

NFR prosjekt 229035:

”B-lymphocyte depletion with Rituximab induction and maintenance in ME/CFS. A multicenter, randomised, double-blinded and placebo-controlled study”.

03.09.2013

Øystein Fluge

~~Kreftavdelingen, Haukeland Universitetssykehus~~

Department of Oncology, Haukeland University Hospital

~~ME/CFS diagnose etter "Canadiske kriterier".~~

- ~~-Fatigue og sykdomsfølelse etter anstrengelser, uten restitusjon etter hvile.~~
- ~~-Søvnforstyrrelser.~~
- ~~-Kognitiv dysfunksjon. "Tåkefølelse".~~
- ~~-Smerter i muskulatur, ledd, hodepine .~~
- ~~-En rekke autonome symptomer (svimmelhet, ortostatisk intoleranse, svetting, hjertebank, kalde hender/føtter, mage-tarm- og urinveissymptomer).~~
- ~~-Immunrelaterte symptomer som sår hals, ømme lymfeknuter, feberfølelse.~~

~~Cirka 0.2% av befolkningen, alle aldersgrupper, ofte unge voksne.~~

0.2% of the population suffer from M.E diagnosed with Canada criteria. Affects every age group, often young adults.

~~Må skilles fra generelle utmattelses/ tretthetstilstander (2-3 %).~~

Needs to be distinguished from general fatigue!!!

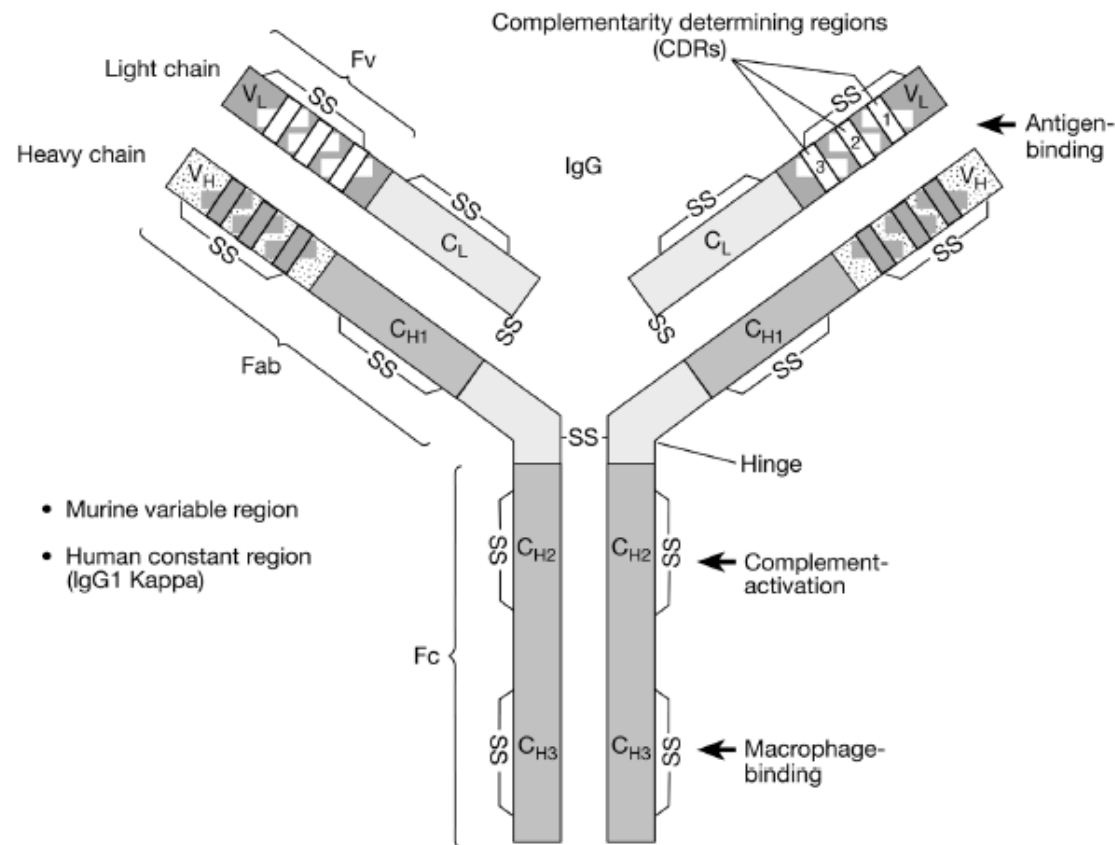
~~Ofte etter infeksjoner (70%).~~ Often after infections (70%)

~~Oftere kvinner enn menn, 3-4 : 1.~~ Female to men ratio: 3-4:1

Some are experiencing moderate fatigue, some are bedridden.

~~Varierende grad: fra moderat funksjonsnedsettelse til svært alvorlig sykdom (vegetativ).~~

Rituximab Mabthera®



- Komplement avhengig cytotoksitet (CDC)
- Cellemediert immun respons (ADCC)
- Apoptose (celledød)

- Terapeutisk monoklonalt antistoff rettet mot **CD20** molekylet.
- CD20 proteinet finnes på overflaten av **normale B-celler og de fleste B-celle lymfomer.**
- CD20 proteinet uttrykkes ikke:
 - på stamceller i beinmargen.
 - på de modne plasmacellene (som skiller ut normale immunglobuliner).

Research article

Open Access

Clinical impact of B-cell depletion with the anti-CD20 antibody rituximab in chronic fatigue syndrome: a preliminary case series

Øystein Fluge¹ and Olav Mella^{*1,2}

Address: ¹Department of Oncology and Medical Physics, Haukeland University Hospital, N-5021 Bergen, Norway and ²Institute of Medicine, Section of Oncology, University of Bergen, N-5021 Bergen, Norway

BMC Neurology, 2009

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

Benefit from B-Lymphocyte Depletion Using the Anti-CD20 Antibody Rituximab in Chronic Fatigue Syndrome. A Double-Blind and Placebo-Controlled Study

Øystein Fluge^{1*}, Ove Bruland^{1,2}, Kristin Risa¹, Anette Storstein³, Einar K. Kristoffersen⁴, Dipak Sapkota¹, Halvor Næss³, Olav Dahl^{1,5}, Harald Nyland³, Olav Mella^{1,5}

Plos One 2011,
KTS-1-2008

~~Randomisert fase II studie, placebo-kontrollert, dobbelt-blind, singel senter.~~

Randomized phase 2 study, placebo-controlled, double-blind, single center

~~Rituximab 500 mg/m², to infusjoner med to ukers mellomrom~~ to infusions, two weeks apart
versus

