



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Immunotherapy and beta-cell replacement in type I diabetes mellitus

Linde, P. van de

Citation

Linde, P. van de. (2009, December 16). *Immunotherapy and beta-cell replacement in type I diabetes mellitus*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/14521>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/14521>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Chapter 7

**General discussion,
Summary and Nederlandse
samenvatting**

GENERAL DISCUSSION

Type 1 diabetes mellitus (T1D) treatment currently consists of symptomatic and curative therapeutic strategies. The most important treatment is the use of insulin administration. The DCCT has shown the relevance of strict regulation of glucose serum levels to delay and control the progression of macrovascular and microvascular complications (1). The rate of T1D related complications can be tempered, but for this achievement one has to pay for with an increased rate of hypoglycaemic events. Although it is the most important treatment option, insulin administration remains a symptomatic approach.

The only accepted therapeutic strategy remains pancreas transplantation for T1D patient with end-stage renal failure. Islet transplantation requires further improvement to offer lasting clinical benefits, while antigen-specific immunotherapy and non-antigen-specific immunotherapy remain experimental, and further clinical validation including side effects is warranted.

T1D is currently curable by whole organ pancreas transplantation, or perhaps transplantation of islets of Langerhans. The need for lifelong immunosuppressive therapy is the price to pay for replacing exogenous insulin administration by beta-cell replacement therapy. Combined kidney-pancreas transplantation is a suitable option for patients with (pre-) renal insufficiency. The urgency for immunosuppressive drug therapy for kidney transplantation justifies a combined transplantation with whole organ pancreas or islet donor graft. Pancreas or islet transplantation alone is still controversial and mainly used for brittle T1D. Advantages of more physiological regulated blood glucose levels have to counterbalance the disadvantages of immunosuppressive therapy to justify transplantation for non-uremic T1D patients. Diminishing side effects of immunosuppressive drugs by more selective agents might be decisive to support pancreas or islet transplantation alone or even the use of immunosuppressive agents in recent-onset T1D individuals. Lessons learned from immunosuppressive regimes in pancreas or islet transplantation programs might be directive in the development of immunotherapeutic strategies for recent-onset T1D patients.

Knowledge about the mechanism of action of currently used immunotherapeutic agents is necessary to develop specific immunotherapy for pancreas and islet transplantation as well as immune intervention strategies in recent-onset T1D patients. In chapter 2 the mechanism of action of different immunosuppressive agents for transplantation and immune modulation purposes are described. T-cell assays were used to evaluate the immunological consequences of ATG and humanized monoclonal antibodies directed against CD3 (ChAglyCD3) and CD25 (daclizumab). Our study showed that ATG leads to depletion of auto-reactive CD4+T-cells by ADCC, CDC and apoptosis induction, while anti-CD3 and daclizumab (anti-CD25) inhibited T-cell autoreactivity in a non-depleting fashion leading to immune modulation.

Pancreas whole-organ Transplantation

Pancreas transplantation often results in persistent reversal of physiologically regulated glucose serum levels. As a result of the surgical procedure and need for continuous use of immunosuppressive agents pancreas transplantation has considerable morbidity. Increasing knowledge of technical aspects of surgery and immunosuppression has led to increasing patient and graft survival rates. According to the International Pancreas Transplant Registry patient and graft survival rates in Simultaneous Pancreas Kidney transplantations have increased since the late 80's according to the International Pancreas transplant Registry. Patient survival rates at 1 year were over 90% and 95% in the 1988 and 2002, respectively. Pancreas and kidney graft 1 year survival rates in the period 2002-2003 were 85% and 92%, respectively (2). Currently, the existing evidence in the literature suggests the use of induction therapy and maintenance immunosuppression consisting of a calcineurin inhibitor, mycophenolate mofetil and steroids (3).

