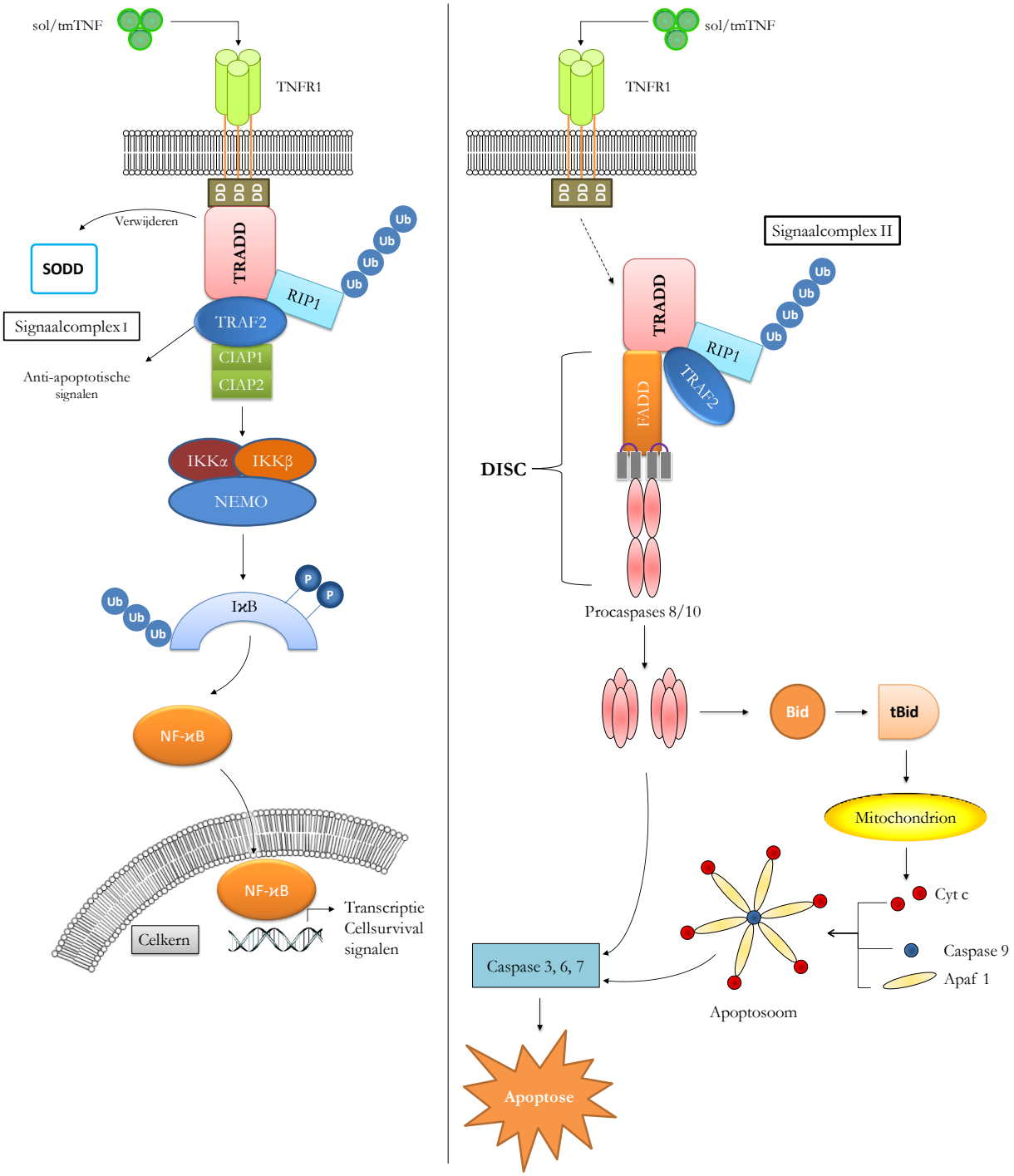
gevormd. De adaptor eiwitten die kunnen binden zijn: receptor-interacting protein 1 (RIP1), TNFR-associated factor 2 (TRAF2) en Fas-associated death domain (FADD) (Chen en Goeddel, 2002).

Signaalcomplex 1 (figuur 3: links) ontstaat wanneer RIP1, TRAF2 en cellular inhibitor of apoptosis proteins 1 en 2 (cIAP1 en cIAP2) binden aan TRADD (Dong et al. 2015). cIAP 1 en 2 zitten aan TRAF2 gebonden en geven een anti-apoptose signaal. Dit signaalcomplex 1 kan op zijn beurt het IkappaB kinase (IKK) complex activeren, bestaande uit de subunits IKKα, IKKβ en IKKγ/NEMO(NF-κB essential modulator). IKK fosforyleert vervolgens de inhibitor van kappaB (IκB). Na fosforylatie valt IκB uiteen en komt de transcriptiefactor nuclear factor-kappaB (NF-κB) vrij hierdoor kan het naar de kern gaan en daar de transcriptie van anti-apoptotische genen aanzetten, leidend tot pro-survival signalen, celproliferatie en/of een inflammatoire respons door aanzetten van cytokine productie (McCoy et al. 2008).

Wanneer het membraangebonden signaalcomplex 1 er niet in slaagt om de problemen op te lossen, laat het complex los van TNFR1 en wordt in plaats van cIAPs, FADD gebonden. Dit cytoplasma complex is het signaalcomplex 2 (figuur 3: rechts) (Michaeu en Tschopp, 2003).

FADD bindt procaspases 8 en 10 en dit heet het death-inducing signaling complex (DISC). DISC zet deze procaspases aan tot self-cleavage ("zelf-knippen") om zo de initiator caspases 8 en 10 te vormen en hierdoor wordt de intrinsieke apoptotische cascade ingang gezet.

Deze intrinsieke apoptotische route gaat als volgt: caspases 8 en 10 activeren caspases 3, 6 en 7 (uitvoerende caspases), waarna het eiwit Bid wordt geknipt en geactiveerd tot tBid. tBid gaat naar het mitochondrion en zorgt voor opening van de kanalen in het buitenmembraan van het mitochondrion. Hierdoor komt cytochroom c vanuit het mitochondrion vrij in het cytoplasma. Het cytochroom c vormt samen met Apaf-1 en caspase 9 een apoptosoom. De cel zal nu getriggerd worden om in apoptose te gaan (Weinberg, 2014).