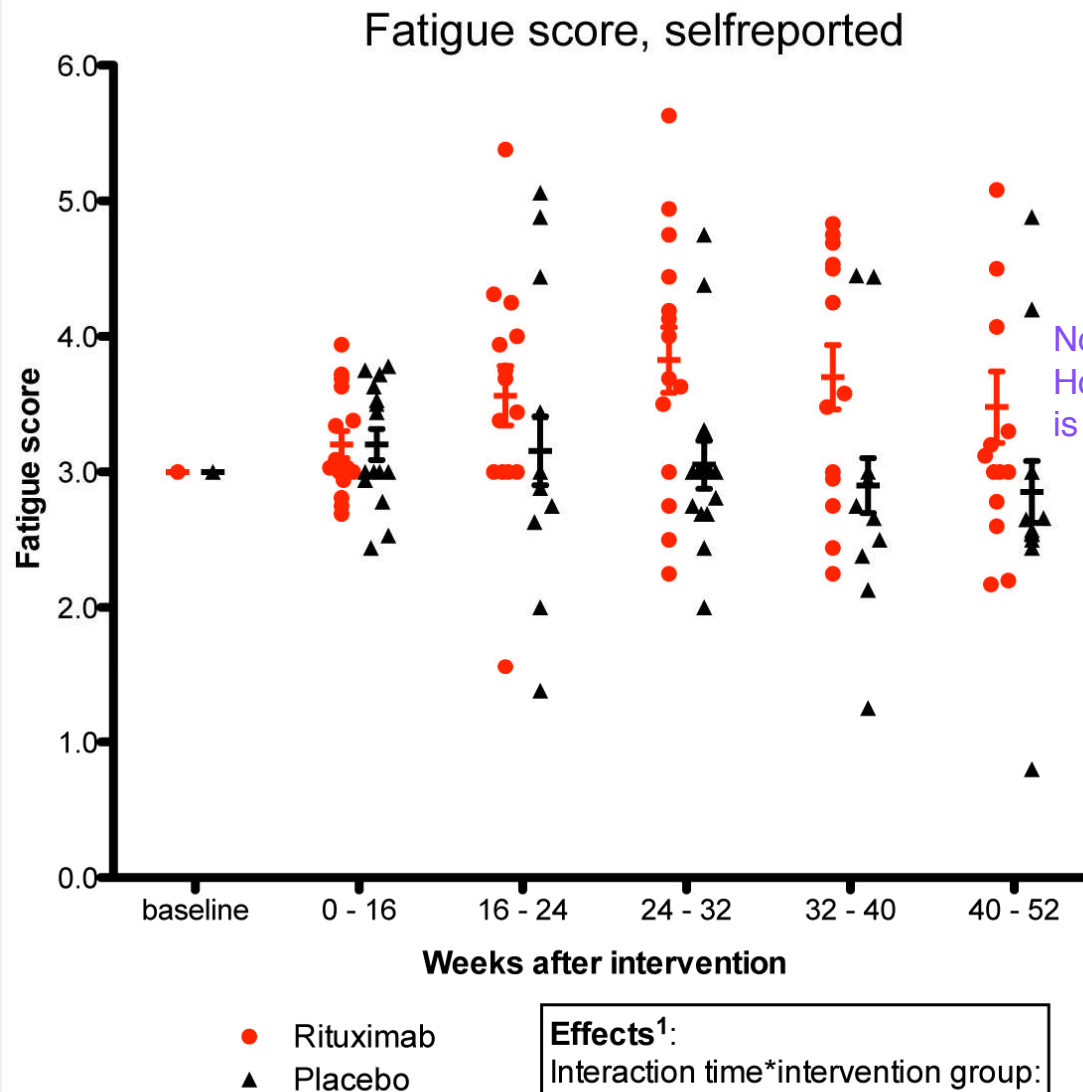
~~Saltvann, to infusjoner med to ukers mellomrom~~ Saltwater

~~30 pasienter inkludert (15 + 15). Oppfølging minst 12 mnd.~~
30 patients included in the study (15 + 15). Follow up for at least 12 months.

~~"Symptom score" basert på pasientenes egenrapportering hver annen uke.~~

~~Fatiguescore, Kognitiv score, Smertescore, "Andre symptomer" score.~~

Symptom score based on self reporting by the patient every fortnight. Fatigue score, cognitive score, pain score, "other symptoms" score.



Effects¹:
 Interaction time*intervention group:
 $p=0.018$

Rituximab versus Placebo groups:
 $p=0.045$

Time effect:
 $p=0.058$

General linear model (GLM) for
~~repetert måling av~~ repeated measure of
~~Fatiguescore.~~ fatigue score

~~Ingen forskjell ved 3 mnd~~
 (primært endepunkt).

No change seen after 3 months.
 However, after several months, the change in fatigue
 is significantly positive ($p=0.018$)

~~Signifikant interaksjon ($p=0.018$)~~
~~for intervensjonsgruppe * tid.~~

~~Dvs at forløpet for Fatiguescore~~
~~var signifikant forskjell for de to~~
~~gruppene over tid.~~

~~Forskjellen mest markert~~
~~6 – 10 mnd etter intervensjon.~~

Most change in fatigue are seen between month 6 and
 10.

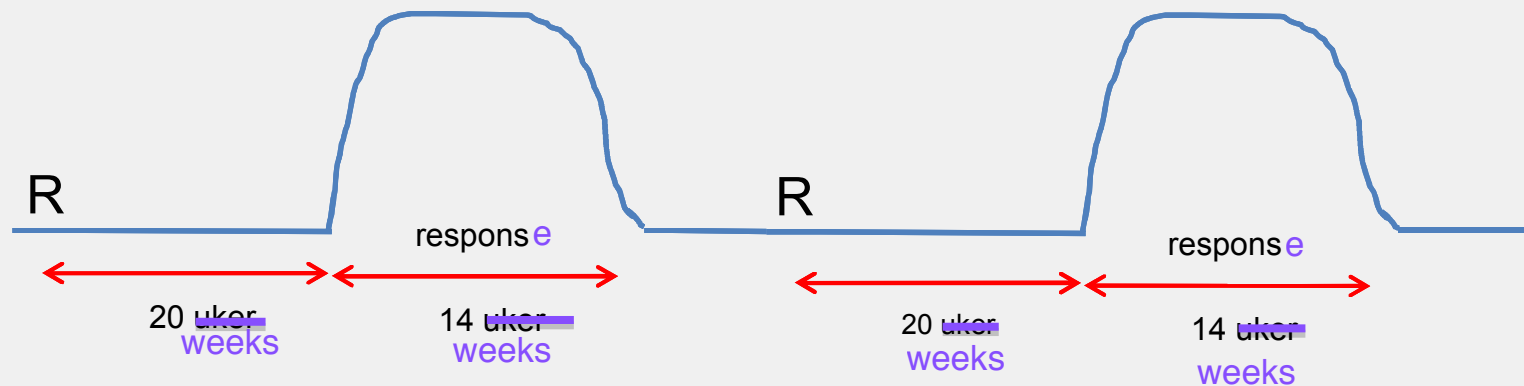
Overall response

10/15 (67%) i Rituximab gruppe.
 2/15 (13%) i Placebo gruppe.