In chapter 3, our experience with induction therapy with either ATG or daclizumab was reported. Single high dose ATG Fresenius or five gifts of daclizumab were well tolerated and equally effective in reducing the incidence of acute rejection episodes in simultaneous pancreas kidney transplant recipients. Up to three years, no clinical adverse sequelae of the immunoprophylaxis or evidence of recurrent autoimmunity were observed. Pre-transplantation existence of GAD65 autoantibodies might guide a more tailor-made immunosuppressive regime in the context of whole pancreas transplantation, in the sense that this condition would benefit from ATG induction, rather than daclizumab, whereas seronegative patient would take advantage of the lesser side effects (e.g., virus reactivation (4)) of daclizumab.

This conclusion was corroborated by further studies on the specificity of ATG or daclizumab as induction therapy in pancreas recipients discussed in Chapter 4. These data imply that daclizumab is more specifically affecting diabetes related immune responses compared to ATG. Autoimmunity is affected effectively after daclizumab induction, while memory responses towards bacterial, viral and tumour antigens are better preserved. Our pancreas transplantation trial suggests a more specific targeting of diabetes and transplantation related immune responses by monoclonal antibody therapy with daclizumab. These notions are supported by the previously mentioned mechanistic study demonstrating differential actions of humanized monoclonal antibodies versus polyclonal xenoantibodies (Chapter 2). The humanized monoclonal antibodies daclizumab has been shown to be as effective as ATG in immunomodulation of T-cell auto-reactivity in vitro as well as in vivo demonstrated in pancreas transplantation settings (as described in Chapters 3 and 4), while, unlike ATG, sparing the vast bulk of the T-cell population. Due to increasing experience and success with humanized monoclonal

antibody therapy in islet and pancreas transplantation settings, this therapeutic option gained interest as possible immunotherapy in recent onset T1D.

Humanized monoclonal antibodies appear to be preferable for application in T1D, because of their more specific and modulatory characteristics with milder side effects. We demonstrate that the mechanisms of action of humanized monoclonal antibodies fulfil those criteria. Studies with anti-CD3 Moabs in recent-onset T1D patients elicits c-peptide preservation for at least 1 year. Long-term changes in CD4/CD8 ratios and regulatory cells also points to immunomodulation in treated subjects (5-8). A study to the effect of daclizumab induction combined with mycophenolate mofetil maintenance immunosuppression is completely enrolled and results are expected in the following years (9).

Although long-term results are primarily dependent on the success of immunosuppressive treatment, the short-term success is considerably influenced by the post-operative morbidity. To address this, the exocrine duct management was investigated in Chapter 6. In most pancreas transplantation programs the enteric drainage procedure is the favoured exocrine duct management, because of its physiological nature and the avoidance of chronic urological complications as seen in bladder drained transplants. Facing a higher risk on anastomotic complications, primary bladder drainage may be the preferred option. Indeed, better survival rates in bladder drained pancreas after kidney (PAK) and pancreas transplantation alone (PTA) transplants have been demonstrated (2). In Chapter 6, we demonstrated that primary bladder drainage followed by enteric conversion is a safe and effective procedure. Therefore, a two-step approach with primary bladder drainage followed by enteric conversion may be the best approach in PAK and PTA transplantation, as well as in a selected group of SPK transplants with increased risk on anastomotic leakage or breakdown of the enterostomy.

Islet Transplantation

Improved results of T1D patients treated according to the Edmonton protocol stimulated the field of islet transplantation. Although initial results were promising, long-term follow-up indicated that graft function is gradually lost and insulin requirement returns within 5 years post-transplantation in the vast majority of cases (10,11).

The immune assays described previously in the introduction of this thesis could prove informative in elucidating the mechanism of induction of operational tolerance achieved by different immunosuppressive therapies. Although there are clearly a number of hurdles remaining to be passed and lessons to be learned, we demonstrated the ability of our T-cell monitoring methods to determine the fate of repeated islet allografts transplanted into T1D patients that express repeated mismatches. This is discussed in Chapter 5. Absence of responses to repeated mismatches to the first graft were detected and associated with sustained graft function, and with induction of tolerance towards

subsequent grafts. When T-cell responses towards these mismatches appeared following new mismatches in subsequent grafts, they were associated with loss of graft function. These case reports further support the view that subsequent islet implantations can reduce allo-reactivity for repeated HLA mismatches in some cases, or jeopardizing initial graft survival by repeated implantations in other cases. This demonstrates the usefulness of monitoring T-cell reactivity against islet allografts to correlate immune function with graft survival and to identify conditions for preservation of beta-cell function.

