

10. Jackson KA, Majka SM, Wang H et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001;107:1395-402.
11. Quaini F, Urbaneck K, Beltrami AP et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002;346:5-15.
12. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
13. Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106:1913-8.
14. Assmus B, Schachinger V, Teupe C et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-17.
15. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107:2294-302.
16. Majno G, Joris I. *Cells, tissues, and disease*. Cambridge: Blackwell Science, 1996:11-70.
17. Leferovich JM, Bedelbaeva K, Samulewicz S et al. Heart regeneration in adult MRL mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:9830-5.

Ø-celle-transplantation ved type 1-diabetes

Status og perspektiver

Jørgen E. Jensen, cand.scient. Steen B. Laursen,
Thomas B. Nielsen, Knud B. Yderstræde & Henning Beck-Nielsen

I 1994 og 1995 blev fem patienter med type 1-diabetes behandlet med transplantation af Langerhans' øer på Odense Universitetshospital. Under anvendelsen af et steroidfrit immunosuppressivt regimen opnåede alle patienter måleligt C-peptid, og en patient var insulinfri i et år [1, 2]. Efter otte år har denne patient stadig måleligt C-peptid. En steroidfri protokol er fra 2001 anvendt med succes i Edmonton (Canada), hvor man i en serie med 15 konsekutivt valgte patienter opnåede insulinfrihed hos 12 (80%) efter et år [3].

Transplantation af Langerhans' øer (ø-celle-transplantation) udgør en basal cellulær terapi til patienter med type 1-diabetes. I modsætning til pancreastransplantation kan man ved ø-celle-transplantation genetablere den endokrine funktion med væsentlig mindre morbiditet. Transplantation af β-celler i enkeltcellesuspension har ikke haft samme succes, muligvis forklaret ved at den paraendokrine funktion ikke etableres som ved ø-celle-transplantation. Langerhans' ø fungerer som et miniorgan med karindvækst fra recipienten, paraendokrin transmission og til en vis grad neuroendokrin styring på baggrund af nydannelse af neuroner.

I nærværende statusartikel vil vi tage afsæt i et kort historisk resumé og herefter resumere den aktuelle status for klinisk ø-celle-transplantation, donor-recipient-forhold, metoder til isolation og perspektiver for den videre anvendelse af teknologien, herunder applikation af stamceller. For en mere udtømmende indføring i emnet ø-celle-transplantation henvises til en nylig publiceret oversigt af *C. Ricordi* [4].

Baggrund

Ø-celle-transplantation blev en mulighed med indførelsen af den semiautomatiske procedure til isolation af Langerhans' øer [5]. Det kliniske udfald af ø-celle-transplantation har hidtil været utilfredsstillende, men anvendelsen af en steroidfri protokol ser ud til at være mere succesfuld [3].

Ø-celle-transplantation betragtes som en eksperimentel behandling og har derfor været forbeholdt diabetikere, der i forvejen modtager immunosuppressiv behandling grundet tidligere eller samtidig organtransplantation, typisk kombineres ø-celle- og nyretransplantation. De seneste resultater fra Edmonton omfatter patienter, der ikke har andre organdysfunktioner og som følgelig kun ø-celle-transplanteres. Resultaterne af disse transplantationer er så lovende, at det etisk kan retfærdiggøre ø-celle-transplantation af diabetikere, som på konventionel insulinbehandling har været invaliderede pga. mange og svære episoder med hypoglykæmi [3].

Det Internationale Transplantationsregister for Ø-celle-transplantation (ITR)

Registret blev dannet på International Pancreas and Islet Transplantation Association (IPITA)-mødet i Lyon (Frankrig) i 1980 og efterfølgende (fra 1989) placeret i Giessen (Tyskland). Initialt var der tale om et kombineret pancreas- og ø-celle-transplantationsregister med indrapportering fra United Network for Organ Sharing (UNOS) [6], som dækker de store amerikanske centre. Pancreastransplantationer udgør langt hovedparten af aktiviteterne, men den stigende interesse for ø-celle-transplantation retfærdiggør den opdelte struktur. Fra 1990 til 2000 har der været gennemført 394 allogene ø-celle-transplantationer og 140 autologe transplantationer. Til registeret rapporterer alle veletablerede centre for ø-celle-transplantation med formularer til brug for centrets løbende kritiske vurdering af innovative tiltag til forbedring af ø-celle-udbyttet, immunosuppressive protokoller, funktionelle aspekter og donor-recipient-selektion. Det ultimative ønske er at nå frem til faste kriterier for succesfuld ø-celle-transplantation, og denne samtlige funktion tilfredsstillende et oplagt behov, idet kun få centre når op på et klinisk betydningsfuldt antal ø-celle-transplantationer. Centret modtager også værdifuld

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

information om resultater af autolog β -celle-transplantation foretaget på f.eks. patienter med smertevoldende kronisk pankreatit. I disse tilfælde gives der bl.a. oplysninger om de kvantitative behov i forbindelse med β -celle-transplantation.