No serious side effects seen

~~Ingen alvorlige bivirkninger.~~

Vedlikeholdsbehandling med Rituximab: forlenget periode med B-celle depleksjon



~~To påfølgende behandlinger. nær identisk mønster for respons og tilbakefall~~

After two more treatments: near identical pattern for response and relapse



KTS-2-2010, ~~åpen fase II studie (ingen placebogruppe), avsluttes nå.~~

Open phase 2 study. No placebo group. Study ends now (2013 autumn)

~~Rituximab infusjoner: etter 0 og 2 uker, pluss vedlikehold etter 3, 6, 10, 15 mnd.~~

Rituximab infusions: after 0 and 2 weeks, plus "maintenance" infusions after 3,6,10 and 15 months.

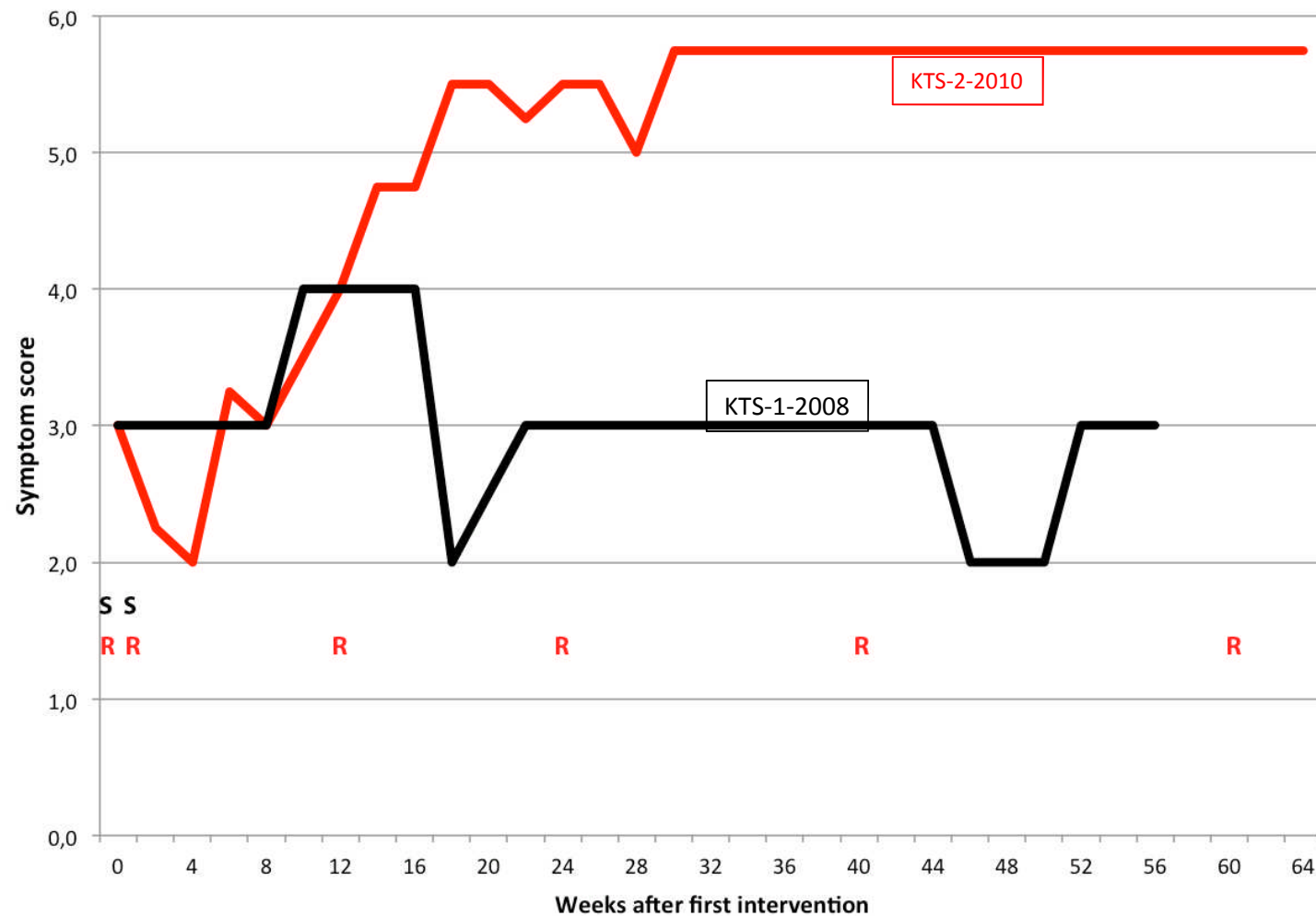
~~Alle 26 pasientene har vært observert i 30 - 34 mnd~~

All 26 patients have been observed for 30-34 months.

~~To pilotpasienter har vært observert i 48 mnd etter første infusjon~~

Two patients observed for 48 months after their first Rituximab infusion.

ID208. Fatiguescore. KTS-1-2008 (randomised, placebo) and KTS-2-2010 (with Rituximab)



Sensewear activity (in response)

mean per day (24 h):

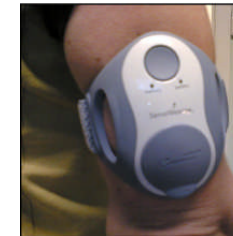
10800 steps (range 6000-18000)

3h:08m light activity

1h:41m moderate activity

0h:01m vigorous activity

total energy expend 9099 joules



— KTS-2-2010 (Rtx)

— KTS-1-2008 (placebo)

0: major worsening

1: moderate worsening

2: slight worsening

3: no change

4: slight improvement

5: moderate improvement

6: major improvement

Patient in the placebo group in the randomized study KTS-1-2008 (black)

Same patient included in KTS-2-2010 with Rituximab infusion and maintenance (red)

