

Nye behandlinger af Graves' sygdom med fokus på det B-lymfocyt-depleterende antistof rituximab

Afdelingslæge Claus Henrik Nielsen,
reservelæge Daniel El Fassi & professor Laszlo Hegedüs

Rigshospitalet, Vævstypelaboratoriet, og
Odense Universitetshospital, Endokrinologisk Afdeling M

Graves' sygdom (GS, diffus toksisk struma) er en hyppig autoimmun sygdom, som afficerer ca. 2% af befolkningen, kvinder omkring fem gange hyppigere end mænd. Autoantistoffer imod thyroideastimulerende hormon (TSH)-receptoren (TRAb) er patognomoniske for GS, idet de kontinuerligt stimulerer skjoldbruskkirtlen til hormonproduktion, således at den normalfysiologiske negative feedbackmekanisme mellem hypofyse (TSH) og thyroidea (de perifere thyroideahormoner T4 og T3) ophæves [1]. Ud over forhøjet stofskifte har patienter med GS en øget risiko for at få bl.a. atrieflimren, osteoporose og neuropsykiatriske problemer. Patienterne har reduceret livskvalitet. Op til halvdelen af patienterne får nogen grad af Graves' oftalmopati (GO), som dog kun er behandlingskrævende hos ca. 10% [1]. Medikamenter antityroidbehandling af GS, givet som propylthiouracil eller methimazol (MMI) i monoterapi eller i form af *block-replacement*-terapi (høj dosis antityroidt medikament samt eltroxintilskud), medfører blivende remission hos under 50% af patienterne efter 1-2 års behandling [1]. De antityroide medikamenter blokerer gld. thyroideas hormonsyntese ved at hæmme enzymet thyroideaperoxidase. Alternative behandlinger er radioaktiv jodbehandling eller tyroidektomi. Begge behandlinger indebærer en risiko for komplikationer i form af permanent hypothyreose og for den kirurgiske behandlings vedkommende recurrens-parese og/eller beskadigelse af gll. parathyreoideae, som de væsentligste [1]. Endvidere kan ledsagende oftalmopati være stærkt invaliderende, og orbital dekompression kan i visse tilfælde være eneste behandlingsmulighed.

Med baggrund i ovenstående er der behov for udvikling af nye behandlingsprincipper. Da den autoimmune proces i thyroidea er nondestruktiv og autoantistofmedieret, har det været rationelt at antage, at behandling med det B-lymfocyt-depleterende monoklonale antistof rituximab kunne have en gavnlig effekt på GS [2].

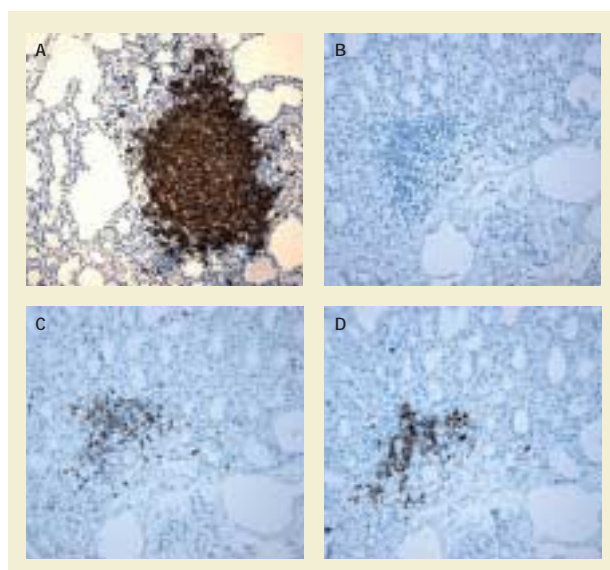
Rituximab

Rituximab (RTX) er et monoklonalt antistof rettet imod overflademolekylet CD20, som er udtrykt på umodne og modne B-lymfocytter, mens majoriteten af plasmaceller er CD20-negative [3]. RTX har vundet bred anvendelse primært inden for

