

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  $\beta$ -celle-masse som fælles patogenetisk faktor.

Ved type 1-diabetes skyldes den reducerede  $\beta$ -celle-masse en immun-medieret selektiv destruktion af de insulinproducerende  $\beta$ -celler i de Langerhanske øer i pancreas [1]. Type 1-diabetes giver kliniske symptomer, når  $\beta$ -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)- $1\beta$  og interferon (IFN) $\gamma$  inducerer  $\beta$ -celle-død i form af apoptose enten direkte eller indirekte gennem IL- $1\beta$ -medieret opregulering af Fas-receptoren, som enten kan aktiveres af Fas-liganden udtrykt på nært beliggende  $\beta$ -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  $\beta$ -celle-funktionen, og dels reduceret  $\beta$ -celle-masse på grund af apoptose [2]. Metaboliske faktorer antages at ligge til grund for  $\beta$ -celle-apoptosen. Hyperglykæmi og leptin forårsager via induktion af  $\beta$ -celle-pro-

### Faktaboks

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

Tumornekrosefaktor (TNF) $\alpha$  hæmmer insulin signaleringen in vitro og i dyremodeller

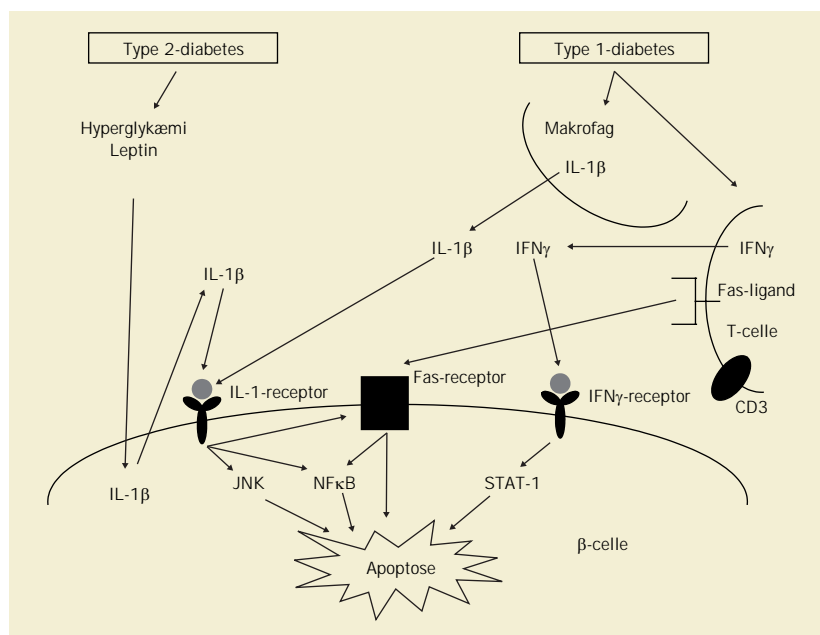
Anti-TNF-behandling forbedrer insulinfølsomheden i dyremodeller

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  $\beta$ -celle-funktion og hæmmer inflammationsniveauet hos type 2-diabetikere (evidensniveau 2)

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

**Figur 1.** Model for  $\beta$ -celle-apoptose ved type 1- og type 2-diabetes. I type 1-diabetes producerer de infiltrerende T-celler og makrofager henholdsvis interferon ( $\text{IFN}\gamma$ ) og interleukin ( $\text{IL-1}\beta$ ).  $\text{IL-1}\beta$  inducerer  $\beta$ -celle-apoptose via binding til  $\text{IL-1}$ -receptoren og deraf følgende aktivering af proapoptotiske protein-kinaser (jun N-terminal kinase (JNK) og *nuclear factor kappaB* ( $\text{NF}\kappa\text{B}$ )) samt via opregulering af Fas-receptoren, som gennem binding til Fas-liganden udtrykt på T-celler og på nærliggende  $\beta$ -celler ligeledes bevirker  $\beta$ -celle-apoptose.  $\text{IFN}\gamma$  inducerer  $\beta$ -celle-apoptose gennem receptormedieret aktivering af primært *signal transducer and activator of transcription* (STAT)-1. I type 2-diabetes inducerer forhøjede glukose- og leptinkoncentrationer i blodet  $\beta$ -celle-produktion af  $\text{IL-1}\beta$ .  $\text{IL-1}\beta$  bevirker  $\beta$ -celle-apoptose via de to mekanismer, som er beskrevet for type 1-diabetes.



duktion af  $\text{IL-1}\beta$ -celle-apoptose in vitro og i dyremodeller [3] (Figur 1).  $\text{IL-1}\beta$  er således involveret i patogenesen til både type 1- og type 2-diabetes.