~~-Pasient i placebo gruppen i den randomiserte studien KTS-1-2008 (svart)~~

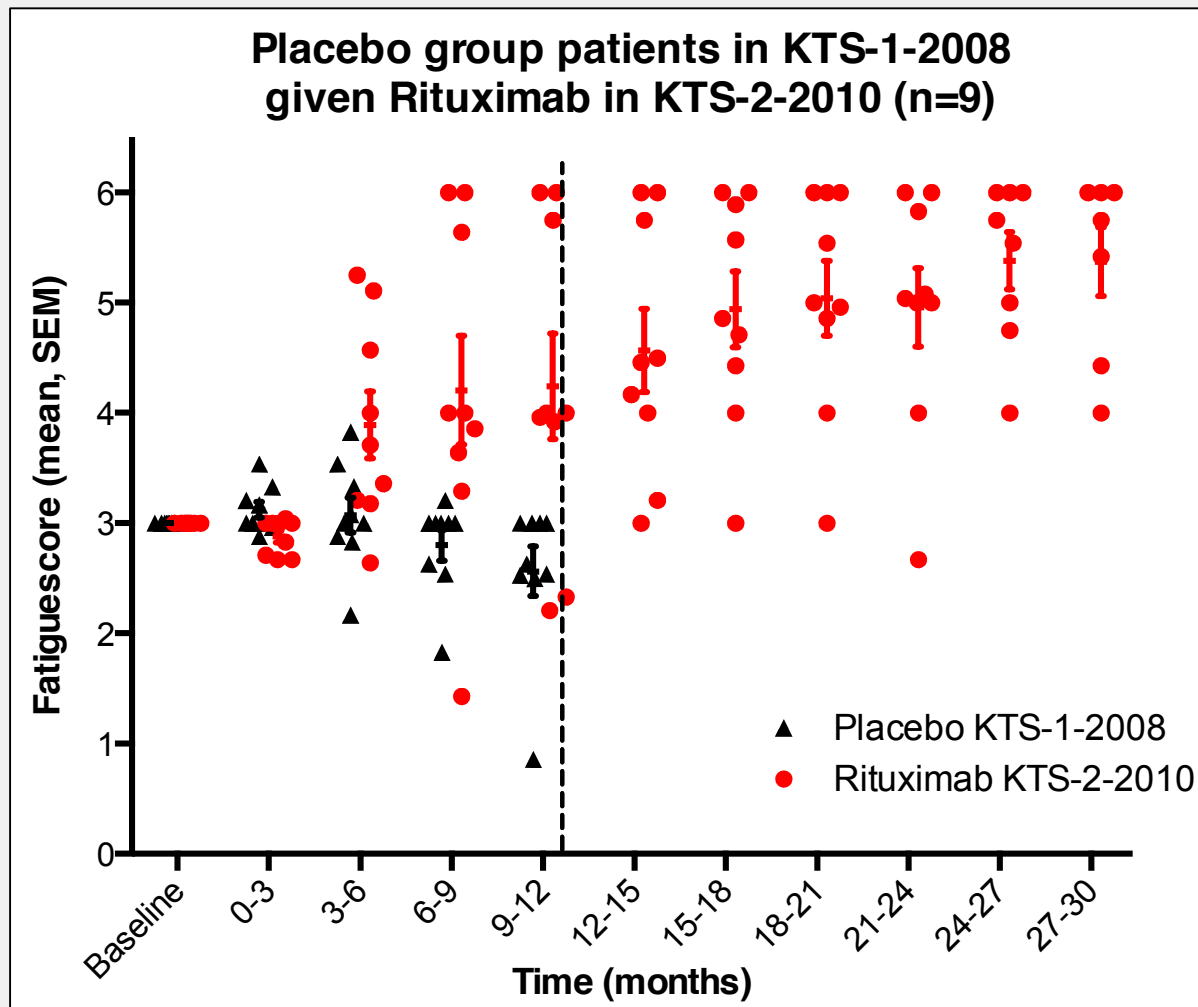
~~-Inkludert i KTS-2-2010 med Rituximab induksjon og vedlikehold (rød)~~

~~9 pasienter fra placebo gruppe in den randomiserte studien KTS-1-2008 deltok i KTS-2-2010 (Rituximab induksjon og vedlikehold).~~ 9 patients from the placebo group in the randomized study KTS-1-2008 participated in KTS-2-2010 (Rituximab infusion and maintenance)

~~0 av de 9 pasientene hadde klinisk respons gjennom 12 mnd i KTS-1-2008 med Placebo (saltvann).~~ 0 of 9 patients experienced clinic response after 12 months in KTS-1-2008 with placebo (salt water)

~~6 av de 9 pasientene hadde klinisk response i 12 mnd oppfølging i KTS-2-2010 med Rituximab.~~

6 of 9 of the same patients experienced a clinical response after 12 month follow up in KTS-2-2010 with rituximab



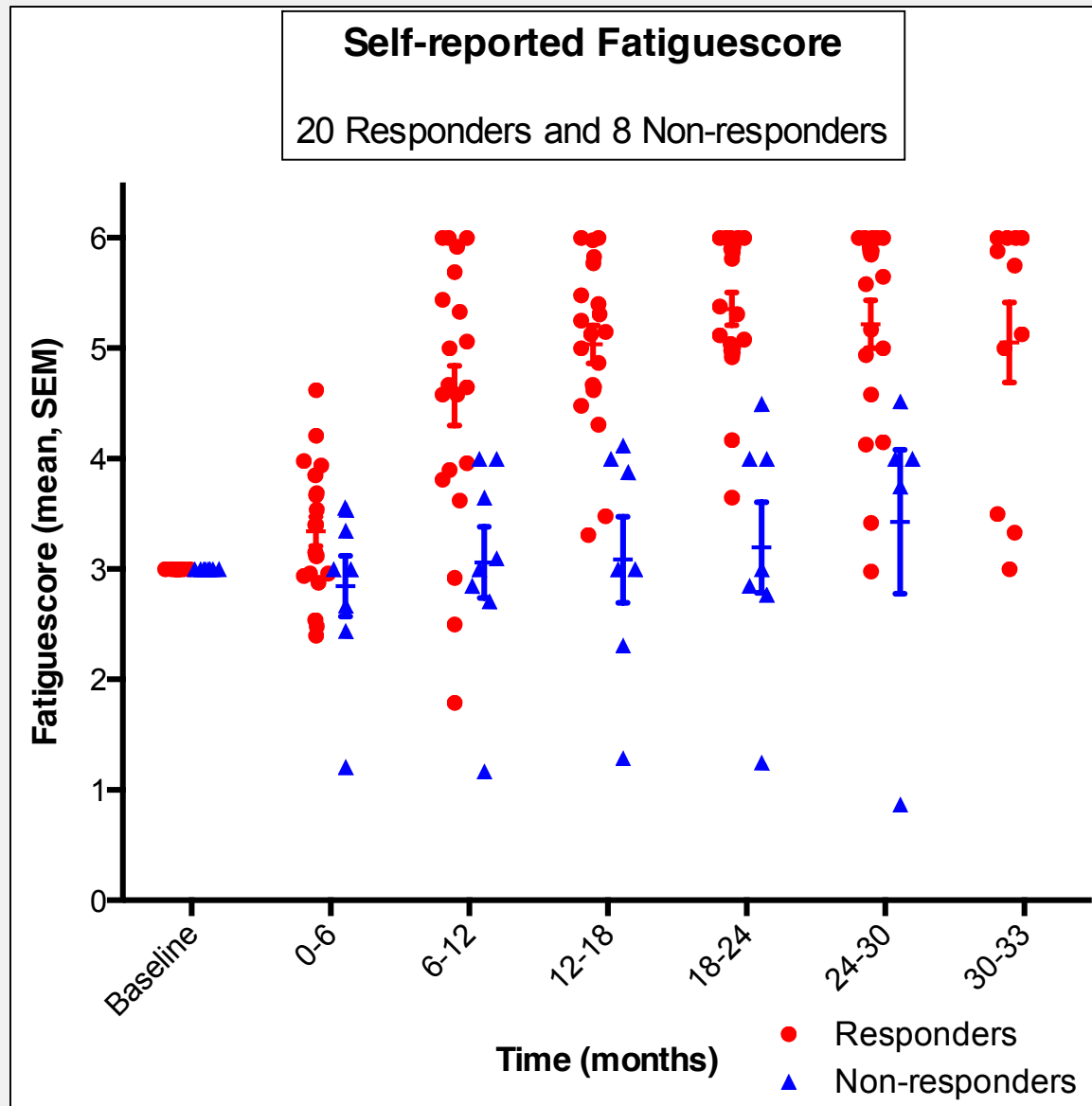
Mean Fatiguescore for tidsintervallene i oppfølging