maligne hæmatologiske tilstande, men er også blevet anvendt til en lang række autoimmune sygdomme, bl.a. til patienter med reumatoid arthritis, hos hvem stoffet i 2006 blev godkendt som behandling af i øvrigt behandlingsrefraktær sygdom [4]. Stoffet fjerner effektivt cirkulerende B-lymfocytter fra blodbanen inden for få dage, og repopulation finder sædvanligvis sted inden for 4-12 måneder. Det er kontroversielt, om B-lymfocytdepletionen også gælder knoglemarv og lymfeknuder hos patienter med autoimmune sygdomme [2]. Vi har dog for nylig påvist, at effektiv depletion af B-lymfocytter også finder sted i inflammerede *target*-organer for autoimmun sygdom, idet B-lymfocytter var fuldstændig fraværende i en gl. thyroidea fra en RTX-behandlet patient syv dage efter behandling med RTX (**Figur 1**) [5]. Ved autoimmune sygdomme kan medikamentet tænkes at have effekt på tre niveauer: 1) nedsættelse af autoantistofproduktion, idet depletionen forhindrer differentiering af B-lymfocytter til antistofsecrenerende plasmaceller, 2) ophævelse af B-lymfocytmedieret antigenpræsentation for T-hjælperceller og 3) ophævelse af cytokinproduktion fra B-lymfocytter [2].

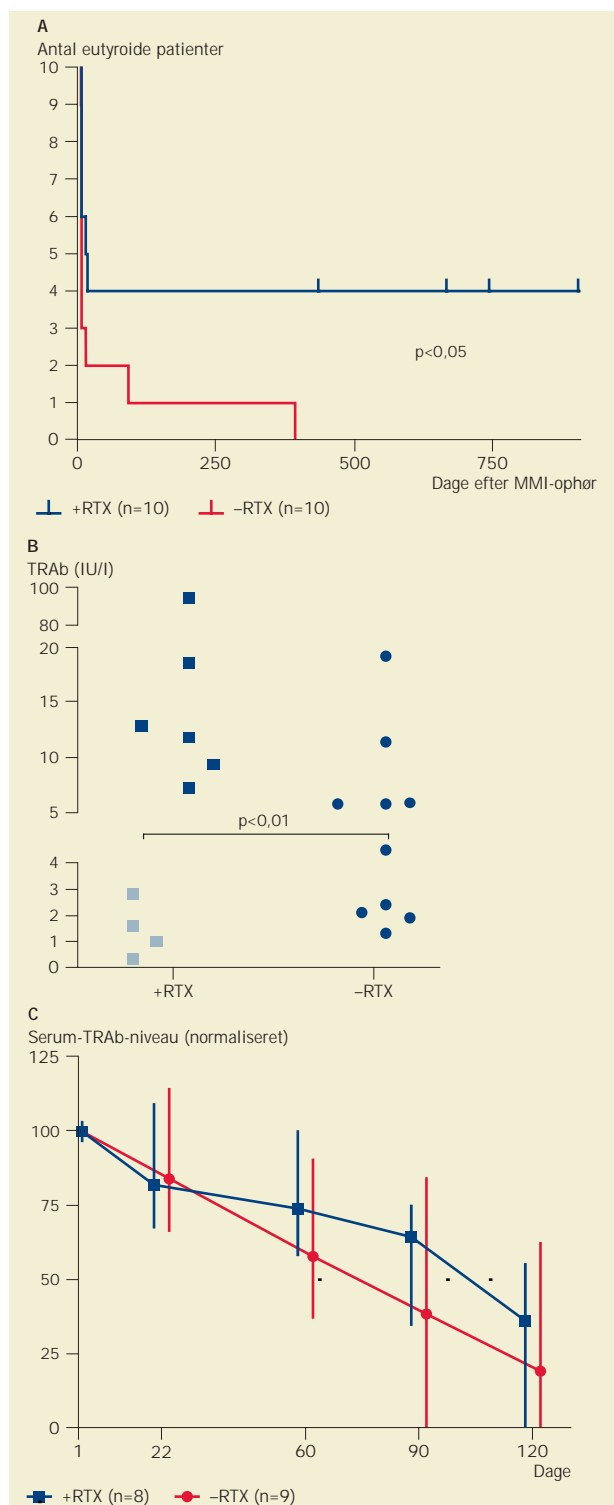
Rituximabs kliniske effekt ved Graves' sygdom