Metode

Pancreas til β -celle-transplantation udtages fra nekrodonorer, der er udvalgt ud fra en række rekommandationer opstillet på baggrund af indrapporteringer til ITR. Pancreas distenderes med en enzymopløsning. I en semiautomatisk opsætning frigøres øerne fra det omgivende væv og oprensnes efterfølgende ved hjælp af densitetsgradienter. Man stiler mod, at β -celle-transplantatet består af Langerhans' øer med minimal tilblanding af eksokrint væv blandt andet for at minimere det samlede cellevolumen til transplantation.

I lokal anæstesi foretages en ultralydvejledt transhepatisk punktur af en vena porta-gren, øerne infunderes og niderer sig herefter i de portale sinusoider. I løbet af få dage opnås der en vis vaskularisering, om end nyere undersøgelser tyder på, at der er insufficient oxygenisering centralt i øerne [7]. Komplikationer er sjældne og udgøres primært af stigning i portaltrykket, transfusionskrævende blødning og vena porta-trombose.

Med udviklingen af specifikt tilegnede enzymopløsninger (e.g. Liberase) opnås der mere reproducerbare resultater. Der er dog stadig en betydelig variation i udbyttet af β -celler. Erfaringer har vist, at recipienten skal have ca. 10.000 β -ækvivalenter (en β -ækvivalent er en Langerhans' β omregnet til en gennemsnitsdiameter på 150 mikrometer) pr. kg legemsvægt for at opnå insulinfrihed [3]. Det er sjældent muligt at isolere så stort et antal øer fra en pancreas, og gentagne transplantationer vil sædvanligvis være nødvendige for, at recipienten kan blive helt uafhængig af eksogent insulin.

β -celle-transplantation er, i forhold til transplantation af hele organer, forbundet med mindre morbiditet og mortalitet. Ved samtidig nyre- og β -celle-transplantation vil den forbedrede glykæmiske kontrol forventeligt bedre overlevelsen af nyregraften.

Da β -celle-transplantation er en eksperimentel behandling, som kræver kontinuerlig forskning, udvikling og recipienttilgang for, at man kan opretholde den nødvendige ekspertise, er funktionen nationalt samlet i et center på Odense Universitetshospital. Transplantation har hidtil foregået i et samarbejde med et laboratorium i Milano (Italien). Fra efteråret 2002 er der etableret faciliteter til isolation af øer i Odense, og efter en indkøringsfase er der transplanteret to patienter i 2003. Centret tilbyder β -celle-transplantation til patienter med type 1-diabetes, der tidligere er blevet nyretransplanteret eller samtidig modtager en nyre. Den meget lille gruppe af svært dysregulerede type 1-diabetikere, som ikke skal modtage anden organtransplantation, vil dog undtagelsesvis kunne komme i betragtning til transplantation (Fig. 1). Når centret er fuldt udbygget, forventes isolations- og transplantationskapaciteten at omfatte β -celler fra samtlige relevante

Overordnede kriterier

Patienter med type 1-diabetes mellitus (uden C-peptid-produktion) og uden påviselige β -celle-antistoffer

Recipienterne kan opdeles i følgende tre kategorier

1. Simultan nyre- og β -celle-transplantation

Patienter, der har terminalt nyresvigt med dialysebehov eller er tæt på dialysegrænsen, og som opfylder de fysiske og psykiske krav til transplantation

2. β -celle-transplantation hos nyretransplanterede

Kræver stabil nyregraftfunktion

3. β -celle-transplantation alene

Hyppige og svære tilfælde af hypoglykæmi, som medfører svært nedsat livskvalitet

Svær autonom neuropati

Kræver normal og stabil nyrefunktion.

Fig. 1. Inklusionskriterier for recipienter til β -celle-transplantation.

multiorgandonorer i Danmark. Prisen for en β -celle-transplantation skønnes at være ca. 250.000 kr.

Da β -celle-recipienterne oftest er nyretransplanterede, videreføres den allerede initierede steroidfrie immunosuppressive behandling. Protokollen udgøres af induktionsterapi med basiliximab med videreføring af ciclosporin og mycophenolat.