### Biologisk behandling af type 1-diabetes

Det har endnu ikke været muligt at påvise en effekt af interventionsformer i den prædiabetiske fase af type 1-diabetes rettet mod at beskytte  $\beta$ -cellen eller at inducere antigenspecifik tolerans med for eksempel insulin. Opmærksomheden rettes derfor for øjeblikket mod at bevare den residuale  $\beta$ -cellefunktion efter debut af type 1-diabetes. Dette er vigtigt, fordi bevarelse af residualfunktionen er forbundet med lavere glykeret hæmoglobin ( $\text{HbA}_{1c}$ ), lavere insulinbehov, lettere regulerbar diabetes, færre hypoglykæmitilfælde og færre sendiabetiske komplikationer.

På baggrund af T-cellernes centrale rolle i orkestreringen af inflammations-processen i de Langerhanske øer (Figur 1) og positive prækliniske resultater i *non-obese diabetic*-musmodellen er antistoffer mod *cluster of differentiation* (CD)3 testet i to kliniske undersøgelser hos patienter med nydiagnosticeret type 1-diabetes [4, 5]. CD3 er en fælles markør for alle subgrupper af T-celler.

I det første, mindre studie [4], som var en ikkeblindet randomiseret undersøgelse, indgik der i alt 24 patienter med en diabetesvarighed på maksimalt seks uger. Den ene halvdel fik daglige injektioner med anti-CD3 i 14 dage, hvorimod den anden halvdel blot blev observeret (ingen placebobehandling). Efter et år var observationsgruppens  $\beta$ -cellefunktion reduceret med ca. 50%, hvorimod interventionsgruppens var uændret. Imidlertid viste toårsopfølgningen, at der desværre skete et progressivt parallelt fald i  $\beta$ -cellefunktionen i begge grupper.

I det andet studie, som var dobbeltblindet, randomiseret og placebokontrolleret, indgik der i alt 80 patienter med en diabetesvarighed på maksimalt fire uger [5]. Begge grupper fik en daglig injektion med anti-CD3-antistof eller placebo i seks dage. Efter 18 måneders vanlig behandling med insulin var anti-CD3-gruppens  $\beta$ -cellefunktion uændret fra indgangstidspunktet, hvorimod placebo-gruppens var reduceret med 37%. Anti-CD3-gruppens insulinbehov faldt med 18% gennem de 18 måneder, hvorimod placebo-gruppens steg med 50%. Subgruppen med størst residualfunktion ved indgangen i studiet havde den største effekt af behandlingen. Alle anti-CD3-behandlede patienter fik under injektionerne akut ubehag i form af feber, hovedpine, mavesmerter og artralgi. Bekymrende var det, at 75% af de anti-CD3-behandlede patienter omkring 18.-dagen fik et mononukleoselignende sygdomsbillede på 7-12 dages varighed på grund af reaktivering af Epstein-Barr-virus eller *Cytomegalovirus*. Mekanismen bag anti-CD3-antistoffets behandlingseffekt kendes ikke med sikkerhed, men der indgår opregulering af CD8-positiv regulatoriske T-celler.

Disse to studier illustrerer, at kortvarig (seks dage eller 14 dage) behandling med anti-CD3-antistof udsætter faldet i residualfunktion i modsætning til immunsuppressiv behandling med ciclosporin, azathioprin eller prednisolon, der kun beskytter residual- $\beta$ -cellefunktionen, så længe den immunsuppressive behandling gives og med de ledsagende bivirkninger. Desværre forlyder det, at heller ikke effekten af anti-CD3-behandlingen er varig.