Ved GS, som den første autoimmune sygdom fraset reumatoid arthritis, har vi gennemført et kontrolleret studie af effekten af



Figur 1. A. Thyroidea fra en repræsentativ patient, der havde Graves' sygdom og ikke havde fået rituximab. Præparatet er farvet med anti-CD20 (udtrykt på umodne og modne B-lymfocytter), og der ses et kimcenter. B. Anti-CD20-farvning af et thyroideasnit fra en patient syv dage efter behandling med 1.000 mg rituximab. C. Tilsvarende farvning for T-lymfocytter med anti-CD3. D. Farvning for CD79a, som er udtrykt på plasmaceller. Gengivet med tilladelse [5].

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL



Figur 2. A. Antal af eutyroide rituximabbehandlede (+RTX) patienter og non-rituximabbehandlede (-RTX) patienter efter ophør af methimazol (MMI)-behandling. B. Udgangsniveauerne af thyroideastimulerende hormon-receptoren (TRAb) for de patienter, som forblev eutyroide (lyseblå symboler), og for dem, som fik tilbagefald (blå symboler), er vist. p-værdien angiver forskel mellem de grupper mht. patienter med TRAb-værdier under 5 IU/l. C. Udvikling i TRAb-niveauerne hos rituximabbehandlede og nonrituximabbehandlede patienter. Værdierne er normaliseret til udgangsniveauet. Median og spændvidde er vist for alle patienter med TRAb > 1,4 IU/l. Gengivet med tilladelse [6]. RTX = rituximab; TRAb = thyroideastimulerende hormon-receptoren.

RTX [6]. Sammenholdt med et italiensk ikkekontrolleret studie, som primært rettede sig imod GO [7], er dette studie det foreløbigt eneste publicerede om effekten af RTX-behandling ved en endokrinologisk sygdom. Vort studie var åbent og af beskeden størrelse, idet kun 20 patienter indgik. Alle blev behandlet med MMI til stabil eutyroidisme var opnået, og ti patienter modtog derefter 375 mg RTX/m² en gang ugentligt i fire uger og fortsatte med MMI til sidste RTX-behandlingsdag. Kontrolgruppen (n = 10) blev ikke behandlet med RTX eller (af etiske grunde) anden infusion. Det primære endemål var recidiv af hypertyreosen, og ved recidiv blev MMI-behandlingen genoptaget. De to grupper var sammenlignelige mht. kumulativ MMI-dosis, initialt TRAb-niveau, thyroidea-peroxidase-antistofniveau, thyroideastørrelse, køn og alder. Som vist i **Figur 2A** var der en statistisk signifikant forskel i remissionsraten, idet fire personer fra RTX-gruppen forblev eutyroide ved afslutningen af opfølgingsperioden mod ingen i non-RTX-gruppen.

Rituximabs effekt på produktionen af autoantistoffer

Bemærkelsesværdigt var det patienter, der havde lave udgangs-TRAb-værdier, som forblev eutyroide i studiet (**Figur 2B**). RTX i kombination med MMI påvirkede overraskende nok ikke niveauerne af TRAb i højere grad end MMI-behandling alene (**Figur 2C**). Den manglende RTX-specifikke effekt på faldet i TRAb-niveauerne bekræftes tilsyneladende af et andet mindre studie af patienter med GO [7] og synes umiddelbart at være i modstrid med TRAb som den erkendte udløsende faktor ved GS. Forklaringen kan være, at MMI-monoterapi nok er effektiv mht. at sænke produktionen af TRAb, som følgelig falder til subkritiske niveauer, men at tilføjelse af RTX til behandlingsregimenet forhindrer rekruttering af nye TRAb-producerende plasmaceller fra B-lymfocyt-kompartimentet og således medierer en langvarig effekt. Tilsyneladende er denne effekt kun tilstrækkelig ved lave initiale TRAb-niveauer (**Figur 2B**). I denne sammenhæng spiller det muligvis en rolle, at langlivede plasmaceller står for en væsentlig del af TRAb-produktion hos patienter med høje niveauer af disse antistoffer, og at disse celler qua deres manglende udtryk af CD20 ikke rammes af RTX. Eksistensen af langlivede plasmaceller er formentlig årsag til den generelt ringe effekt, RTX-behandling har på autoantistofniveauerne ved autoimmun sygdom [2]. Omvendt sikrer disse celler sandsynligvis, at antimikrobielle antistofresponsen i ringe om nogen grad er kompromitteret efter RTX-behandling.

