

Slutrapport

Syfte och bakgrund

Hjärtkärlsjukdom är den vanligaste dödsorsaken i Sverige. Hjärtinfarkt och stroke är också några av de vanligaste orsakerna till invaliditet hos personer i yrkesför ålder. Målsättningen med vårt projekt var att identifiera de mekanismer som styr inflammation och autoimmunitet i aterosklerotiska plack och med hjälp av denna kunskap utveckla nya former av behandling av hjärtkärlsjukdom. Ytterligare ett mål var att hitta markörer som kan användas för att identifiera personer som är i behov av sådan behandling.

Genomförande och uppnådda resultat

Under projektets första fas fokuserade vi på utveckling av så kallade tolerans vacciner som syftade till att minska den inflammation i plack som drivs av autoimmuna reaktioner mot oxiderat LDL. Den kliniska utvecklingen av dessa vacciner försvårades dock av oklarheter om vilka patienter som bäst skulle svara på denna behandling samt svårigheter att på ett bra sätt mäta svaret på behandlingen. Fokus ändrades därför till vacciner som ger upphov till antikropps bildning mot oxiderade LDL partiklar. Oxiderat LDL anses vara den viktigaste orsaken till inflammations-drivande autoimmunitet i aterosklerotiska plack. Principen för dessa vacciner är att koppla en starkt immunaktiverande substans (PADRE) till fragment av LDL proteinet apolipoprotein B. Två vaccinkandidater har testats, en innehållande ett fragment kallat p45 och ett innehållande ett fragment kallat p210. Båda har visat lovande resultat i försöksdjur. Vi har samtidigt med hjälp av DNA teknologi direkt kunnat framställa de antikroppar som vaccinet stimulerar bildning av. De första kliniska studierna planeras att genomföras med dessa antikroppar.

Vi har också genomfört ett stort antal studier för att studera samband mellan naturligt förekommande former av dessa antikroppar och risk för att drabbas av hjärtinfarkt och stroke. Ett genomgående fynd i dessa studier är att personer med låga antikropps nivåer mot p45 och p210 har en ökad risk.

Ett område där stora framsteg gjorts under projektet är sambandet mellan vävnadsskada orsakad av kardiovaskulära riskfaktorer, inflammation och den reparation som krävs för att skadan ska läkas. Vi har visat att särskilt hos diabetiker finns en störd balans mellan skada och reparation som bidrar till utveckling av instabila plack som har en ökad risk att ge upphov till hjärtinfarkt och stroke. Vi har i dessa studier hittat helt nya samband mellan cellens energiomsättning, bildandet av reaktiva lipidmetaboliter och plackinflammation. En särskilt intressant upptäckt är att diabetiker har lägre nivåer av stem cell factor, en faktor som är central för att upprätthålla normal reparation av det kontinuerliga slitaget som kärnväggen utsätts för, och att det är kopplat till en förhöjd risk för hjärtinfarkt, stroke och hjärtsvikt.

Genomförda åtgärder för att resultaten skall komma till praktisk användning

Vi samarbetar med ett amerikanskt bolag för utveckling av vacciner och antikroppar riktade mot oxiderat LDL. Kliniska säkerhetstester har genomförts och tillverkning av material för en andra klinisk studie pågår. Vi samarbetar också med ett svenskt bolag för att utveckla nya läkemedel som kan förbättra kärnväggens reparation hos diabetiker.