Our T-cell assays are able to discriminate between patients and controls in their quantity and quality of their auto-immune response. This provides us with useful tools to determine immunological changes during disease development and immunotherapeutic intervention therapies. Improved understanding of the immune processes active in the pathogenesis of T1D is valuable to develop better and more specific immunotherapeutic strategies. Furthermore, immune-modulation in recent-onset T1D might be the ultimate therapeutic strategy. For this particular patient population, consisting of generally young and otherwise healthy individuals, safe and selective immunosuppressive agents are even more a prerequisite before clinical application is justifiable.

However, our *ex vivo* bioassays have not yet assisted in identifying features reflecting tolerance or active immune suppression versus ignorance. Further studies in larger numbers of subjects are warranted to identify immune correlates of lasting tolerance.

Intervention strategies in T1D

Therapeutic strategies in T1D patients include antigen-specific immunotherapy and non-antigen-specific immunotherapies. Early, non-antigen-specific immunotherapy with azathioprine, cyclosporine or antithymocyte globulins with prednisone to halt the autoimmune process in recent-onset T1D patients were promising in preserving c-peptide preservation, but temporarily effective due to their intolerable side-effect profiles. Recurrence or persistence of the autoimmune process was encountered after withdrawal of the immunosuppressive agents (9, 12-14). The interest in antigen-specific immunotherapy increased due to the lack of mild non-antigen-specific immunosuppressive agents.

Nicotinamide, Bacilli Calmette-Guerin (BCG), insulin, GAD65 and heatshock peptide 60 (hsp60) have been proposed as antigen-specific immunotherapy. Nicotinamide and BCG have failed to demonstrate any benefit (15,16). A subgroup of patients with high insulin autoantibody titers receiving oral insulin in the Diabetes Prevention trial – Type1 showed a potential delay in T1D onset (17). A prospective trial to determine the effect of oral insulin administration in high-risk individuals is underway (TrialNet) (9). The safety of subcutaneous GAD65 therapy was recently studied in Latent Autoimmune Diabetes of Adulthood. TrialNet is currently considering a study to determine the efficacy of GAD65

in recent-onset and at-risk relatives (www.diabetestrialnet.org) (9). Subcutaneous hsp60 administration has been shown to elicit some preservation of c-peptide in adults at 12-18 months. No effect was seen after treatment of children with T1D (18-20).

Currently there has been a revival in interest in non-antigen-specific immunotherapy. Development of new, sophisticated immunosuppressive agents with presumed milder side-effect profiles has caused this revival and may prove decisive to support their application in the context of young and otherwise healthy recent onset T1D patients. Rituximab (anti-CD20 Moab) down-regulates B-cell signaling to T-cells and is thus assumed to affect cytotoxic T-cells involved in the autoimmune process of T1D. Rituximab in T1D patients is now tested by TrialNet (9).

Future perspectives:

The ideal goal in the treatment of T1D patients is to cure T1D before devastating complications have occurred. The autoimmune process has to be dealt with early in the development of T1D. Immunomodulation would be an attractive therapeutic strategy, which demands specific immunotherapeutic agents without major side effects. In the meanwhile T1D can only be cured by beta-cell replacement therapy. Organ shortage and side-effects of currently used immunosuppressive agents are the most important issues in case of a more liberal use of beta-cell replacement in T1D. Pre-emptive beta-cell replacement is an attractive goal in this era of organ shortage. For this reason islet and whole organ pancreas transplantation alone (PTA) are of particular interest. Of both transplantation modalities PTA is the transplantation of choice for several reasons. The results of whole organ pancreas transplantation are superior to islet transplantation. For islet transplantation more than one pancreas donor is necessary to obtain an adequate amount of islet yield to transplant a single acceptor. Due to organ shortages and minor long term results islet transplantation is ethically not acceptable for this beta-cell replacement indication, except in the context of clinical trials.