Bivirkninger ved rituximabbehandling af Graves' sygdom

I vort studium fik halvdelen af patienterne lette til moderate bivirkninger (primært feber og hypotension) under første RTX-behandling. Dette er velbeskrevet og lindres nemt ved pausering med behandlingen og evt. symptomatisk behandling med antihistamin og glukokortikoid. Tre patienter fik yderligere symptomer, som kunne tilskrives RTX-behandlin-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

gen: En fik alment ubehag, ledsmerter og paræstesier i over- og underekstremiteter fire dage efter den anden RTX-behandling. En fik kraftig polyarthritis med højfebrilia, hypersedimentation og C-reaktivt protein-forhøjelse fire dage efter den anden RTX-behandling. Symptomerne tolkedes som en serumsygelignende reaktion og var selvlimiterende. Efterfølgende opblussen af ledsmerterne medførte dog behov for prednisolonbehandling. Endelig fik en patient i tilknytning til RTX-behandlingen hæmatokesi, diare og efterfølgende ledsmerter, ligeledes med behov for prednisolonbehandling. Denne patient havde tidligere haft milde tarmsymptomer uden påvisning af colitis ulcerosa ved rektoskopi. Umiddelbart efter RTX-behandlingen viste fornyet endoskopi colitis ulcerosa [8].

De observerede immunologiske bivirkninger var ikke forventelige ud fra de rapporterede erfaringer med RTX. Over 700.000 patienter, heraf langt hovedparten inden for hæmatologien, er nu blevet behandlet med stoffet, men rapporter om bivirkninger som ovenstående har været sparsomme. Dette kan skyldes, at hæmatologiske patienter – i modsætning til GS-patienter – er immunsupprimerede [2]. Vi observerede ingen øget forekomst af infektioner og ingen svære infektioner hos de behandlede GS-patienter [6].

Andre potentielt anvendelige biologiske behandlingsmetoder ved Graves' sygdom

Effekten af RTX ved en lang række autoimmune sygdomme [2, 4] har ansporet til forskning i alternative terapier rettet imod B-lymfocytter. I en murin model af GS er behandling med anti-B-celle-aktiverende faktor (BAFF)-, også kendt som B-lymfocyt-stimulator (BLyS), receptor og anti-B-celle-maturations-antigen afprøvet med henblik på at påvirke BAFF- og A-proliferationsinducerende ligand (APRIL)-aktiviteten [9]. BAFF og APRIL er involveret i B-lymfocytters overlevelse. Behandlingen medførte et fald i niveauerne af TRAb og thyroideahormoner. Endvidere faldt antallet af både cirkulerende og vævs-associerede B-lymfocytter. Stoffe, som interagerer med BAFF og APRIL-systemerne, er under klinisk afprøvning i studier med mennesker med blandt andet reumatoid arthritis og systemisk lupus erythematosus (stadie I/II). Andre forskningsmæssige tiltag er rettet imod interaktionen mellem B-lymfocytter (og andre antigenpræsenterende celler) og T-lymfocytter. Således har blokade af CD40-CD154 (CD40-ligand)-interaktionen vist et potentiale i murine modeller for autoimmun thyroiditis. I en adenovirusinduceret model for GS hos BALB/c-mus har effekten af koinjektion med rekombinant adenovirus, der udtrykker CD40-Ig- eller CTLA-4-Ig-blokerende hhv. CD40-CD154- og CD28-B7-interaktion, været undersøgt [10]. CD40-Ig reducerede sygdomsincidensen med 50%, mens CTLA-4-Ig var uvirksomt. Det anses dog fortsat for en terapeutisk mulighed at anvende CTLA-4-Ig-hybridmolekylet abatacept til afkobling af T-celle-hjælp ved GS/GO som ved en række andre autoimmune sygdomme.