En amerikansk-europæisk fase 3-undersøgelse er under iværksættelse, og den kan måske belyse anti-CD3-antistoffs terapeutiske potentiale med hensyn til langtidsvirkninger og -bivirkninger.

### Biologisk behandling af type 2-diabetes

To biologiske behandlingsprincipper er blevet testet hos patienter med type 2-diabetes: hæmning af IL-1 $\beta$  og af tumornekrosefaktor (TNF) $\alpha$ -signalering. Dette med henblik på at undersøge disse stoffers effekt på glykæmisk kontrol,  $\beta$ -cellefunktion, insulinresistens og inflammatoriske markører.

### Hæmning af tumornekrosefaktor $\alpha$

Baggrunden for at anvende anti-TNF $\alpha$ -terapi til behandling af insulinresistens hos mennesker stammer fra overbevisende in vitro- og museforsøg, hvor administration af TNF $\alpha$  inducerer insulinresistens, og neutralisering af TNF $\alpha$  forbedrer insulinsensitiviteten [6]. TNF $\alpha$  er endvidere associeret med insulinresistens hos type 2-diabetikere som en del af den *low grade*-inflammation, der er forbundet med det metaboliske syndrom og type 2-diabetes.

Anti-TNF $\alpha$ -terapi har været afprøvet på insulinresistens hos patienter med inflammatoriske sygdomme (primært reumatoid arthritis), det er beskrevet kasuistisk og i ukontrollerede undersøgelser med betydelig variation i effekten.

I to dobbeltblindede, randomiserede og placebokontrollerede studier [7, 8] og et randomiseret, åbent, men kontrolleret studie [9] påviste man ingen ændring i insulinresistensen af anti-TNF $\alpha$ -behandling i fire uger ved type 2-diabetes. I de to af studierne, hvor  $\beta$ -cellefunktionen blev undersøgt [7, 9] fandt man ligeledes ingen ændring. At behandlingen havde effekt på den inflammatoriske tilstand var dokumenteret i begge de studier, hvor inflammatoriske markører blev analyseret [8, 9], idet anti-TNF $\alpha$ -behandlingen medførte et fald i C-reaktivt protein (CRP) og IL-6. Anti-TNF $\alpha$ -terapien tåltes uden væsentlige bivirkninger.

På det foreliggende konkluderes det, at anti-TNF $\alpha$ -terapi umiddelbart ikke har effekter på insulinresistens og  $\beta$ -cellefunktion ved type 2-diabetes, selv om behandlingen reducerer niveauet af inflammatoriske markører. Større studier med længere behandlingsvarighed er påkrævet.

### Hæmning af interleukin-1 $\beta$

Rationalet for at anvende anti-IL-1 $\beta$ -terapi ved type 2-diabetes bygger på, at  $\beta$ -celle-massen er reduceret ved apoptose [2], at hyperglykæmi inducerer  $\beta$ -celle-produktion af IL-1 $\beta$  [3] (Figur 1), og at IL-1 $\beta$  er selektivt  $\beta$ -celle-toksisk [1].

I et dobbeltblindet, randomiseret og placebokontrolleret studie [10] blev 70 type 2-diabetikere randomiseret til enten 13 ugers behandling med IL-1-receptorantagonist (RA), som forhindrer IL-1 $\beta$ -signalering ved at binde til IL-1-receptoren, eller placebobehandling. Efter 13 ugers behandling havde IL-1-RA-gruppen lavere HbA<sub>1c</sub>, bedre  $\beta$ -cellefunktion og lavere CRP og IL-6 end placebogruppen. Der var ingen effekt af IL-1-RA på insulinresistensen, kropsvægten og ekspressionen af gener, der er involveret i insulinsignaleringen i muskelbiopser. Den største reduktion i HbA<sub>1c</sub> sås hos patienterne med det laveste kropsoverfladeareal (BSA), hvilket tyder på, at for-

delingsvolumenet for IL-1-RA er af betydning, således at større effekter kan forventes ved højere doser. Fraset et tidsbegrænset (2.-4. uge) hududslæt tåltes behandlingen uden bivirkninger.