For the short term results surgical aspects are important. In case of PTA the latest results by the IPTR demonstrate a slightly better pancreas survival with bladder drained exocrine duct management. Popularity of primary enteric drained exocrine duct management is rising. We demonstrated that primary bladder drainage followed by enteric conversion is a safe and effective procedure. Therefore, a two-step approach with primary bladder drainage followed by enteric conversion may be the best approach in PTA transplantation, as well as in a selected group of SPK transplants with increased risk on anastomotic leakage or breakdown of the enterostomy.

For the long term results of PTA mild immunosuppressive strategies are warranted. Steroid-free protocols are preferable in T1D patients. Also low dose calcineurin inhibitors are desirable to protect the native renal function and prevent necessity of future

kidney transplantation. Campath might be an attractive alternative from this point of view. Results of campath in pancreas transplantation are promising and subcutaneous administration is available (21, 22). Randomized clinical trials to compare campath with the mono- and polyclonal antibody therapeutics described in this thesis are of interest. Our immune assays might be useful in evaluating the reasons for success and/or differences in newer immunotherapeutic strategies.

Conclusion

Although the development of proper T-cell assays to detect auto-immunity in T1D has shown to be a difficult task. Both our auto- and alloreactive T-cell assays proved suitable to inform us about the disease activity, pathogenesis of T1D, and the optimal immunosuppressive therapy in transplantation settings. Moreover, with the use of these techniques we have shown that humanized monoclonal antibody therapy might be a novel candidate, because of a mild side-effect profile compared to the historical polyclonal antibody therapeutics, with comparable effects on the pathological immune reactions in pancreas transplantation. Our conclusions may be directive in developing novel non-antigen specific immune intervention strategies in T1D patients for application in preclinical or newly manifested T1D, as well as in the context of beta-cell replacement strategies.

We propose that our immunological methods are capable to define immunological targets for preventive and therapeutic strategies and the efficacy of new immunosuppressive drugs in T1D and pancreas/islet transplantation.

REFERENCES

1. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993;329: 977.
2. Gruessner AC, Sutherland DE. Pancreas transplant outcomes for United States (US) and non-US cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of June 2004. *Clin Transplant* 2005;19: 433.
3. Demartines N, Schiesser M, Clavien PA. An evidence-based analysis of simultaneous pancreas-kidney and pancreas transplantation alone. *Am J Transplant* 2005;5: 2688.
4. Huurman VA, Kalpoe JS, van de Linde P et al. Choice of antibody immunotherapy influences cytomegalovirus viremia in simultaneous pancreas-kidney transplant recipients. *Diabetes Care* 2006;29: 842.
5. Bisikirska B, Colgan J, Luban J, et al. TCR stimulation with modified anti-CD3 mAb expands CD8+ T-cell population and induces CD8+CD25+ Tregs. *J Clin Invest* 2005;115: 2904.
6. 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.
7. Herold KC, Gitelman SE, Masharani U et al. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1(Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005;54: 1763.
8. 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.
9. Haller MJ, Gottlieb PA, Schatz DA. Type 1 diabetes intervention trials 2007: where are we and where are we going? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2007;14: 283.
10. Eisenbarth GS. Update in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92: 2403.
11. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 2006;355: 1318.
12. Carel JC, Boitard C, Eisenbarth G, et al. Cyclosporine delays but does not prevent clinical onset in glucose intolerant pre-type 1 diabetic children. *J Autoimmun* 1996;9: 739.
13. Eisenbarth GS, Srikanta S, Jackson R et al. Anti-thymocyte globulin and prednisone immunotherapy of recent onset type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1985;2: 271.
14. Silverstein J, Maclaren N, Riley W, et al. Immunosuppression with azathioprine and prednisone in recent-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988;319: 599.
15. Gale EA, Bingley PJ, Emmett CL, et al. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT): a randomised controlled trial of intervention before the onset of type 1 diabetes. *Lancet* 2004;363: 925.
16. Huppmann M, Baumgarten A, Ziegler AG, et al. Neonatal Bacille Calmette-Guerin vaccination and type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2005;28: 1204.
17. Skyler JS, Krischer JP, Wolfsdorf J et al. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: The Diabetes Prevention Trial--Type 1. *Diabetes Care* 2005;28: 1068.
18. Elias D, Avron A, Tamir M, et al. DiaPep277 preserves endogenous insulin production by immunomodulation in type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1079: 340.
19. Lazar L, Ofan R, Weintrob N et al. Heat-shock protein peptide DiaPep277 treatment in children with newly diagnosed type 1 diabetes: a randomised, double-blind phase II study. *Diabetes Metab Res Rev* 2007;23: 286.