Faktaboks

Graves' sygdom (diffus toksisk struma) er en autoantistof-medieret sygdom, som rammer ca. 2% af befolkningen

Under halvdelen af patienterne remitterer på medikamentel behandling. Ofte må disse patienter behandles med radioaktivt jod eller thyroideakirurgi

Rituximab er et monoklonalt B-lymfocyt-depleterende antistof, som har vist sig at være sikkert og effektivt i behandlingen af bl.a. reumatoid arthritis

B-lymfocytter er *precursor*-celler for antistofsecernerende plasmaceller og vigtige antigenpræsenterende celler for T-hjælper-lymfocytter

I et kontrolleret studie havde rituximab en gunstig effekt på en undergruppe af patienter med Graves' sygdom. Behandlingen var associeret med immunologiske bivirkninger

Andre biologiske behandlinger rettet imod B-lymfocyt-overlevelse og B/T-lymfocyt-interaktion har været anvendt i murine modeller af Graves' sygdom, men endnu ikke hos mennesker

Konklusion

B-lymfocyt-depletion med RTX synes at kunne inducere forlænget remission ved GS, særligt hos patienter med lave TRAb-niveauer. RTX-behandling af isoleret GS kan dog ikke anbefales for nærværende grundet den relativt beskedne effekt, den høje pris (i øjeblikket ca. 100.000 kr. for den anvendte dosering pr. patient) samt den observerede bivirkningsprofil. Heroverfor står den relativt bivirkningsfri og langt billigere standardbehandling med antityroid medicin, radioaktivt jod eller kirurgisk fjernelse af glandula thyroidea. En fremtidig rolle for RTX i behandlingen af udvalgte patienter med svært behandlelig GS (som alternativ til radiojodbehandling eller kirurgi) og/eller GO som alternativ til orbital dekompression er imidlertid en mulighed [2, 7].

Korrespondance: Claus Henrik Nielsen, Vævstypelaboratoriet Afsnit 7631, Rigshospitalet, DK-2100 København Ø.
E-mail: claus.henrik.nielsen@rh.regionh.dk

Antaget: 20. februar 2008

Interessekonflikter: Forfatterne har udført et klinisk studie af rituximabs effekt på Graves' sygdom og Graves' oftalmopati. Dette studie har været støttet af Roche A/S Danmark. Claus Henrik Nielsen har modtaget betaling for foredragsvirksomhed for Roche A/S Danmark.

Taksigelser: Overlæge, dr.med. Hans C. Hasselbalch takkes for samarbejde om initiering og udførelse af de anførte studier. Roche A/S Danmark, Novo Nordisk Fonden og Musikforlæggerne Agnes og Knut Mørks Fond takkes for økonomisk støtte.

Litteratur

- Weetman AP. Graves' disease. *N Engl J Med* 2000;343:1236-48.
- Nielsen CH, El Fassi D, Hasselbalch HC et al. B-cell depletion with rituximab in the treatment of autoimmune diseases: Graves' ophthalmopathy the latest addition to an expanding family. *Expert Opin Biol Ther* 2007;7:1061-78.

3. Reff ME, Carner K, Chambers KS et al. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994;83:435-45.
4. Edwards JC, Cambridge G: B-cell targeting in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2006;6:394-403.
5. El Fassi D, Clemmensen O, Nielsen CH et al. Evidence of intrathyroidal B-lymphocyte depletion after rituximab therapy in a patient with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3762-3.
6. El Fassi D, Nielsen CH, Bonnema SJ et al. B lymphocyte depletion with the monoclonal antibody rituximab in Graves' disease: a controlled pilot study. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1769-72.
7. Salvi M, Vannucchi G, Campi I et al. Treatment of Graves' disease and associated ophthalmopathy with the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab: an open study. *Eur J Endocrinol* 2007;156:33-40.
8. El Fassi D, Nielsen CH, Kjeldsen et al. Ulcerative colitis and arthritis following B-lymphocyte depletion with rituximab in a patient with Graves' disease. *Gut* 2008;57:714-5.
9. Gilbert JA, Kalled SL, Moorhead J et al. Treatment of autoimmune hyperthyroidism in a murine model of Graves' disease with tumor necrosis factor-family ligand inhibitors suggests a key role for B cell activating factor in disease pathology. *Endocrinology* 2006;147:4561-8.
10. Chen CR, Aliesky HA, Guo J et al. Blockade of costimulation between T cells and antigen-presenting cells: an approach to suppress murine Graves' disease induced using thyrotropin receptor-expressing adenovirus. *Thyroid* 2006;16:427-34.