Organisering af β -transplantationscentret

Et optimalt center er baseret på et kombineret eksperimentelt og klinisk potentiale. På baggrund af den stærkt begrænsede mængde organer er der behov for at udvikle nye procedurer via afprøvninger på relevante dyremodeller. Metoderne til isolation af Langerhans' øer er i de fleste centre analoge til de situationer, hvor der anvendes større pattedyr. Systemet er ofte meget følsomt over for mindre metodiske ændringer og kræver derfor en regelmæssig og systematisk adgang til procedurerne, for at man kan iagttage relevante ændringer i udbytte, funktion, renhedsgrad og histomorfo-metri. Et velfungerende center kræver en bred klinisk base med deltagelse af organkirurger, radiologer, bioteknologisk personale, diabetologer, nefrologer og biologer.

Konklusioner og perspektiver

Selv om succesen i Edmonton-protokollen [3] viser sig at kunne reproduceres internationalt, er der mange problemer, der skal løses, før der er et reelt klinisk tilbud til behandling af de mange patienter med type 1-diabetes.

Væsentligst er det faktum, at der ikke er tilstrækkelige mængder af organer fra nekrodonorer, og som nævnt ovenfor, skal der ofte bruges 2-3 donororganer pr. recipient. Derfor forskes der intenst i at udvikle alternative behandlingsregimer, som f.eks. β -celle-masseekspansion, genterapi, xenotransplantation og stamcelleterapi, men indtil videre er der ikke kommet noget afgørende gennembrud i forskningen.

Nationalt og internationalt satses der intenst på stamcelle-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Fig. 2. Stamceller med demonstreret β -celle-potentiale in vitro.

<p><i>Pluripotente stamceller</i> Embryonale stamceller</p>
<p><i>Multipotente stamceller</i> Knoglemarvsceller Tarmepitelceller Leverstamceller</p>
<p><i>Kommitterede stamceller</i> Føtale pankreatiske stamceller Pankreatiske ductalceller</p>

forskningen, og der er indici for forekomst af stamceller eller β -celle-forstadier i ductalt væv i pancreas [8]. Endvidere har både embryonale stamceller [9] og knoglemarvsstamceller [10] potentiale til at kunne differentiere til insulinproducerende β -celler (Fig. 2).

Specielt type 1-diabetes vil utvivlsomt vise sig at være vanskeligt at behandle på grund af sygdommens autoimmune ætologi. Der er ingen tvivl om, at en fremtidig optimal celleterapi vil bygge på enten autolog transplantation, dvs. at man benytter patientens egne stamceller til terapi, eller embryonale stamceller.

Der er således flere problemer, der skal løses, før der er en effektiv celleterapeutisk baseret behandling af type 1-diabetikeren. Centret i Odense tilbyder transplantation af insulinproducerende β -celler, der er isoleret fra nekrodonorer, men indtil videre ud fra et eksperimentelt behandlingskoncept. De nye metoder i eget laboratorium gør, at vi må forvente bedre resultater (jf. Edmonton), men der fordres flere donorpancreas, for at man kan opnå den nødvendige rutine. På længere sigt forventes stamcelleterapi at være det bedste og mest realistiske behandlingstilbud.

Korrespondance: *Henning Beck-Nielsen*, Endokrinologisk Afdeling M, Odense Universitetshospital, DK-5000 Odense C.
E-mail: henning.beck-nielsen@ouh.fyns-amt.dk

Antaget den 22. oktober 2003.
Odense Universitetshospital, Center for Transplantation af Insulin Producerende Øer, Klinik for Molekylær Endokrinologisk Behandling og Endokrinologisk Afdeling M.

Litteratur

1. Yderstræde KB, Henriksen FL, Nielsen T et al. Insulin independence after allogeneic intraportal islet transplantation: relation to functional tests. *Transplant Proc* 1998;30:317-8.
2. Birkeland SA, Beck-Nielsen H, Rohr N et al. Islet and kidney transplantation using ATG and cyclosporin monotherapy and a central facility for islet isolation and purification. *Transplant Proc* 1995;27:3150-7.
3. Ryan EA, Lakey JR, Paty BW et al. Successful islet transplantation: continued insulin reserve provides long-term glycemic control. *Diabetes* 2002;51:2148-57.
4. Ricordi C. Islet transplantation: a brave new world. *Diabetes* 2003;52:1595-603.
5. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH et al. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988;37:413-20.
6. Gruessner AC, Sutherland DE. Analysis of United States (US) and non-US pancreas transplants reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of October 2001. *Clin Transpl* 2001;41-72.
7. Carlsson PO, Palm F. Oxygen tension in isolated transplanted rat islets and in islets of rat whole-pancreas transplants. *Transpl Int* 2002;15:581-5.
8. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97:7999-8004.
9. Lumelsky N, Blondel O, Laeng P et al. Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 2001;292:1389-94.
10. Ianus A, Holz GG, Theise ND et al. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 2003;111:843-50.