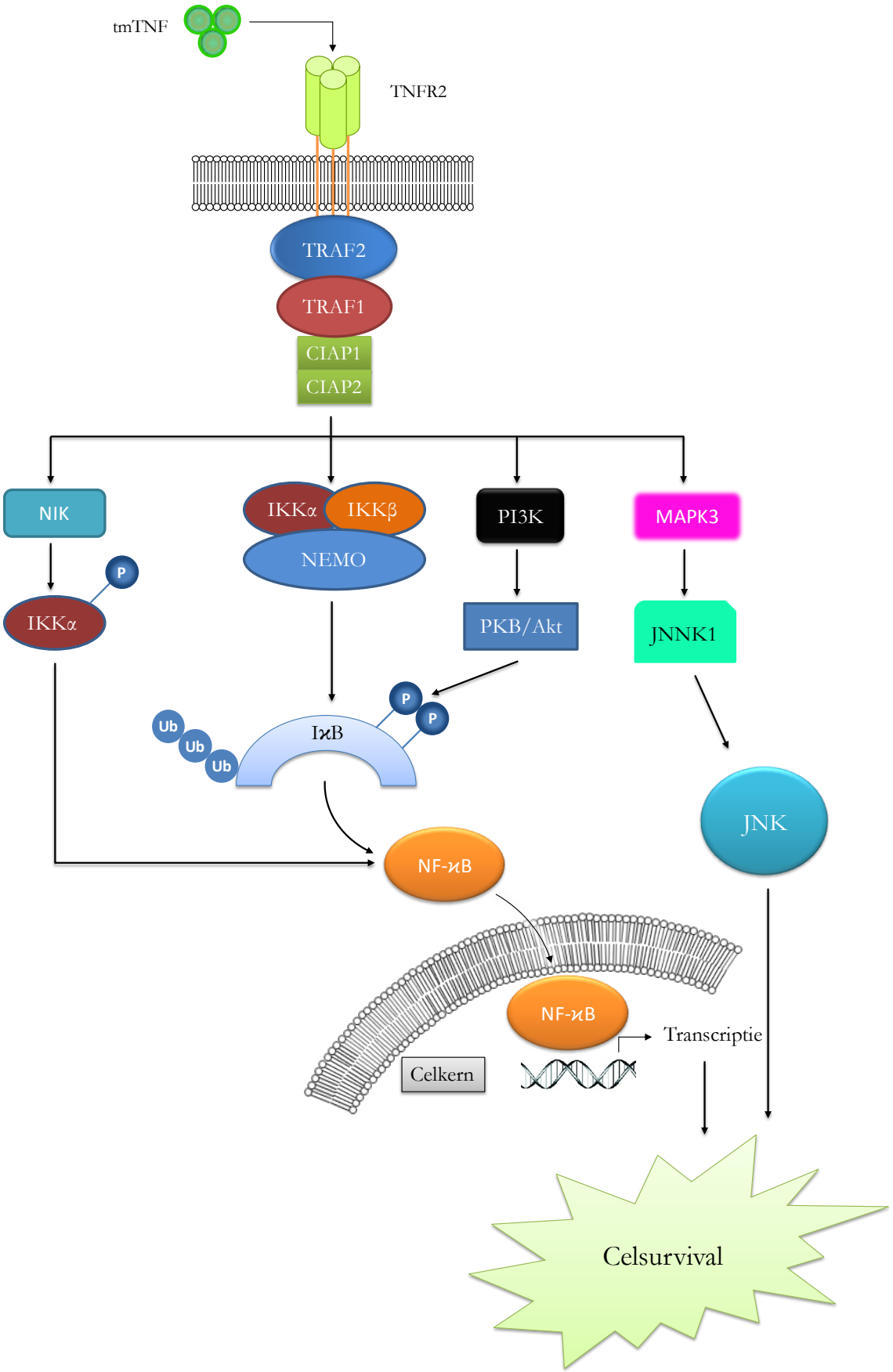
Figuur 3: *Links:* TNFR1 signaalcomplex 1 vorming en signalering. *Rechts:* TNFR1 signaalcomplex 2 vorming en signalering. Binding van solTNF of tmTNF zet een intracellulaire cascade in gang en leidt tot of celsurvival signalen of tot apoptose.

3.1.2 TNF-receptor 2

TNFR2 wordt tot expressie gebracht op microglia en endotheelcellen en kan alleen tmTNF binden. De signaaltransductie van TNFR2 is minder goed bekend dan die van TNFR1 (Dong et al. 2015). TNFR2 onderscheidt zich van TNFR1 in het feit dat het geen intracellulaire DD's bevat. Bij activatie van TNFR2 zal een complex van TRAF2 met daaraan TRAF1, cIAP1 en cIAP 2 binden aan het intracellulaire TRAF-bindingsmotief van de receptor. Echter, in een niet-geactiveerde staat zit dit complex in het cytoplasma gebonden aan NF-κB-inducing kinase (NIK) door TRAF3. In dit complex wordt NIK geübiquitineerd en afgebroken. Wanneer er dan activatie plaatsvindt van TNFR2 (geïllustreerd in figuur 4), gaat het TRAF2-cIAP1/2 complex vanuit het cytoplasma naar het intracellulaire deel van de receptor in het membraan. Dan vindt er degradatie van TRAF3 plaats en wordt NIK niet meer afgebroken. NIK kan vervolgens het IKK1 stimuleren en kan er NF-κB vrijkomen om daarna zijn functie als transcriptiefactor uit te voeren in de kern en zorgen voor celoverleving (Rauert et al. 2010).

Naast deze signaalroute kan activatie van NF-κB via TNFR2 ook plaatsvinden via de PKB/Akt signaaltransductieroute. PKB/Akt staat voor phosphoinositide 3-kinases (PI3K)-protein kinase B/serine-threonine kinase (Dong et al. 2015). Bij deze route wordt eerst PI3K geactiveerd en dan Akt, waarna NF-κB vrijkomt en ook nu weer voor celoverlevingsignalen kan zorgen (Marchetti et al. 2004).
De beschreven routes hierboven zorgen dus allebei voor activatie van de transcriptiefactor NF-κB, maar daarnaast kan TNFR2 ook nog een mitogen-activated protein kinase kinase kinase, ook wel MAP3K of MEKK1, activeren. Bij deze route wordt celoverleving gestimuleerd doordat c-Jun N-terminal kinase (JNK) geactiveerd wordt door JNK-activating kinase (JNKK1) (Montgomery et al. 2011).