Vetenskapliga publikationer

- Björkbacka H, Berg K, Manjer J, Engelbertsen D, Wigren M, Ljungcrantz I, Andersson L, Hedblad B, Nordin Fredrikson G, Nilsson J. CD3+CD56+ NKT-like cells are associated with incident coronary events but not with cancer. *J Intern Med*, 279:78-88, 2016.
- Edsfeldt A, Bengtsson E, Ascitutto G, Dunér P, Björkbacka B, Nordin Fredrikson G, Nilsson J, Gonçalves I. Galectin 3 predicts future strokes in women. *Cerebrovascular Diseases*, 41: 199-203, 2016.
- Erlöv T, Cinthio M, Edsfeldt A, Segstedt S, Dias N, Nilsson J, Gonçalves I. Accurate detection of human vulnerable carotid plaques using a novel Ultrasound-based Plaque Structure Analysis (UPSA). *Atherosclerosis*, 246: 293-300, 2016.
- Grönberg C, Ascitutto G, Persson A, Nordin Fredrikson G, Nilsson J, Gonçalves I, Björkbacka H. Endarterectomy patients with elevated levels of circulating IL-16 have fewer post-operative cardiovascular events. *Cytokine*, 85: 137-139, 2016.
- Dias JA, Hellstrand S, Ericson U, Gullberg B, Nilsson J, Alm R, Persson M, Engström G, Fredrikson GN, Hedblad B, Wirfält E. Plasma variations of oxidized LDL-cholesterol and chronic inflammation biomarkers among participants of the Malmö Diet and Cancer cohort. *Biomarkers*, 14:1-10, 2016.
- Nilsson J. Regulatory T cells getting to the heart of the matter. *J Intern Med*, 279: 60-62, 2016.
- Wigren M, Rattik S, Hultman K, Björkbacka H, Nordin-Fredrikson G, Gonçalves I, Bengtsson E, Hedblad B, Siegbahn A, Nilsson J. Decreased levels of stem cell factor in subjects with incident coronary events. *J Intern Med*, 279: 180-191, 2016.
- Nilsson J. Can antibodies protect us against cardiovascular disease? *EBioMedicine*, 9: 29-30, 2016.
- Schiopu A, Bengtsson E, Gonçalves I, Nilsson J, Fredrikson GN and Björkbacka H. Associations between macrophage colony-stimulating factor and monocyte chemoattractant protein-1 in plasma and first-time coronary events: a nested case-control study. *J Am Heart Ass*, 5(9): e002851, 2016.
- Goncalves I, Edsfeldt A, Colhoun H, Shore AC, Natali A, Palombo C, Nordin Fredrikson G, Björkbacka H, Wigren M, Bengtsson E, Östling G, Aizawa K, Casanova F, Persson M, Gooding K, Strain D, Kahn F, Looker H, Adams F, Belch G, Pinnoli S, Venturi E, Kozakowa M, Gan LM, Schneck V, Nilsson J. Blood pressure-independent association between renin and atherosclerotic burden in subjects with and without type 2 diabetes. *BMC Cardiovascular Disorders*, 16(1):171, 2016.
- McLeod O, Silveira A, Valdes-Marquez E, Björkbacka H, Almgren P, Gertow K, Gådén JR, Bäcklund A, Sennblad B, Baldassarre D, Veglia F, Humphries S, Tremoli E, de Faire U, Nilsson J, Melander O, Hopewell JC, Clarke R, Björck HM, Hamsten A, Öhrvik J, and Strawbridge R on behalf of the IMPROVE study group. Genetic loci on chromosome 5 are

associated with circulating levels of interleukin-5 and eosinophil count in a European population with high risk for cardiovascular disease. *Cytokine*, 81: 1-9, 2016.

Gonçalves I, Hultman K, Dunér P, Edsfeldt A, Hedblad B, Nordin Fredrikson G, Björkbacka H, Nilsson J, Bengtsson E. High levels of cathepsin D and cystatin B are associated with increased risk for coronary events. *Open Heart*, 3(1):e000353, 2016.

Asciutto G, Wigren M, Nordin Fredrikson G, Yao Mattisson Y, Grönberg, C, Alm R, Björkbacka H, Dias NV, Edsfeldt A, Gonçalves I, Nilsson J. Apolipoprotein B-100 antibody interaction with atherosclerotic plaque inflammation and repair processes. *Stroke*, 47: 1140-43, 2016.

Edsfeldt A, Dunér P, Ståhlman M, Mollet I, Asciutto G, Grufman G, Nitulescu M, Persson A, Fisher R, Melander O, Orho Melander, M Borén J, Nilsson J, Gonçalves I. The pro-inflammatory role of sphingolipids and glycosphingolipids in the human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 36: 1132-40, 2016.