IL-1-RA-behandling af type 2-diabetikere har således lovende effekter, men større undersøgelser med længere behandlingsvarighed og evt. anvendelse af længerevarende IL-1 $\beta$ -hæmning må udføres, før det terapeutiske potentiale kan vurderes.

### Konklusion og perspektiver

Biologisk behandling af type 1- og type 2-diabetes har ikke bragt nye behandlingsmodaliteter til klinikken – endnu. Den eksperimentelle biologiske behandling har derimod bibragt os en ny og vigtig viden om de patogenetiske processer i type 1- og type 2-diabetes:  $\beta$ -celle-destruktionen kan bremses ved type 1-diabetes, TNF $\alpha$  er vigtig for insulinresistensen hos mus, men synes at være uden overbevisende effekter hos mennesker, og  $\beta$ -cellefunktionen kan forbedres ved type 2-diabetes gennem hæmning af et proinflammatorisk cytokin (IL-1 $\beta$ ), som er associeret med  $\beta$ -celle-destruktion ved type 1-diabetes; de to ellers så forskellige sygdomme har hermed et fælles element.

Der planlægges p.t. en undersøgelse af IL-1-RA-behandling af patienter med nydiagnosticeret type 1-diabetes og yderligere undersøgelser med henblik på at bekræfte den lovende effekt af IL-1-RA-behandling ved type 2-diabetes og afprøve sikkerhed og virkning af højere doser og længere behandlingsvarighed.

Perspektiverne er, at  $\beta$ -cellefunktionen i fremtiden måske vil kunne bevares og styrkes ved diabetes sygdomme gennem en kombination af antiinflammatorisk biologisk behandling og behandling med glukagonlignende peptid-1, som foruden at stimulere insulinsekretionen synes at kunne forebygge  $\beta$ -celle-apoptose og inducere  $\beta$ -celle-replikation sammen med antidiabetisk behandling som insulin. Der tegner sig for første gang muligheder for kausal terapi på det patogenetiske niveau indenfor de to hyppigste diabetesformer.

Korrespondance: Claus Morten Larsen, Medicinsk Afdeling, Næstved Sygehus, DK-4700 Næstved. E-mail: cmla@steno.dk

Antaget: 13. marts 2008  
Interessekonflikter: Ingen

### Litteratur

1. Mandrup-Poulsen T. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 1996;39:1005-29.
2. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S et al. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003;52:102-10.
3. Mædler K, Sergeev P, Ris F et al. Glucose-induced beta-cell production of interleukin-1 $\beta$  contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest* 2002;110:851-60.
4. Herold KC, Hagopian W, Auger JA et al. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2002;346:1692-8.
5. Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG et al. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005;352:2598-608.

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

6. Moller DE. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:212-7.
7. Ofei F, Hurel S, Newkirk J et al. Effects of an engineered human anti-TNF- $\alpha$  antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* 1996;45:881-5.
8. Bernstein LE, Berry J, Kim S et al. Effects of Etanercept in patients with the metabolic syndrome. *Arch Intern Med* 2006;166:902-8.
9. Dominguez H, Storgaard H, Rask-Madsen C et al. Metabolic and vascular effects of tumor necrosis factor- blockade with Etanercept in obese patients with type 2 diabetes. *J Vasc Res* 2005;42:517-25.
10. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2007;356:1517-26.

## Biologisk behandling af virus-hepatitis

Professor Court Pedersen &  
afdelingslæge Christian Ross Pedersen

Odense Universitetshospital, Infektionsmedicinsk Afdeling Q, og Røgshospitalet, Afdeling for Kirurgisk Gastroenterologi og Transplantation C