De twee TNF-receptoren lijken dus tegenovergestelde effecten teweeg te brengen. TNFR1 zorgt voor apoptose en TNFR2 zorgt voor celoverleving. Lang werd gedacht dat beide receptoren gescheiden functies hadden, maar uit onderzoeken is gebleken dat er een overlap is tussen de functies. Oftewel, er is sprake van crosstalk tussen beide receptoren. Het blijkt namelijk dat TNFR2 onder bepaalde omstandigheden ook voor apoptose kan zorgen, ondanks dat het niet in bezit is van death domains (Faustman en Davis. 2010). Zowel bij TNFR1 als bij TNFR2 zijn TRAF2, TRAF1 en cIAP betrokken, wat ook wijst op het feit dat er sprake is van crosstalk. Uit het onderzoek van Fotin-Mleczek et al. (2002) kwamen een aantal dingen naar voren die wijzen op een crosstalk tussen de receptoren. Als eerste lieten zij zien dat stimulatie van TNFR2 ervoor zorgt dat er veel TRAF2 wordt aangetrokken, wat leidt tot een sterke afname van TRAF2 in het cytosol. In een eerdere studie van Wang et al. (1998) was al gevonden dat TRAF2 deel uit kan maken van een complex met cIAP1 en cIAP2 en TRAF1, en dat dit complex apoptose, gemedieerd door TNFR1, remt. Wanneer er dus door activatie van TNFR2 een sterke afname van TRAF2 plaatsvindt, zou dit ervoor kunnen zorgen dat de formatie van dit anti-apoptotische complex wordt geremd. Deze remming leidt vervolgens tot een verhoging van door TNFR1-geactiveerde caspase 8 en wordt er apoptose geïnduceerd. Daarnaast laten ze ook zien dat TNFR1 en TNFR2 kunnen concurreren om TRAF2-afhankelijke verwerving van cIAP1 en cIAP2. Deze bevindingen laten zien dat de receptoren niet compleet onafhankelijk van elkaar functioneren, maar met elkaar communiceren (Fotin-Mleczek et al. 2002). Ook uit de resultaten van Cabal-Hierro et al. (2014) kwam naar voren dat, wanneer beide receptoren samen tot expressie worden gebracht en worden geactiveerd, TNFR2 in staat is om TRAF2 degradatie te induceren en dat deze afname de anti-apoptotische signalen remt en de cytotoxiciteit van TNFR1 verhoogt. NF-κB activatie vindt alleen plaats als TNFR2 niet kan zorgen voor een tekort aan TRAF2, oftewel de cytotoxiciteit van TNFR1 wordt alleen verhoogd wanneer hij tot expressie wordt gebracht samen met een TNFR2 die een TRAF2 tekort induceert (Cabal-Hierro et al. 2014). Het is dus wel duidelijk dat er sprake is van crosstalk tussen beide receptoren, maar het complexe mechanisme erachter is nog niet volledig bekend.



Figuur 4: TNFR2 signaaltransductieroute. Binding van tmTNF aan TNFR2 zorgt via verschillende routes voor celoverlevingsignalen.

4. TNF bij Multiple Sclerose

Omdat er bij MS dus sprake is van een chronische ontsteking en TNF een belangrijke mediator is bij deze immuunrespons, is er veel onderzoek gedaan naar of TNF betrokken is in de pathogenese van MS. In 1989 deden Hofman et al. een post mortem onderzoek bij MS-patiënten. Verhoogde TNF levels werden gevonden in actieve MS laesies, daarnaast werd geconstateerd dat aan de rand van zulke laesies veel TNF-positieve cellen aanwezig waren en dat de TNF in de laesies geassocieerd is met astrocyten en macrofagen (Hofman et al. 1989). Een paar jaar daarna, in 1991, voerden Sharief en Hentges een studie uit om de TNF-α levels in het CSV van MS-patiënten te bepalen. Bij 53% van de 32 patiënten met chronische progressieve MS werden verhoogde TNF-α levels in het CSV gevonden. Daarentegen werd bij geen enkele van de twintig patiënten met stabiele MS verhoogde TNF levels gevonden. Tevens lieten zij met hun resultaten zien dat hoogte van het TNF-α level correleert met de ernst en de mate van progressie van de ziekte (Sharief en Hentges. 1991).

In 1999 werd er een klinische studie uitgevoerd op mensen door de Lenercept Multiple Sclerose Study Group. Doel was om door middel van een dubbelblind onderzoek onder MS-patiënten en een controle groep, het effect van neutralisatie van TNF door Lenercept, een TNF-α receptor-IgG1 fusie eiwit, te testen. Reden voor deze studie waren de resultaten uit eerdere onderzoeken op EAE dieren, waaronder de studie van Klinkert et al. in 1997. Uit hun resultaten kwam naar voren dat Lenercept een beschermend effect heeft tegen EAE en tegen demyelinisatie in ratten. Uit deze en andere resultaten leidde de onderzoeksgroep af dat TNF als een pro-inflammatoire mediator fungeert in EAE en dat depletie van TNF wellicht beschermend zou kunnen werken bij MS. Hun hypothese was dan ook dat neutralisatie van TNF de progressie van MS zou kunnen vertragen of de ziekte zelfs zou kunnen stoppen. De resultaten waren anders dan verwacht en de studie moest stop gezet worden. Bij toediening van Lenercept werd de frequentie van MS aanvallen verhoogd, duurden de aanvallen langer en waren deze ernstiger van aard. Volledige blokkering van de werking van TNF bleek dus niet de oplossing te zijn voor MS (Arnason et al. 1999). Etanercept is ook een medicijn die de werking van TNF-α tegengaat. Het zorgt ervoor dat een ontstekingsproces weer tot rust wordt gebracht, en het medicijn wordt onder andere toegepast bij reuma. Uit het review artikel van Dong et al. (2015) blijkt echter dat er rapporten zijn van gevallen bij mensen waarbij het erop lijkt dat gebruik van dit medicijn gekoppeld lijkt aan een kans dat er demyelinisatie kan gaan optreden en dat bij bestaande MS het de symptomen kan verergeren (Dong et al. 2015). Kortom, complete uitschakeling van TNF bij MS is geen optie en het lijkt er op dat TNF ook positieve effecten teweeg brengt. Tevens blijkt hieruit dat EAE niet compleet gelijk staat aan MS, maar dat er toch ook verschillen zijn. Nu bekend was dat algehele remming van TNF niet werkte, kon er onderzoek gedaan worden naar de effecten van de verschillende TNF receptoren.