Knutsson A, Hsiung S, Celik S, Rattik S, Yao Mattisson Y, Wigren M, Scher HI, Nilsson J, Hultgårdh-Nilsson A. Treatment with a GnRH receptor agonist, but not the GnRH receptor antagonist degarelix, induces atherosclerotic plaque instability in ApoE^{-/-} mice. *Scientific Reports*, 18 (6) 26220, 2016.

Dias JA, Nordin Fredrikson G, Ericson U, Gullberg B, Hedblad B, Engström G, Borgquist S, Nilsson J, Wirfält E. Low-grade inflammation, oxidative stress and risk of invasive post-menopausal breast cancer – a nested case-control study from the Malmö Diet and Cancer cohort. *PLoS One*, 11(7):e0158959, 2016.

Björkbacka H, Alm R, Persson M, Hedblad B, Nilsson J, Nordin Fredrikson G. Low levels of apoB-100 autoantibodies are associated with increased risk of coronary events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 36, 765-71, 2016.

Yao Mattisson I, Björkbacka H, Wigren M, Edsfeldt A, Melander O, Nordin Fredrikson G, Bengtsson E, Gonçalves I, Orho-Melander M, Engström G, Almgren P, Nilsson J. Elevated markers of death receptor-activated apoptosis are associated with increased risk for development of diabetes and cardiovascular disease. *EBioMedicine*, 26: 187-197, 2017.

Su J, Zhou H, Liu X, Nilsson J, Fredrikson GN, and Zhao M. OxLDL induces MCP-1 release in monocytes/macrophages by modulating the activity of Ca²⁺/K⁺ channels. *J Cell Mol Med*, 21(5):929-940, 2017.

Engelbertsen D, Rattik S, Wigren M, Vallejo J, Marinkovic G, Schiopu A, Björkbacka H, Nilsson J, Bengtsson E. IL-1R and MyD88 signaling in CD4⁺ T cells promote Th17 immunity and atherosclerosis. *Cardiovasc Res*, 114: 80-187, 2017.

Björkbacka H, Yao Mattisson I, Wigren M, Melander O, Fredrikson G, Bengtsson E, Gonçalves I, Almgren P, Lagerstedt J, Orho-Melander M, Engström G, Nilsson J. High levels of stem cell factor is associated with a lower risk of cardiovascular disease and death. *J Intern Med*, 282; 58-66, 2017.

Gisterå A, Hermansson A, Strodthoff D, Klement M, Hedin U, Fredrikson GN, Nilsson J, Hansson G, Ketelhuth D. Vaccination against T-cell epitopes of native ApoB100 reduces vascular inflammation and disease in a humanized mouse model of atherosclerosis. *J Intern Med*, 281(4):383-397, 2017.

Plaque vulnerability in the statin era. *Eur Heart J*, 38(21):1638-1644, 2017.

Xue L, Borné Y, Mattisson IY, Wigren M, Melander O, Orho-Melander M, Bengtsson E, Fredrikson GN, Nilsson J, Engström G. FADD, caspase-3 and caspase-8 and incidence of coronary events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 37(5):983-989, 2017.

Gohar A, Gonçalves I, Vrijenhoek J, Nilsson J, Pasterkamp G, den Ruijter HM, Björkbacka H, de Jager SCA. Circulating GDF-15 levels are explicitly valuable for the prediction for future cardiovascular complications in women. *Int J Cardiol*, 16: 33754-8, 2017.

Grönberg C, Nilsson J, Wigren M. Recent advances on CD4⁺ T cells in atherosclerosis and its implications for therapy. *Eur J Pharmacol*, 816: 58-66, 2017.

Bengtsson E, Hultman K, Dunér P, Ascitutto G, Almgren P, Orho-Melander M, Melander O, Nilsson J, Hultgårdh-Nilsson A, Gonçalves I. ADAMTS-7 is associated with a high-risk plaque phenotype in human atherosclerosis. *Scientific Reports*, Jun 16;7(1):3753, 2017.