20. Raz I, Elias D, Avron A, et al. Beta-cell function in new-onset type 1 diabetes and immunomodulation with a heat-shock protein peptide (DiaPep277): a randomised, double-blind, phase II trial. *Lancet* 2001;358: 1749.
21. Kaufman DB, Leventhal JR, Galon LG, et al. Alemtuzumab induction and prednisone-free maintenance immunotherapy in simultaneous pancreas-kidney transplantation comparison with rabbit antithymocyte globulin induction - long-term results. *Am J Transplant* 2006; 6: 331.
22. Clatworthy MR, Sivaprakasam R, Butler AJ, et al. Subcutaneous administration of alemtuzumab in simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transpl* 2007; 84: 1563.

SUMMARY

Type 1 diabetes mellitus (T1D) results from an auto-immune mediated destruction of the pancreatic beta-cells in genetically predisposed individuals. Auto-reactive T-cells are considered to play the key role in the development of the disease. The devastating complications of hyperglycemia including nephropathy, neuropathy, retinopathy and cardiovascular disease can diminish both quality of life and life expectancy. Although exogenous insulin administration is the therapy of choice, it remains a symptomatic approach. Pancreas transplantation is currently the only therapy to cure patients from T1D. Transplantation of pancreatic islets provides an attractive and less invasive alternative to whole-organ pancreas transplantation. Control of allo- and auto-immunity is important for both pancreas and islet transplantations in order to succeed. Advantages of more physiological regulated blood glucose levels have to counterbalance the disadvantages of immunosuppressive therapy to justify transplantation for T1D patients. Diminishing side effects of immunosuppressive drugs by more selective agents might be decisive to support pancreas or islet transplantation or even the use of immunosuppressive agents in recent-onset T1D individuals. Lessons learned from immunosuppressive regimes in pancreas or islet transplantation programs might be directive in the development of immunotherapeutic strategies for recent-onset T1D patients. Currently, the existing evidence in the literature suggests the use of induction therapy and maintenance immunosuppression consisting of a calcineurin inhibitor, mycophenolate mofetil and steroids.

In chapter 2 we demonstrate a different mechanism of actions of humanized monoclonal antibodies against CD3 (ChAglyCD3) and CD25 (daclizumab) versus polyclonal xenoantibodies (ATG). Our study showed that ATG leads to depletion of auto-reactive CD4+T-cells by ADCC, CDC and apoptosis induction, while anti-CD3 and daclizumab (anti-CD25) inhibited T-cell autoreactivity in a non-depleting fashion leading to immune modulation.