De individuele rol van elk van beide receptoren is door Eugster et al. in 1999 onderzocht. Hierbij werd gebruik gemaakt van knock-out (KO) muizen. De TNFR1 KO muizen lieten vertraagde ontwikkeling van EAE zien bij vergelijking met de wildtype muizen. Tevens was de progressie van de ziekte langzamer en was het verloop van de ziekte monofasisch. Bij de TNFR1 en TNFR2 KO muizen was er nog een duidelijkere vertraging van de ziekte te zien, het verloop van de ziekte was bijna gelijk aan die bij de TNFR1 KO muizen. Bij het onderzoeken van het ruggenmerg kwam naar voren dat het gebied waar myelinisatie was opgetreden bij beide groepen verkleind was ten opzichte van de wildtype muizen. Echter, bij KO van alleen de TNFR2, vond er verergering van het verloop van EAE plaats en vond er net zoals in de wildtype muizen demyelinisatie plaats (Eugster et al. 1999).

Deze bevindingen waren belangrijk voor vervolg onderzoek en men ging nu nadenken over selectieve antagonisten en/of agonisten. Een selectieve TNFR1 antagonist remt de hevige infiltratie van T-helper cellen en demyelinisatie in het ruggenmerg. De infiltratie van CD4+ T-cellen, waaronder Th17 en Th1 zijn verminderd en tevens vindt er een verlaging plaats van de serum levels van IL-17 en IFN-γ, uitgescheiden

door Th17 en Th1. Deze data zou erop kunnen wijzen dat de antagonist, de differentiatie tot Th1 of Th17 cellen of de ophoping van deze cellen in de lymfeknopen onderdrukt (Nomura et al. 2011).

In het ruggenmerg van EAE muizen komt TNFR1 tot expressie in neuronen, OLG's en astrocyten en komt TNFR2 tot expressie in OLG's, OPC's, astrocyten en macrofagen/microglia. Bij post mortem onderzoek bij patiënten met progressieve MS bleek dit vergelijkbaar te zijn (Brambilla et al. 2011).
Maier et al. hebben zich in een onderzoek in 2013 voornamelijk gericht op de rol van TNFR2 bij OLG's. Het was wel al bekend dat TNFR2 tot expressie komt op OLG's, maar wat het effect van TNFR2 activatie was op OLG's was niet bekend. Zij kwamen er achter dat TNFR2 voornamelijk tot expressie wordt gebracht op OLG progenitor cellen (OPC's) als deze worden vergeleken met gedifferentieerde OLG's. Bij stimulatie van TNFR2 worden OPC's beschermd tegen oxidatieve stress, onder andere door de opregulatie van anti-apoptotische genen. In een van hun eerder studies hadden ze al gevonden dat TNR2 stimulatie neuronen kan redden van apoptose, geïnduceerd door oxidatieve stress. Dit in combinatie met hun resultaten in 2013, laat zien dat TNFR2 signalering belangrijk is bij neuroprotectie (Maier et al. 2013).

Naast dat er twee verschillende receptoren zijn, komt TNF ook in twee verschillende biologisch actieve vormen voor. Een transmembraan TNF en een geknipte versie ervan; soluble TNF. Terwijl transmembraan TNF op beide receptoren werkt, is soluble TNF selectief voor TNFR1. Uit onderzoeken is naar voren gekomen dat deze verschillende biologische vormen, net als de receptoren, tegenovergestelde effecten hebben. Bij gebruik van XPro1595, een dominant negatieve TNF remmer, welke selectief solTNF remt, werden de klinische symptomen van EAE bij muizen erg verbeterd en dan zowel bij de profylactische als bij de therapeutische protocollen, in vergelijking met de EAE muizen die de niet-selectieve TNF remmer etanercept toegediend hadden gekregen. Wanneer beide vormen van TNF geremd worden, is er geen sprake van enige bescherming meer en wordt de ziekte alleen maar erger. Wanneer tmTNF gewoon zijn werk kan doen en solTNF geremd wordt, worden er minder inflammatoire mediatoren geproduceerd en blijven de levels van neuroprotectieve mediatoren in de hersenen en in het ruggenmerg gelijk of worden deze zelfs verhoogd. De beschermende functies van tmTNF blijken afhankelijk van de activiteit van NF-κB, omdat bij muizen die geen IKKβ, de regulator van NF-κB, hadden in hun glutamaterge neuronen er geen bescherming was van de XPro1595 (Taoufik et al. 2011).
De remming van solTNF werkt therapeutisch bij MS. Het zorgt voor axon preservatie en verbetering van de verdichting van de myeline. Tevens is er verhoogde expressie van axon-specifieke moleculen, waaronder neurofilament H, en is er verlaagde expressie van niet-gefosforyleerd neurofilament H, wat gekoppeld is aan axonschade. EAE muizen behandeld met een antagonist voor solTNF laten meer remyelinisatie zien en hebben een verhoogde expressie van myeline-specifieke genen, daarnaast hebben ze meer OPC's (Brambilla et al. 2011).

TNFR2 in OLG's dragen bij aan gunstige effecten gemedieerd door tmTNF in EAE muizen, en dit is in vivo bewijs dat oligodendrogliale TNFR2 beschermend is in neuroimmuunziektes. De activatie van TNFR2 door tmTNF zet specifieke signaaltransductiepaden aan, waaronder miRNA modulatie, en deze zetten de OLG's in een soort reparatie modus. Dit draagt bij aan remyelinisatie en voorkomt verlies van axonen (Madsen et al. 2016).

4.1 Therapieën voor MS gericht op TNF

MS kan nog niet worden genezen, maar er zijn wel een aantal behandelingsmethoden waarmee de symptomen behandeld kunnen worden en de progressie van de ziekte enigszins kan worden geremd. De laatste jaren zijn er redelijk wat therapieën gekomen die ingrijpen op het ziekteverloop bij MS. De hoofdaangrijpingspunten bij deze therapieën zijn: de antigeen-presentatie, perifere immuunrespons, bloedhersen-barrière en het targetweefsel in het CZS. Er zijn verschillende types van immunotherapie en elke grijpt aan op andere componenten in de onderliggende immunopathologie (Grigoriadis et al. 2015).