GLM for repetert måling av Fatiguescore (til 12 mnd):

$P=0.003$ for interaksjon tid*gruppe

De samme 9 pasientene fikk Placebo og deretter Rituximab: "sine egne historiske kontroller"

Fatiguescore: endring fra baseline, for symptomene:
"Utmattelse", "Utmattelse etter anstrengelser", "Behov for hvile", "Tretthet"



Scale:
6 = major improvement
3 = no change from baseline
0 = major worsening

Skala for egenrapportering:

6: betydelig bedring
5: moderat bedring
4: lett bedring

3: uendret fra baseline

2: lett forverring
1: moderat forverring
0: betydelig forverring

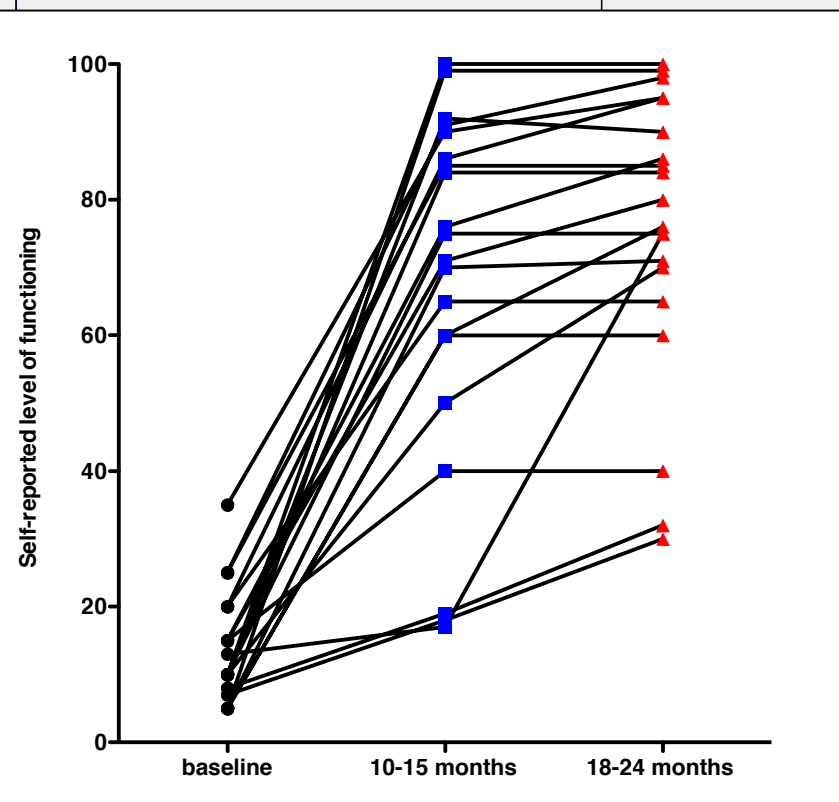
Åpen fase II studie.
Alle har fått
Rituximab.

Egenrapportert "totalt funksjonsnivå" i forhold til frisk tilstand (100%). KTS-2-2010.

20 responders for Rituximab

Baseline vs 10-15 mnd, $p < 0.0001$

Baseline vs 18-24 mnd, $p < 0.0001$



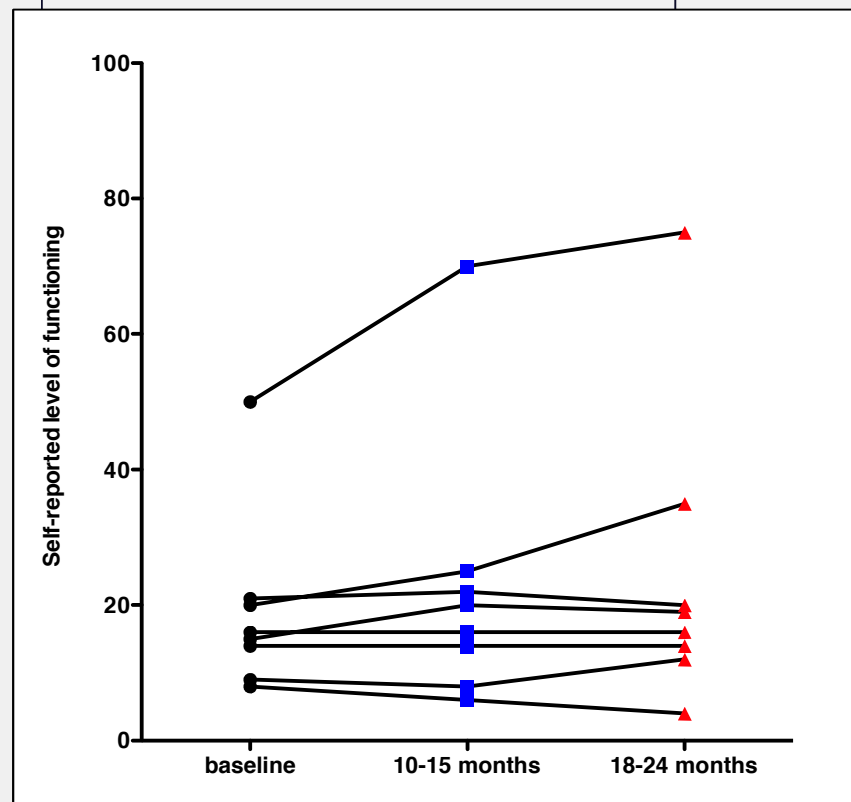
| | Baseline | 10-15 mnd | 18-24 mnd |
|----------------|----------|-----------|-----------|
| Median | 10 % | 73 % | 78 % |
| Minimum | 5 % | 17 % | 30 % |
| 25% percentile | 7 % | 53 % | 66 % |
| 75% percentile | 19 % | 89 % | 94 % |
| Maximum | 35 % | 100 % | 100 % |