Behandling af diabetes mellitus med biologiske lægemidler

Reservelæge Claus Morten Larsen & professor Thomas Mandrup-Poulsen

Næstved Sygehus, Medicinsk Afdeling, Steno Diabetes Center, Afdelingen for Translationel Diabetologi, og Københavns Universitet, Core Unit for Medicinsk Forskningsmetodologi, Biomedicinsk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet

Biologisk behandling anvendes ikke i dag i behandlingen af patienter med type 1- og type 2-diabetes, men der er lovende resultater fra nyligt gennemførte randomiserede, placebokontrollerede studier, som åbner mulighed for, at behandling

med biologiske lægemidler rettet mod diabetessygdommens patogenese kan vinde indpas i behandlingen i de kommende år. Denne statusartikel omhandler de kausale trin i patogenesen til type 1- og type 2-diabetes, som de testede biologiske behandlingsformer formodes at angribe samt et kort resume og diskussion af behandlingsresultaterne.

I store genomskningsstudier publiceret i 2007 har man cementeret, at type 1- og type 2-diabetes er genetisk distinkte sygdomme, selv om de to sygdommes fænotyper undertiden kan være ganske vanskelige at adskille. Imidlertid er der enighed om, at sygdommene deler reduceret β -celle-masse som fælles patogenetisk faktor.

Ved type 1-diabetes skyldes den reducerede β -celle-masse en immun-medieret selektiv destruktion af de insulinproducerende β -celler i de Langerhanske øer i pancreas [1]. Type 1-diabetes giver kliniske symptomer, når β -celle-massen er reduceret med 50-70%, og på det tidspunkt er de Langerhanske øer sæde for en inflammatorisk proces, der er karakteriseret af et mononukleært celleinfiltrat bestående væsentligst af T-celler og makrofager. Disse cellers sekretion af cytokinerne interleukin (IL)- 1β og interferon (IFN) γ inducerer β -celle-død i form af apoptose enten direkte eller indirekte gennem IL- 1β -medieret opregulering af Fas-receptoren, som enten kan aktiveres af Fas-liganden udtrykt på nært beliggende β -celler eller aktiverede T-celler (**Figur 1**).

Type 2-diabetes opstår, når insulinsekretionen er for utilstrækkelig til at kompensere for det øgede behov, der er betinget af insulinresistens. Den nedsatte insulinsekretion skyldes dels et progredierende fald i β -celle-funktionen, og dels reduceret β -celle-masse på grund af apoptose [2]. Metaboliske faktorer antages at ligge til grund for β -celle-apoptosen. Hyperglykæmi og leptin forårsager via induktion af β -celle-pro-

Faktaboks

Anti-cluster of differentiation 3 forlænger remissionsperioden ved type 1-diabetes (evidensniveau 2)

Tumornekrosefaktor (TNF) α hæmmer insulinsignaleren in vitro og i dyremodeller

Anti-TNF-behandling forbedrer insulinfølsomheden i dyremodeller

Anti-TNF-behandling i fire uger forbedrer ikke insulinfølsomheden hos patienter med type 2-diabetes, selv om inflammationsniveauet dæmpes (evidensniveau 2)

Anti-interleukin-1-behandling i 13 uger forbedrer glykæmisk kontrol og β -celle-funktion og hæmmer inflammationsniveauet hos type 2-diabetikere (evidensniveau 2)