De eerste immunotherapie die beschikbaar kwam om in te zetten bij MS was interferon-β. IFN-β is een immunomodulerend middel, waarvan er vier varianten bestaan namelijk: Avonex, Rebif, Betaferon en Extavia (Weissert, 2013). De onderliggende cellulaire mechanismes van IFN-β zijn nog niet helemaal ontrafeld, maar er is ontdekt dat het betrokken is bij onderdrukking van T-cel proliferatie en remming van migratie van T-cellen over de BBB. Andere immunomodulatoren zijn: glatirameer acetaat, dimethylfumaraat en teriflunomide, en net als interferon-β brengen zij de productie van cytokines en chemokines in de inflammatie cascade omlaag en remmen ze de migratie van geactiveerde T-cellen over de BBB (Grigoriadis et al. 2015).
Daarnaast zijn er ook nog algehele immunosuppressiva, zoals mitoxantrone en cyclofosfamide. Deze remmen de proliferatie van B- en T-cellen, deze depletie verlaagt de hoeveelheid effectorcellen die naar het CZS kunnen migreren.

Een ander type behandeling is immuun-specifieke interventie en hier zijn drie types in te onderscheiden. Het eerste type is een blokkerend type, het middel natalizumab is hier een voorbeeld van. Het is een humaan-monoklonaal antilichaam tegen VLA-4. VLA-4 staat voor very late antigen-4 en is een integrine dimeer en bevindt zich op het oppervlakte van een T-cel en dient voor de migratie over de BBB. Wanneer dit VLA-4 dus geblokkeerd wordt, wordt ook de migratie van de T-cellen over de BBB geremd. Er zitten wel bijwerkingen aan dit middel, maar omdat de risico's niet opwegen tegen de voordelen wordt het middel nog wel gebruikt (Weissert, 2013).

Het tweede type immuun-specifieke interventie is het sequestering type, het middel fingolimod valt hieronder. Fingolimod zorgt ervoor dat lymfocyten die CCR7 tot expressie brengen niet de lymfoïde weefsels uitgaan en verlaagt hierdoor tegelijk de infiltratie van lymfocyten het CZS in (Grigoriadis et al. 2015). Fingolimod was het eerste orale medicijn voor MS. Het grijpt aan op de sphingosine-1-fosfaat receptoren en beïnvloed zo de T-cel migratie (Weissert, 2013).

Het derde type is het depleting type. Hieronder valt alemtuzumab, dit middel introduceerde een nieuw concept voor de behandeling van MS en gaf nieuwe inzichten in de onderliggende mechanismen van de ziekte. Behandeling met dit middel zorgt voor een depletie van T- en B-cellen. Deze cellen hebben een CD52 marker en hieraan bindt alemtuzumab. Omdat regulatoire T-cellen deze marker maar heel weinig tot expressie brengen, worden deze gespaard. Na binding van alemtuzumab aan cellen met een CD52 marker, worden deze cellen aangevallen en afgebroken (Grigoriadis et al. 2015).

5. Discussie en Conclusie

Bij MS is er sprake van een ontstekings- en een neurodegeneratieve component. De ziekte leidt uiteindelijk tot onomkeerbare verschijnselen. De demyelinisatie is wel specifiek voor MS, maar de neurodegeneratie en atrofie en uiteindelijk het verlies van de functie van axonen door het gehele brein komt overeen met andere neurodegeneratieve ziektes. De onderliggende oorzaak van MS is ondanks veel onderzoek nog niet achterhaald. Wel is het duidelijk dat er sprake is van een overheersende progressief degeneratief fenotype, samen met een belangrijke autoimmuun inflammatoire component. Histopathologische onderzoeken tonen aan dat er altijd in meer of minder mate sprake is van gelijktijdige degeneratie/demyelinisatie en adaptieve T-cel afhankelijke immuunresponsen. Het is daarom moeilijk om aan te geven of degeneratie of autoimmuniteit de primaire oorzaak is van de aanzet van de ziekte (Stys. 2013).

De therapieën die er momenteel zijn, werken tot nog toe alleen bij de relapsing vormen. Zodra de patiënt de progressieve fase in gaat, werken de medicijnen niet meer. Dit geeft wel aan dat het mechanisme van de ziekte nog niet volledig duidelijk is. Bij de inflammatie die optreedt zijn alle componenten van het immuunsysteem betrokken en een van de belangrijkste mediatoren in dit proces is Tumor Necrose Factor. Een van de manieren om MS aan te pakken is door te voorkomen dat geactiveerde T-cellen de BBB over gaan. Omdat TNF een cytokine is waarvan gedacht wordt dat het de drijvende factor is achter de inflammatie en het ook invloed heeft op de permeabiliteit van de BBB, werd aanvankelijk gedacht dat het neutraliseren van TNF dan positieve effecten zou hebben. Studies op EAE dieren leken positief en daarom werden er studies uitgevoerd op mensen. Zonder succes, de ziekte werd alleen maar verergerd. Dit laat wel zien dat onze inzichten in de pathogenese van MS gelimiteerd zijn, maar ook dat er niet zomaar geëxtrapoleerd kan worden van diermodellen naar mensen (Compston en Coles. 2002).

Alle op dit moment beschikbare therapeutische middelen, maar ook de middelen die nog onderzocht worden en nog niet bij mensen worden gebruikt, zijn alleen gericht op de relapsing vormen van MS. Ze kunnen de patiënt niet genezen, maar wel de mate en de ernst van aanvallen beïnvloeden en positieve invloed uitoefenen op de progressie van de ziekte. De therapieën hebben alleen invloed op de relapsing vormen omdat ze allemaal immuuncomponenten als doelwit hebben. Deze componenten zijn actief bij MS aanvallen. Echter, er zijn nog geen therapieën die werken bij de progressieve vormen van MS. Het feit dat alle therapieën alleen bij relapsing MS helpen, geeft wel aan dat er bij de onderliggende oorzaak voornamelijk inflammatie betrokken is. Tevens geeft het aan dat er sprake is van andere mechanismes bij progressieve MS en dat deze nog niet begrepen worden. Gebaseerd op de resultaten van klinische trials kan geconcludeerd worden dat inflammatie een primaire oorzaak van de aanzet en de progressie van MS is (Weissert. 2013).