8 non-responders for Rituximab

Baseline vs 10-15 mnd, $p = 0.13$

Baseline vs 18-24 mnd, $p = 0.14$

mnd = months



| | Baseline | 10-15 mnd | 18-24 mnd |
|----------------|----------|-----------|-----------|
| Median | 15 % | 18 % | 18 % |
| Minimum | 8 % | 6 % | 4 % |
| 25% percentile | 10 % | 10 % | 13 % |
| 75% percentile | 20 % | 25 % | 31 % |
| Maximum | 50 % | 70 % | 75 % |

KTS-2-2010, bivirkninger

Side effects from KTS-2-2010. Two persons with upper respiratory infections.
Two with late onset neutropenia. Two with allergic reaction two Rituximab.

- ~~To pasienter har hatt **residiverende luftveisinfeksjoner**, med flere antibiotikakurer.
Begge har fått Kiovig infusjoner (normalt humant immunglobulin).~~
- To pasienter har hatt episode med "**late-onset nøytropeni**" (LON).
Forekommer hos minst 5% av lymfompasienter behandlet med Rituximab.
For begge pasientene (respondere) varte LON i 5 dager.
- To pasienter har hatt **allergisk reaksjon** mot Rituximab.
En fikk tungpusthet og exanthen under første infusjon, og fikk ikke videre infusjoner.
En fikk elveblest ved 3-mnd infusjon, som ble stanset.
- 7 pasienter (25%) har hatt **forbigående forverring av ME-symptomene** direkte etter Rituximab infusjoner, som har vedvart i flere uker (opptil 2 mnd).

7 patients with worsening of ME symptoms after Rituximab infusions. They have lasted up to 2 months.

- ~~En pasient kjente en kul i brystet etter 24 mnd oppfølging, påvist brystkreft T2N0, operert med adjuvant kjemoterapi og endokrin behandling.~~
- ~~En pasient fikk magesmerter og ikterus etter 32 mnd, påvist gallestein, operert endoskopisk med papillotomi.~~

~~Den gjennomførte randomiserte studien har flere svakheter idet det var den første som evaluerer behandlingsprinsippet om B-lymfocyt depleksjon ved ME.~~

The study is far from perfect.

~~Liten studie (30 pasienter).~~

Small study (30 patients)

~~Primært endepunkt (3 mnd) negativt.~~

~~Var antagelse responsmønsteret var feil. Hos de fleste som erfarer respons etter B-lymfocyt depleksjon med Rituximab starter bedring av ME symptomene et sted mellom 3 – 8 mnd (selv om B-cellene reduseres til svært lave verdier hurtig etter første infusjon).~~

Our assumptions was that Rituximab would easy or remove ME symptoms after 3 months. This was wrong.
It takes 3-8 months from the day of the first infusion.

~~Vi visste lite om karakteristika ved respons og tilbakefall etter kun observasjon av et par pilotpasienter når protokollen ble laget, derfor mangelfull predefinering av endepunkt.~~

~~Heit nødvendig å bekreft eller avkreft resultatene fra den første randomiserte studien, og fra den åpne fase II studien med Rituximab vedlikeholdsinfusjoner (som avsluttes nå).~~

~~Flere henvendelser fra større sykehus i USA og UK som vurderer oppstart av studier.~~

Essential to confirm the results from the first randomized trial and from the open phase 2 study with Rituximab.

~~Vi har søkt og fått innvilget Norges Forskningsråd om finansiering av en ny større Fase III studie:~~ We have applied for economic support to fund a larger phase 3 study.

~~B-lymfocyt deplesjon ved bruk av det monoklonale anti-CD20 antistoff Rituximab ved kronisk utmattelsessyndrom/ myalgisk encephalopati.~~

~~**En multisenter, nasjonal, randomisert, dobbelt-blind og placebo-kontrollert fase III studie med Rituximab induksjon og vedlikeholdsbehandling.**~~

~~A multi center, national, randomized, double-blind, and placebo-controlled, phase 3 study with Rituximab infusion with maintenance
140 pasienter (70 i hver gruppe).~~

~~Styrkeberegning basert på 50% respons i Rtx gruppe og 22% i Placebogruppe, med 10% drop-out.~~

~~Sannsynligvis 5 sentre i Norge.~~

~~Møte i Bergen for planlegging av logistikk og ferdigstilling av protokoll medio september-13.~~

~~Based on 50% response in the Rituximab group and 22% in the placebo group with 10% dropping out from the trial
Rituximab (eller saltvann) induksjon med 2 infusjoner med 2 ukers mellomrom, etterfulgt av Rituximab vedlikeholdsinfusjoner etter 3, 6, 9 og 12 mnd.~~

~~Rituximab infusion with two infusions two weeks apart, followed by Rituximab maintenance treatment after 3,6,9 and 12 months~~

~~Dobbeltblind design til siste pasient har vært til 24 mnd oppfølging.~~

~~Study design is double blind.~~

Utfordringer:

~~Logistikk og koordinering i multisenter studie. Sikre GCP standard.~~

Assure that GCP standard is followed

~~Pasient inklusjon i studien: det som kan kalles ME/CFS er en heterogen gruppe.~~

~~Canadiske kriterier 0.2%, versus generelle tretthetstilstander 2%.~~

Eligible patients: What ME/CFS is referred to is an heterogeneous group. Include only canadian criteria:
0.2% versus general fatigue 2%

~~Randomisering. Sentral blokk-randomisering ved Haukeland Sykehusapotek.~~

Randomization by Haukeland University pharmacy.

~~Blinding. Hetter over infusjonssett. Oftest ikke akutte reaksjoner under Rituximab infusjon. I den randomiserte Plos One studien var det 5 i Rtx gruppen og 4 i Placebogruppen som rapporterte ubehag første døgn etter infusjon. Vi tror ikke blinding er et stort problem.~~

Endepunkter i studien.

Monitorering: ekstern monitor fra Innovest.

Økonomi, studien er ikke fullfinansiert:

MEandYou (privat fond): 2,7 mill.

HOD: 2+2 = 4 mill.

NFR: ?

Totale kostnader for hele studien er cirka 22 mill., inkludert egeninnsats fra studiesentre.

Støy:

Mottatt snart 1000 brev, henvisninger, e-mail fra fortvilte pasienter og pårørende.

Medieoppmerksomhet. Motstand mot en ny studie.