Vallejo J, Dunér P, Nordin Fredrikson G, Nilsson J, Bengtsson E. Autoantibodies against aldehyde-modified collagen type IV are associated with risk for development of myocardial infarction. *J Intern Med*, 282:496-507, 2017.

Sundström J, Söderholm M, Borné Y, Nilsson J, Persson M, Östling G, Melander O, Orho-Melander M, Engström G. Eosinophil cationic protein, carotid plaque, and incidence of stroke. *Stroke*, 48:2686-92, 2017.

Carayol M, Leitzmann M, Ferrari P, Zamora-Ros R, Achaintre D, Stepien M, Schmidt J, Travis R, Overvad K, Tjønneland A, Hansen L, Kaaks R, Kühn T, Boeing H, Bachlechner U, Trichopoulou A, Bamia C, Palli D, Agnoli C, Tumino R, Vineis P, Panico S, Quirós JR, Sanchez-Cantalejo E, Huerta JM, Ardanaz E, Arriola L, Agudo A, Nilsson J, Melander O, Bueno-de-Mesquita B, Peeters P, Wareham N, Khaw KT, Jenab M, Key T, Scalbert A, Rinaldi S. Blood metabolic signatures of body mass index: a targeted metabolomics study in the EPIC cohort. *J Proteome Res*, 16: 3137-46, 2017.

Grufman H, Yndigegn T, Gonçalves I, Nilsson J, Schiopu A. Elevated IL-27 in patients with acute coronary syndrome is associated with adverse ventricular remodeling and increased risk of recurrent myocardial infarction and cardiovascular death. *Cytokine*, in press.

Borné Y, Gränsbo K, Nilsson J, Melander O, Orho-Melander M, Smith G, Engström G. Vascular endothelial growth factor D, pulmonary congestion and incidence of heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 71: 580-82, 2018.

Wigren M, Svenugnsson E, Mattisson IY, Gustafsson JT, Gunnarsson I, Elvin K, Zickert A, Elvin K, Jensen-Urstad K, Bengtsson A, Gullstrand B, Fredrikson GN, Nilsson J. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus is associated with increased levels of biomarkers reflecting receptor-activated apoptosis. *Atherosclerosis*, 270: 1-7, 2018.

Svensson T, Kishi Svensson A, Kitlinski M, Almgren P, Engström G, Nilsson J, Orho-Melander M, Nilsson PM, Melander O. Plasma concentrations of Caspase-8, sleep duration and incident diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metabol*, 103: 1592-1600, 2018.

Lukas T, Edsfeldt A, Mollet I, Perisic L, Prehn C, Adamski J, Paulsson-Berne G, Hedin U, Nilsson J, Bengtsson, Gonçalves I, Björkbacka H. Altered metabolism distinguishes high-risk from stable carotid atherosclerotic plaques. *Eur Heart J*, 39: 2301-2310, 2018.

Weir-McCall JR, Brown L, Summersgill J, Talarczyk P, Bonnici-Mallia M, Chin SC, Khan F, Struthers AD, Sullivan F, Colhoun HC, Shore AC, Aizawa K, Groop L, Nilsson J, Cockcroft JR, McEniery CM, Wilkinson IB, Ben-Shlomo Y, J Houston G. Development and validation of a pathlength calculation for carotid-femoral pulse wave velocity measurement: A TASCFORCE, SUMMIT and Caerphilly collaborative venture. *Hypertension*, 71: 937-945, 2018.

Mantani PT, Dunér P, Bengtsson E, Alm R, Ljungcrantz I, Söderberg I, Sundius L, To F, Nilsson J, Björkbacka H and Fredrikson GN. IL-25 blockade shifts immunity towards Th1/Th17 and aggravates atherosclerosis development in apoE deficient mice. *J Biol Chem*, 293: 6791-6801, 2018.

Hsiung S, Knutsson A, van der Have O, Larsson J, Vallejo J, Dunér P, Heinonen SE, Jönsson-Rylander AC, Bengtsson E, Nilsson J, Hultgårdh-Nilsson. Hyperglycemia does not affect arterial repair responses or shear stress-induced atherosclerotic lesion formation in mice. *Scientific Reports*, 8 (1): 7530, 2018.