De bevinding dat inflammatie bij de progressieve fase als het ware opgesloten wordt in het CZS door de BBB, lijkt een antwoord te geven op het feit dat behandelingen met anti-inflammatoire, immunomodulatoren en immunosuppressieve middelen in het begin bij de relapsing fase nog wel effect hebben, maar later in de progressieve fase niet meer (Lassmann et al. 2007).
Stap voor stap komen de onderliggende mechanismes van MS steeds meer aan het licht, maar er valt nog veel te onderzoeken. Een aantal grote uitdagingen voor het onderzoeken van MS zijn onder andere: het definiëren van de correlaties tussen genotypes en fenotypes, het identificeren van sleutelsignalen voor immunologische processen en het beter begrijpen van de relatie tussen inflammatie en neurodegeneratie, ofwel het mislukken van het herstellen. Daarnaast is het op klinisch niveau nog erg van belang dat er biomarkers gevonden worden die het makkelijker maken om de diagnose te stellen en om een prognose te maken, maar ook om te bepalen of een patiënt wel of niet zal reageren op een behandeling (Grigoriadis et al. 2015).

Er zijn wel al een aantal potentiële middelen, maar deze worden nog niet toegepast bij mensen. TNF wordt dus gezien als een van de belangrijkste mediatoren van inflammatie en autoimmuniteit, deze zou daarom een goed doelwit voor therapieën kunnen zijn. Echter, de complexiteit en specificiteit van TNF

maakt het wel een lastig doelwit voor neuroinflammatie. Eerst werd er vooral gericht op globale ligand blokkering, maar toen bleek dat TNF complexer is dan eerst werd gedacht. TNF bleek ook anti-inflammatoire functies te hebben. De verschuiving naar selectieve receptor inhibitie vond plaats, toen bekend werd dat TNFR1 zorgt voor pro-inflammatoire en pro-apoptotische signalen en dat TNFR2 zorgt voor celproliferatie, weefsel homeostase en regeneratie. Sindsdien zijn er verschillende TNFR1-selectieve inhibitoren ontwikkelt, een voorbeeld hiervan is ATROSAB; een gehumaniseerd monoklonaal antilichaam die specifiek de pro-inflammatoire TNFR1 blokkeert, zonder de TNFR2 te beïnvloeden (Richter et al. 2013). ATROSAB staat voor antagonistic TNF receptor one-specific antibody, en remt selectief TNFR1-gemedieerde celresponsen zoals de inductie van celdood en de uitscheiding van IL-6 en IL-8, welke aangezet wordt door NF-ϰB afhankelijke genexpressie (Zettlitz et al. 2010).

ATROSAB lijkt een veelbelovend nieuw antilichaam voor de behandeling van inflammatoire en degeneratieve ziektes zoals MS. Het is een bivalent IgG1 molecuul en heeft hoge affiniteit voor de TNFR1. Andere specifieke TNFR1-antilichamen tonen vaak veel agonistische activiteit, maar bij ATROSAB is geen significante receptor activatie gevonden. Daarnaast is ATROSAB effectief in het blokkeren van binding van zowel TNF als lymfotoxine-α, waar TNF blokkerende antilichamen alleen de binding van TNF blokkeren (Richter et al. 2013). Voor lymfotoxine-α komt namelijk ook steeds meer bewijs dat het ook bijdraagt aan een pro-inflammatoire respons in EAE (Gommerman et al. 2003). ATROSAB remt dus alle pro-inflammatoire signalen die door TNFR1 gemedieerd worden en komt niet aan TNFR2. Het combineert dus de voordelen van selectieve TNFR1 blokkering met de voordelen van het remmen van de activiteit van TNF en lymfotoxine-α (Richter et al. 2013).

Een ander therapeutisch aangrijpingspunt zouden ook de twee verschillende vormen van TNF kunnen zijn, namelijk tmTNF en solTNF. TNFR2 wordt voornamelijk geactiveerd door tmTNF en TNFR1 voornamelijk door solTNF. En het blijkt dat TNFR2 een belangrijk signaal geeft voor differentiatie van OLG's. Bij activatie worden OLG's aangezet tot remyelinisatie en wordt zo voorkomen dat er meer axonen verloren gaan en de symptomen verergeren. Deze eigenschap maakt TNFR2 en solTNF nieuwe waardevolle therapeutische doelwitten. Selectieve TNFR2 agonisten en selectieve solTNF remmers zorgen ervoor dat de balans verschuift naar de kant van TNFR2 activatie. De agonisten en remmers zouden apart ingezet kunnen worden, maar misschien ook wel als een combinatie, en stimuleren zo reparatie van myeline. Deze aanpak zou een therapie kunnen zijn voor primair progressief MS, welke hard nodig is omdat er nog geen behandelingen beschikbaar zijn voor deze vorm (Madsen et al. 2016). De resultaten van Maier et al. 2013 gaven al aan dat TNFR2 in vitro OPC's kan beschermen tegen oxidatieve stress door het tot expressie brengen van anti-apoptotische eiwitten en tevens benadrukten hun resultaten de potentie van TNFR2 in neuroregeneratieve processen in vivo (Maier et al. 2013).

In het behandelen van MS is het de uitdaging om de schade te remmen, terwijl reparatie nog wel kan plaatsvinden. In Brambilla et al. (2011) lieten ze zien dat solTNF zorgt voor schade en tmTNF zorgt voor reparatie. De selectieve solTNF remmer XPro1595, in tegenstelling tot algehele TNF inhibitoren die bij mensen voor demyelinisatie zorgen, behoudt de beschermende functies van TNF. Daarom maakt dit XPro1595 ook een potentieel middel als MS medicijn (Brambilla et al. 2011).