Hepatitis C-virus (HCV) er en hyppig årsag til leversygdom i såvel den vestlige verden som i mange udviklingslande. I Danmark regner man med, at der lever mindst 15.000 personer med kronisk HCV-infektion. Hos størstedelen af de smittede har infektionen et mildt forløb, men efter 20-30 år vil omkring 25% have fået cirrose (**Figur 1**), og af disse vil 1-4% pr. år få hepatocellulært karcinom. Hepatitis B er med ca. 400 mio. smittede den mest udbredte form for leverbetændelse i verden. Hepatitis B forekommer betydeligt hyppigere i udviklingslande end i den vestlige verden. Man skønner, at ca. 10.000 personer i Danmark har kronisk hepatitis B. Den kroniske infektion (hepatitis B-virus-overfladeantigen-positiv i mere end seks måneder) har forskellige faser, som har betydning for valg af behandling [1]. I Danmark er hepatitis C en hyppigere årsag til levercirrose end hepatitis B.

### Biologics

*Biologics* defineres af Food and Drug Administration (FDA) som ethvert terapeutisk serum, toksin, antitoxin, vaccine, virus, blod, blodkomponent, blodderivat, allergent produkt, analogt produkt eller derivat til anvendelse ved forebyggelse eller behandling af sygdom hos mennesker.

I dag er de største grupper af *biologics* monoklonale antistoffer, blodkomponenter, vacciner og cytokiner. I denne artikel lægges hovedvægten på interferon (IFN), som har en central placering i behandlingen af virushepatitis, men også nyere *biologics* under udvikling vil blive berørt. Vacciner vil ikke blive omtalt.

### Interferon generelt

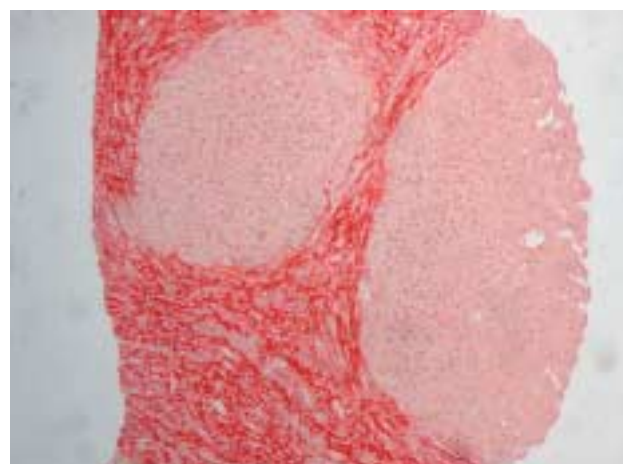
Interferoner er en familie af cytokiner, som har antiviral aktivitet og antitumorale og immunregulatoriske funktioner.

IFN er essentiel i første linje af det innate immunsystem mod virale infektioner, og allerede timer efter f.eks. en influenzainfektion produceres der IFN. Dette inducerer et antiviralt intracellulært respons efter binding til IFN-receptorer med efterfølgende aktivering af en række transduktionskaskader og produktion af yderligere IFN, som kan aktivere/beskytte nærliggende celler mod viral infektion. Desværre er der hos en lang række virus udviklet mekanismer til at undgå effekten af IFN-systemet, hvorfor den kliniske anvendelse af IFN til behandling af virussygdomme har været præget af meget varierende resultater.

Traditionelt inddeler man IFN i type I (IFN- $\alpha$  og IFN- $\beta$ ), type II (IFN- $\gamma$ ) og type III (IFN- $\lambda$ /IL-28/29).

IFN- $\alpha$ -familien består af mindst 13 proteiner kaldet IFN- $\alpha$ -subtyper. Af disse er IFN- $\alpha$ 2 den bedst kendte, idet flere rekombinante IFN- $\alpha$ -produkter er godkendt til klinisk anvendelse. FDA har også godkendt IFN-alfacon-1, som er et hybrid af de forskellige IFN- $\alpha$ -subtyper, til behandling af virushepatitis.

IFN- $\beta$  består kun af et enkelt protein, og er mest anvendt i behandlingen af multipel sklerose.



**Figur 1.** Bindevævsfärvning af en leverbiopsi. Der ses fremskreden sygdom med cirrose (udbredt fibrosedannelse). Bindevævet er farvet rødt. (Billedet er venligst stillet til rådighed af Afdeling for Klinisk Patologi, Odense Universitetshospital).