Söderholm M, Fredrikson GN, Nilsson J, Engström G. High serum level of matrix metalloproteinase-7 is associated with incidence of SAH. A population-based nested case control study. *Stroke*, 49: 1626-1631, 2018.

Fernandez C, Rysä J, Almgren P, Nilsson J, Engström G, Orho Melander M, Ruskoaho H, Melander O. Plasma levels of the proprotein convertase furin and incidence of diabetes and mortality. *J Intern Med*, in press.

Muhammad IF, Borné Y, Melander O, Orho-Melander M, Nilsson J, Söderholm M, Engström G. FADD, Caspase-3, and Caspase-8 and Incidence of ischemic stroke. *Stroke*, in press.

Shore AC, Colhoun HM, Natali A, Palombo C, Khan F, Östling G, Aizawa K, Kennbäck C, Casanova F, Persson M, Gooding K, Gates PE, Looker HC, Dove F, Belch J, Pinnola S, Venturi E, Morizzo C, Goncalves I, Kravic J, Björkbacka H, Nilsson J. Use of vascular assessments and novel biomarkers to predict cardiovascular events in type 2 diabetes – the SUMMIT VIP study. *Diabetes Care*, 41: 2212-2219, 2018.

Mantani PT, Vallejo J, Ljungcrantz I, Nilsson J, Björkbacka, Fredrikson GN. IL-25 reduces Th17 cells and inflammatory responses in human peripheral mononuclear cells. *Human Immunology*, 79: 685-692, 2018.

Lagerstedt J, Dalla-Riva J, Marinkovic G, Del Giudice R, Engelbertsen D, Burlin J, Petrlova J, Lindahl M, Bernfur K, Melander O, Nilsson J, Schiopu A. Anti-apoA-I IgG antibodies are not associated with carotid artery disease progression and first-time cardiovascular events in middle-aged individuals. *J Intern Med*, in press.

Holm Nielsen S, Tengryd C, Edsfeldt A, Brix S, Genovese F, Bengtsson E, Karsdal M, Leeming D, Nilsson J, Goncalves I. A Biomarker of Collagen Type I Degradation is Associated with Cardiovascular Events and Mortality in Patients with Atherosclerosis. *J Intern Med*, in press.

Nilsson J. Lupus and cardiovascular disease. *Am J Med Sci*, in press.

Holm Nielsen S, Tengryd C, Brix S, Edsfeldt A, Genovese F, Bengtsson E, Karsdal M, Leeming D, Nilsson J, Goncalves I. Markers of Basement Membrane Remodeling are Associated with higher Mortality in Patients with known Atherosclerosis. *J Am Heart Ass*, in press.

Natali A, Nesti L, Venturi E, Shore AC, Khan F, Gooding K, Gates PE, Looker HC, Dove F, Goncalves I, Persson M, Nilsson J. Metformin is a key factor for elevated plasma GDF-15 levels in type 2 diabetes: a nested case control study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, in press.

Bao X, Borné Y, Faqir Muhammad I, Nilsson J, Lind L, Melander O, Niu K, Orho-Melander M, Engström G. Growth differentiation factor 15 is associated with increased incidence of diabetes mellitus: the Malmö Diet and Cancer-Cardiovascular Cohort. *Diabetologia*, in press.

Rattik S, Mantani P, Yao Mattisson I, Ljungcrantz I, Sundius L, Björkbacka H, Holmgren J, Nilsson J, Wigren M, Fredrikson GN. B cells treated with p210-CTB acquire a regulatory phenotype *in vitro* and reduce atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Vascular Pharmacology*, in press.

Berntsson J, Smith G, Johnson L, Söderholm M, Borné Y, Melander O, Orho-Melander M, Nilsson J, Engström G. Vascular endothelial growth factor D and incidence of atrial fibrillation and ischemic stroke. *Heart*, in press.

Chen Y, Nilsson J, Liang C. Heart Failure Stimulates Tumor Growth by Circulating Factors. *Circulation*, in press.