Kortom, er is al veel bekend geworden over multiple sclerose in de afgelopen jaren. Door onderzoeken is men erachter gekomen dat T-cellen een belangrijke rol spelen in de pathogenese van de ziekte. Tevens is bekend geworden dat tumor necrose factor een belangrijke initiator is in de ontstekingsreactie en dat TNF niet alleen betrokken is bij MS, maar ook bij vele andere neurodegeneratieve aandoeningen. Toch zijn de oorzaak van en het mechanisme achter MS nog niet ontrafeld. Mede hierdoor zijn onderzoekers er nog niet in geslaagd om medicijnen en therapieën te ontwikkelen waarmee patiënten met MS kunnen worden genezen. Voor de progressieve vorm zijn helemaal nog weinig behandelingsmethoden gevonden. Op het gebied van MS zijn nog veel mogelijkheden voor het ontdekken van nieuwe genen die erbij zijn betrokken, nieuwe pathways en nog vele andere componenten. Er zijn wel al een aantal middelen ontwikkeld die een

potentieel medicijn voor patiënten kunnen worden. Echter, deze middelen moeten eerst nog veel getest worden voordat ze op mensen kunnen worden toegepast. Ook zijn er bij TNF nog verscheidene aangrijpingspunten die als doelwit kunnen worden gebruikt in de bestrijding van MS. TNF heeft zowel beschermende functies als degeneratieve functies en het is de uitdaging om hier een goede balans in te vinden

Referenties

Arnason, B. G. W., Jacobs, G., Hanlon, M., Clay, B. H., Noronha, A. B. C., Auty, A., ... & Gosselin, F. (1999). TNF neutralization in MS-results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. *Neurology*. 53(3): 457-465.

Ascherio, A., & Munger, K. L. (2007). Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Annals of neurology*, *61*(4), 288-299.

Boyle, E. A., & McGeer, P. L. (1990). Cellular immune response in multiple sclerosis plaques. *The American journal of pathology*. 137(3): 575.

Brambilla R., Ashbaugh J.J., Magliozzi R., Dellarole A., Karmally S., Szymkowski D.E., Bethea J.R. (2011). Inhibition of soluble tumour necrosis factor is therapeutic in experimental autoimmune encephalomyelitis and promotes axon preservation and remyelination. 134: 2736-2754. DOI:10.1093/brain/awr199.

Cabal-Hierro L, Artime N, Iglesias J, Prado MA, Ugarte-Gil L, Casado P, Fernández-García B, Darnay BG, Lazo PS. (2013). A TRAF2 binding independent region of TNFR2 is responsible for TRAF2 depletion and enhancement of cytotoxicity driven by TNFR1. *Oncotarget*. 5(1): 224-236. DOI:10.18632/oncotarget.1492.

Caminero A, Comabella M, Montalban X. (2011). Tumor necrosis factor alpha (TNF-α), anti-TNF-α and demyelination revisited: An ongoing story. *Journal of Neuroimmunology*. 234(1-2): 1-6. DOI:10.1016/j.jneuroim.2011.03.004.

Chen G, Goeddel DV. (2002). TNF-R1 Signaling: A Beautiful Pathway. *Science*. 296(5573):1634-5. http://www.jstor.org/stable/3076867.

Compston A. (2004). The pathogenesis and basis for treatment in multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 106: 246–248. DOI:10.1016/j.clineuro.2004.02.007.

Compston A, Coles A. (2002). Multiple Sclerose. *Lancet*. 359: 1221-31. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08220-X

Constantinescu, C. S., Farooqi, N., O'Brien, K., & Gran, B. (2011). Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *British journal of pharmacology*. 164(4): 1079-1106.

Cudrici C, Niculescu T, Niculescu F, ML, Rus H. (2006). Oligodendrocyte cell death in pathogenesis of multiple sclerosis: Protection of oligodendrocytes from apoptosis by complement. *Journal of Rehabilitation Research & Development*. 43(1): 123-132. DOI: 10.1682/JRRD.2004.08.0111.

Dong, Y., Dekens, D. W., De Deyn, P. P., Naudé, P. J., & Eisel, U. L. (2015). Targeting of Tumor Necrosis Factor Alpha Receptors as a Therapeutic Strategy for Neurodegenerative Disorders. *Antibodies*, *4*(4), 369-408.

Eugster, H. P., Frei, K., Bachmann, R., Bluethmann, H., Lassmann, H., & Fontana, A. (1999). Severity of symptoms and demyelination in MOG-induced EAE depends on TNFR1. *European journal of immunology*. 29(2): 626-632.

Faustman, D., & Davis, M. (2010). TNF receptor 2 pathway: drug target for autoimmune diseases. *Nature reviews Drug discovery*, 9(6), 482-493.

Fotin-Mleczek, M., Henkler, F., Samel, D., Reichwein, M., Hausser, A., Parmryd, I., ... & Wajant, H. (2002). Apoptotic crosstalk of TNF receptors: TNF-R2-induces depletion of TRAF2 and IAP proteins and accelerates TNF-R1-dependent activation of caspase-8. *Journal of cell science*, *115*(13), 2757-2770.

Göbel, K., Pankratz, S., Asaridou, C. M., Herrmann, A. M., Bittner, S., Merker, M., ... & Krug, T. F. (2016). Blood coagulation factor XII drives adaptive immunity during neuroinflammation via CD87-mediated modulation of dendritic cells. *Nature communications*, *7*.

Grigoriadis N, Grigoriadis S, Polyzoidou E, Milonas I, Karussis D. (2006). Neuroinflammation in multiple sclerosis: evidence for autoimmune dysregulation, not simple autoimmune reaction. *Clinical Neurology Neurosurgery*. 108(3): 241-244. DOI:10.1016/j.clineuro.2005.11.006.

Hemmer, B., Kieseier, B., Cepok, S., & Hartung, H. P. (2003). New immunopathologic insights into multiple sclerosis. *Current neurology and neuroscience reports*, *3*(3), 246-255.

Hofman, F. M., Hinton, D. R., Johnson, K., & Merrill, J. E. (1989). Tumor necrosis factor identified in multiple sclerosis brain. *The Journal of experimental medicine*, *170*(2), 607-612.

Hohlfeld, R., & Wekerle, H. (2004). Autoimmune concepts of multiple sclerosis as a basis for selective immunotherapy: from pipe dreams to (therapeutic) pipelines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(2), 14599-14606.

Hughes, E. G., & Appel, B. (2016). The cell biology of CNS myelination. *Current opinion in neurobiology*, *39*, 93-100.

Klinkert WE, Kojima K, Lesslauer W, Rinner W, Lassmann H, Wekerle H. (1997). TNF-alpha receptor fusion protein prevents experimental autoimmune encephalomyelitis and demyelination in Lewis rats : an overview. *J Neuroimmunol*. 72(2): 163-168. DOI:10.1016/S0165-5728(96)00183-X .