~~-Eldre med ME har moderat men signifikant øket risiko for B-celle lymfomer.~~

Elder people with ME has a moderate, but significant risk of B cell lymphoma.

~~-Signifikant assosiasjon mellom forekomst av ME og forekomst av autoimmune sykdommer som leddgikt og Sjøgren.~~

Significant correlation between ME and autoimmune diseases like

~~-Genetisk predisposisjon for ME.~~ Genetic factor.

~~-Når anaerob terskel ved lavere arbeidsbelastning enn friske.~~

~~Laktatøkning ved lav belastning, spesielt dag 2 dersom belastning to påfølgende dager.~~

Approaches anaerobic threshold faster than healthy people.

~~Laktat (melkesyre) økning i cerebrospinalvæsken, også i hjernen ved belastning.~~

Lactic increase in cerebro spinal fluid, also in the brain with physical activity

~~-Lavere blodvolum enn friske, også cerebralt blodvolum.~~

Lower blood volume than healthy, also cerebral blood volume

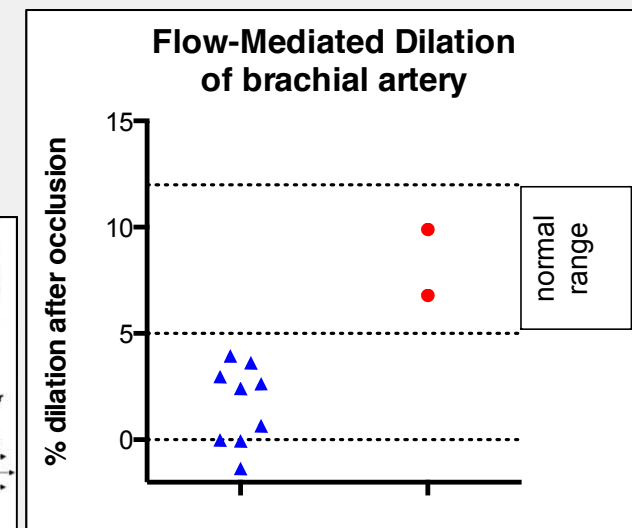
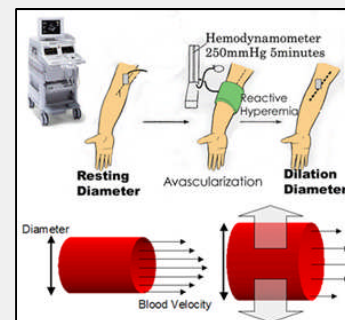
~~-Dysregulering av autonome nervesystem. Ortostatisk intoleranse.~~

Dysregulation of the autonomy nervous system. Orthostatic intolerance.

~~-Endotel dysfunksjon.~~ endothelial dysfunction

~~Flow-medierte dilatasjon (FMD) redusert.~~

~~Post-okklusiv reaktiv hyperemi redusert.~~

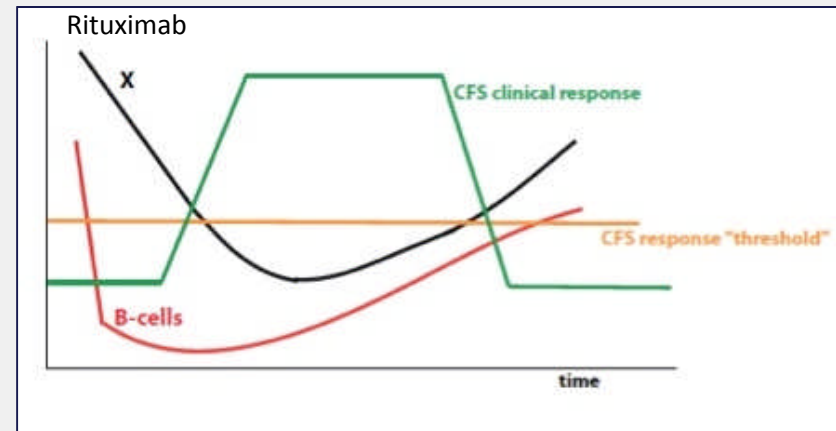


Immune response

- often after infection
- genetic predisposition

~~HYPOTHESE~~

HYPOTHESIS



Autoreactive B-cell (recognizing self epitope)

- Rituximab with rapid B-cell depletion
- Clinical responses after time lag 2-8 months, slow "wash-out" of autoantibody ?

Directly or indirectly

??

Target

B-cell independent mechanisms

iNOS may work properly,
or with increased activity.
nNOS ?

Immune process affects endothelial cells ?



Disturbed NO synthesis in endothelial cells

Autoregulation of blood flow compromised

Blood volume

Thirst

Lactate in cerebrospinal fluid,
muscles, anaerobic threshold

Fatigue
Post-exertional malaise

Immune cell function
T-cells, NK cells

Sleep

Sensory
hypersensitivity.
Pain.

Cognitive dysfunction, brain "fog"

Motility and tone
blood vessels,
gut, urogenital

.....

Vi prøver å utnytte denne kunnskapen/hypotesen i protokollen for en ny studie.

Primært endepunkt:

- definert basert på egenrapport endring av Symptomscore, hver annen uke i 24 mnd.
- Mean verdi for **Fatiguescore** for de ulike tidsintervallene er gjenstand for statistisk analyse (General linear model for repetert måling) der forskjell i Fatiguescore mellom Rituximab og Placebo gruppe er basis for det primære endepunkt.

Will use SF-36 to measure change in fatigue.
Measurement of anerobic threshold two days after infusion, repeated after 15-18 months.
Sensewear used for 5-7 days.

Sekundære endepunkt:

- måling av **anaerob terskel** to påfølgende dager før intervensjon, og gjentatt i tidsrommet 15-18 mnd oppfølging. Forskjell fra baseline til 15-18 mnd, mellom Rituximab og Placebogruppe, analyseres.
- måling av **fysisk aktivitetsnivå** i 5-7 sammenhengende døgn med Sensewear armbånd, før intervensjon og gjentatt etter 15-18 mnd oppfølging. Forskjell mellom Rituximab og Placebo gruppe, analyseres.
- Toksisitet**. Endring i **SF-36**. **Varighet** av sammenhengende respons. Andel i respons etter 2 år.

Substudie i Bergen: alle inkludert ved Haukeland vil utføre **FMD for endotelfunksjon** før intervensjon, og gjentatt etter 15-18 mnd.

-Når B-celle deplesjon tilsynelatende virker hos en subgruppe av ME pasienter:

-hurtig reduksjon av B-celler initialt, men likevel med en "forsinkelse" 2-8 mnd før start av klinisk respons.

-responsvarighet synes relatert til varighet av B-celle deplesjon.