Kumar DR, Aslinia F, Yale SH, Mazza JJ. (2011). Jean-Martin Charcot: The father of Neurology. *Clinical Medicine & Research*. 9(1): 46-49. DOI: 10.3121/cmr.2009.883.

Kutzelnigg, A., Lucchinetti, C. F., Stadelmann, C., Brück, W., Rauschka, H., Bergmann, M., ... & Lassmann, H. (2005). Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*, *128*(11), 2705-2712.

Landtblom A, Fazio P, Fredrikson S, Granieri E. (2010). The fist case history of multiple sclerosis: Augustus d'Esté (1794-1848). *Neurological Sciences*. 31(1): 29-33. DOI: 10.1007/s10072-009-0161-4.

Lassmann, H., Brück, W., & Lucchinetti, C. F. (2007). The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain pathology*, *17*(2), 210-218.

Madsen, P. M., Motti, D., Karmally, S., Szymkowski, D. E., Lambertsen, K. L., Bethea, J. R., & Brambilla, R. (2016). Oligodendroglial TNFR2 mediates membrane TNF-dependent repair in experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting oligodendrocyte differentiation and remyelination. *The Journal of Neuroscience*, *36*(18), 5128-5143.

Maier, O., Fischer, R., Agresti, C., & Pfizenmaier, K. (2013). TNF receptor 2 protects oligodendrocyte progenitor cells against oxidative stress. *Biochemical and biophysical research communications*, *440*(2), 336-341.

Marchetti, L., Klein, M., Schlett, K., Pfizenmaier, K., & Eisel, U. L. (2004). Tumor necrosis factor (TNF)-mediated neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity is enhanced by N-methyl-d-aspartate receptor activation essential role of a TNF receptor 2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase-dependent NF-κB pathway. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(31), 32869-32881.

McCarthy, D. P., Richards, M. H., & Miller, S. D. (2012). Mouse models of multiple sclerosis: experimental autoimmune encephalomyelitis and Theiler's virus-induced demyelinating disease. *Autoimmunity: Methods and Protocols*, 381-401.

McCoy, M. K., & Tansey, M. G. (2008). TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *Journal of neuroinflammation*. 5(1): 1.

Micheau, O., & Tschopp, J. (2003). Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*. 114(2): 181-190.

Montgomery, S. L., & Bowers, W. J. (2012). Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. *Journal of neuroimmune pharmacology*. 7(1): 42-59.

Nomura, T., Abe, Y., Kamada, H., Shibata, H., Kayamuro, H., Inoue, M., ... & Nagano, K. (2011). Therapeutic effect of PEGylated TNFR1-selective antagonistic mutant TNF in experimental autoimmune encephalomyelitis mice.*Journal of controlled release*, *149*(1), 8-14.

Nuyts, A. H., Lee, W. P., Bashir-Dar, R., Berneman, Z. N., & Cools, N. (2013). Dendritic cells in multiple sclerosis: key players in the immunopathogenesis, key players for new cellular immunotherapies?. *Multiple Sclerosis Journal*, 1352458512473189.

Ofengeim, D., Ito, Y., Najafov, A., Zhang, Y., Shan, B., DeWitt, J. P., ... & Geng, J. (2015). Activation of necroptosis in multiple sclerosis. *Cell reports*,*10*(11), 1836-1849.

Orozco, S., Yatim, N., Werner, M. R., Tran, H., Gunja, S. Y., Tait, S. W., ... & Oberst, A. (2014). RIPK1 both positively and negatively regulates RIPK3 oligomerization and necroptosis. *Cell Death & Differentiation*, *21*(10), 1511-1521.

Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinshenker B, Wolinsky JS. (2011). Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria. *Annals of Neurology.* 69: 292-302. DOI: 10.1002/ana.22366.

Rauert, H., Wicovsky, A., Müller, N., Siegmund, D., Spindler, V., Waschke, J., ... & Wajant, H. (2010). Membrane tumor necrosis factor (TNF) induces p100 processing via TNF receptor-2 (TNFR2). *Journal of Biological Chemistry*,*285*(10), 7394-7404.

Richter, F., Liebig, T., Guenzi, E., Herrmann, A., Scheurich, P., Pfizenmaier, K., & Kontermann, R. E. (2013). Antagonistic TNF receptor one-specific antibody (ATROSAB): receptor binding and in vitro bioactivity. *PloS one.* 8(8), e72156.

Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update.*Neurological sciences*. 22(2): 117-139.

Selmaj, K., Raine, C. S., Cannella, B., & Brosnan, C. F. (1991). Identification of lymphotoxin and tumor necrosis factor in multiple sclerosis lesions. *Journal of Clinical Investigation*, *87*(3), 949.

Sharief, M. K., & Hentges, R. (1991). Association between tumor necrosis factor-α and disease progression in patients with multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*. 325(7): 467-472.

Stys, P. K. (2013). Pathoetiology of multiple sclerosis: are we barking up the wrong tree?. *F1000prime reports*, *5*.

Taoufik, E., Tseveleki, V., Chu, S. Y., Tselios, T., Karin, M., Lassmann, H., ... & Probert, L. (2011). Transmembrane tumour necrosis factor is neuroprotective and regulates experimental autoimmune encephalomyelitis via neuronal nuclear factor-κB. *Brain*, *134*(9), 2722-2735.

Veen PAF van, Sijs N van der. (1997). Ethymologisch woordenboek. De herkomst van onze woorden. Utrecht/Antwerpen: Van Dale Lexicografie.

Wajant, H., & Scheurich, P. (2011). TNFR1-induced activation of the classical NF-κB pathway. *FEBS Journal*. 278(6), 862-876.

Wajant, H., Pfizenmaier, K., & Scheurich, P. (2003). Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death & Differentiation*, 10(1): 45-65.

Weinberg, R.A. (2014). *The Biology of Cancer* (2e ed.). New York, USA: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.

Weissert, R. (2013). The immune pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 8(4): 857-866.

Zettlitz, K. A., Lorenz, V., Landauer, K., Münkel, S., Herrmann, A., Scheurich, P., Pfizenmaier K., Kontermann, R. (2010). ATROSAB, a humanized antagonistic anti-tumor necrosis factor receptor one-specific antibody. *MAbs.* 2(6): 639-647. DOI: 10.4161/mabs.2.6.13583.