-Vi tror en faktor fra B-cellene (antistoff ? med lang halveringstid 3-4 uker) er involvert og at ME/CFS hos en subgruppe er en **variant av autoimmun sykdom**, ofte infeksjonsutløst, ofte hos genetisk disponerte

Length of response influenced by duration of b-cell depletion

We believe that a factor from the b-cells (antibody? with long halving time of 3-4 weeks) are involved and that a sub group of ME patients suffer from an autoimmune disease, often triggered by an infection, often for those with predisposed genetic diseases)

-Hvorfor føler pasientene seg så syke ?

-Hva er primære og hva er sekundære symptomer ?

-Hvilket biologiske system er i ubalanse som følge av en patologisk immunprosess ?

HVA ER EFFEKTORSYSTEMET FOR SYMPTOMVEDLIKEHOLDET VED ME/CFS ?

Hypotesen er at **immunresponsen**, indirekte eller direkte:

Why is the patients so sick?

What are the primary and secondary symptoms?

What biological system is unbalanced due to a pathologic immune process?

-medfører en **markert endoteldysfunksjon**.

-med relativ **mangel på endotel-celle derivert NO tilgjengelighet**.

The hypothesis is that the immune reaction, direct or indirect leads to a significant endothelial dysfunction where inadequate blood flow is crucial.

-der **inadekvat autoregulering av blodstrømm** er et hovedtema....

"Totalt funksjonsnivå":

Forløp siste del av studien.

18-24 mnd:

20 respondere og
8 nonrespondere

30-34 mnd:

Siste kontakt (alle 28)

Ved siste kontakt,

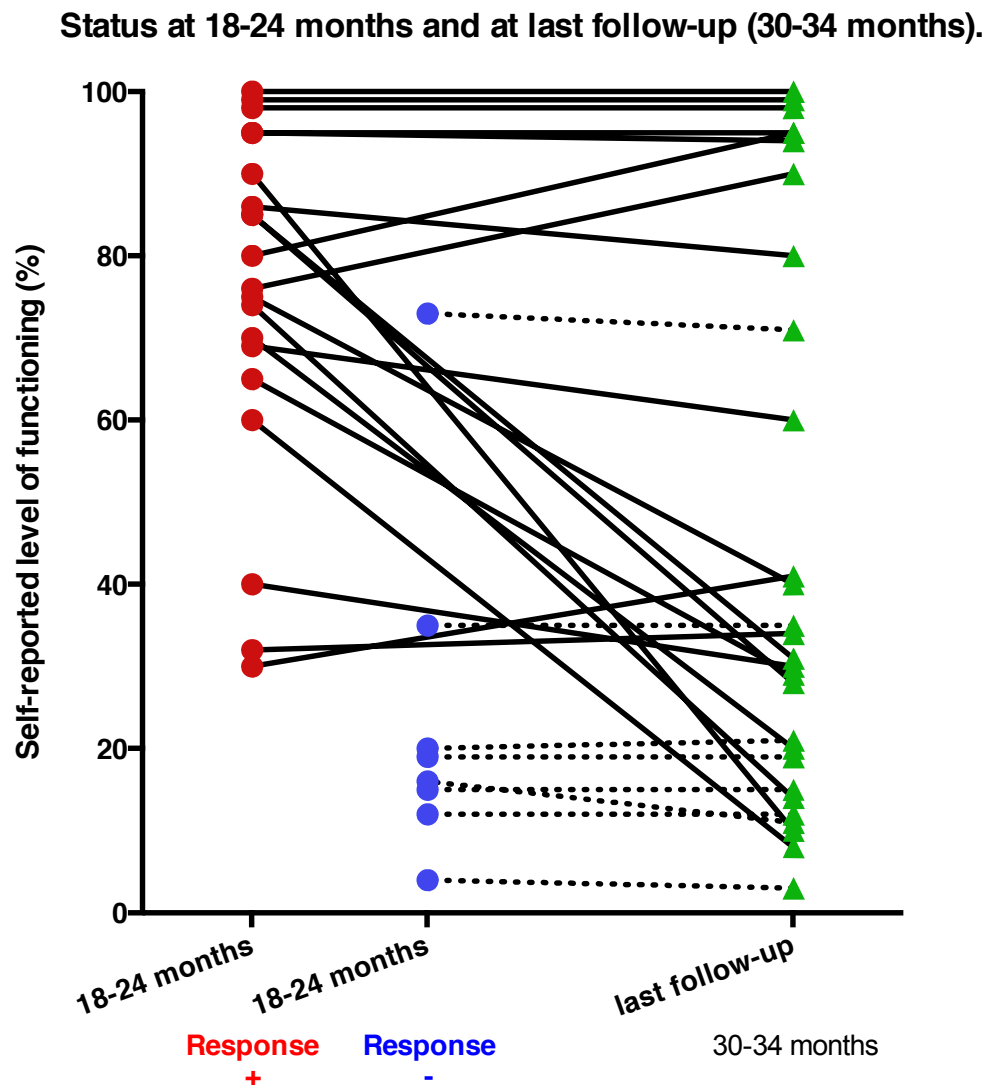
30-34 mnd oppfølging nå.

Av 20 respondere har nå:

**- 9 pasienter økende tegn
til tilbakefall.**

- 11 fortsatt stabil respons.

Self-reported level of functioning, compared to completely healthy (100%).



Forskningsgruppe:

Sigrid Lunde, Dept. of Oncology, Haukeland

Kine Alme, Dept. of Oncology, Haukeland

Dipak Sapkota, Dept. of Pathology, Haukeland

Ove Bruland

Dept. of Medical Genetics, Haukeland

Einar Kristoffersen,

Dept. of Transfusion Medicine and Immunology

Lars Helgeland, Dept. of Pathology, Haukeland

Olav Dahl, Dept. of Oncology, Haukeland

Olav Mella, Dept. of Oncology, Haukeland

Øystein Fluge, Dept. of Oncology, Haukeland

Plos One studien, i tillegg:

Dept. of Neurology, Haukeland:

Harald Nyland, Anette Storstein,

Halvor Næss



Forskningsgruppen for ME/CFS ved Kreftavdelingen, har inngått samarbeid med **Kavlifondet fra 2012.**

Avgjørende for mulighet til videre forskning.

Støtte fra Helse Vest for 2010-2012.

Interessekonflikt:

Haukeland Universitetssykehus har søkt patent for konseptet B-celle deplesjon ved ME/CFS.

Nitric Oxide synthesis in endothelial cells

Positive regulators

Shear stress in endothelium
Bioavailability for L-Arginine
Cofactors (Tetrahydrobiopterine)
HSP90
Cytokine (Adipomyokine.....)
HDL
Estrogen

Negative regulators

Caveolin (direct interaction with eNOS)
ADMA (Asymmetric Dimethyl Arginine)
endogenous inhibitor of L-Arginine
OxLDL
CRP (via Fc-Receptor γ IIB)
IL-6