In chapter 3, our experience with induction therapy with either ATG or daclizumab was reported. Single high dose ATG Fresenius or five gifts of daclizumab were well tolerated and equally effective in reducing the incidence of acute rejection episodes in simultaneous pancreas kidney transplant recipients. Up to three years, no clinical adverse sequelae of the immunoprophylaxis or evidence of recurrent autoimmunity were observed. This conclusion was corroborated by further studies on the specificity of ATG or daclizumab as induction therapy in pancreas recipients discussed in Chapter 4. These data imply that daclizumab is more specifically affecting diabetes related immune responses compared to ATG. Autoimmunity is affected effectively after daclizumab induction, while memory responses towards bacterial, viral and tumour antigens are better preserved. Our pancreas transplantation trial suggests a more specific targeting of diabetes and transplantation related immune responses by monoclonal antibody therapy with daclizumab.

Transplantation of pancreatic islets provides an attractive and less invasive alternative to whole-organ pancreas transplantation. We demonstrated the ability of our T-cell monitoring methods to determine the fate of repeated islet allografts transplanted into T1D patients that express repeated mismatches. This is discussed in Chapter 5. Absence of responses to repeated mismatches to the first graft were detected and associated with sustained graft function, and with induction of tolerance towards subsequent grafts. When T-cell responses towards these mismatches appeared following new mismatches in subsequent grafts, they were associated with loss of graft function. These case reports further support the view that subsequent islet implantations can reduce allo-reactivity for repeated HLA mismatches in some cases, or jeopardizing initial graft survival by repeated implantations in other cases. More research is required to improve clinical success of islet transplantation. For this reason whole-organ pancreas transplantation currently is the therapeutic option of choice to cure diabetes. Although long-term results of whole-organ pancreas transplantation are primarily dependent on the success of immunosuppressive treatment, the short-term success is considerably influenced by the post-operative morbidity. In most pancreas transplantation programs the enteric drainage procedure is the favoured exocrine duct management, because of its physiological nature and the avoidance of chronic urological complications as seen in bladder drained transplants. Facing a higher risk on anastomotic complications in enteric drained pancreas transplantations, primary bladder drainage may be the preferred option. In Chapter 6, we demonstrated that primary bladder drainage followed by enteric conversion is a safe and effective procedure. Therefore, a two-step approach with primary bladder drainage followed by enteric conversion may be the best approach in PAK and PTA transplantation, as well as in a selected group of SPK transplants with increased risk on anastomotic leakage or breakdown of the enterostomy.

CONCLUSION:

Although the development of proper T-cell assays to detect auto-immunity in T1D has shown to be a difficult task. Both our auto- and alloreactive T-cell assays proved suitable to inform on about the disease activity, pathogenesis of T1D, and the optimal immunosuppressive therapy in transplantation settings. Moreover, with the use of these techniques we have shown that humanized monoclonal antibody therapy might be a novel candidate, because of a mild side-effect profile compared to the historical polyclonal antibody therapeutics, with comparable effects on the pathological immune reactions in pancreas transplantation. Our conclusions may be directive in developing specific immune intervention strategies in T1D patients for application in preclinical or newly manifested T1D, as well as in the context of whole-organ pancreas or islet transplantation settings.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Diabetes Mellitus type 1 (DM I) is een zogenaamde autoimmuun ziekte. De beta-cellen in de eilandjes van Langerhans in de alvleesklier produceren insuline. Insuline is van belang bij de suiker (glucose) regulatie. In het geval van DM I worden de beta-cellen door het eigen immuunsysteem vernietigd (autoimmunititeit). Indien er te weinig beta-cellen over zijn raakt de glucose regulatie verstoord en ontstaan de klinische symptomen van DM I. De meest gebruikte therapie tot op heden is het toedienen van insuline. Hierbij is de kans op te lage glucose waarden ("hypo") groter naarmate men de regulatie strakker probeert te regelen dmv meerdere malen toedienen van insuline. Tevens zorgt de toediening van insuline niet voor een even goed gereguleerde glucose huishouding als de eigen beta-cellen. Een andere vorm van glucose regulatie kan men bewerkstelligen door het transplanteren van de alvleesklier. De regulatie is in dat geval conform de regulatie door de eigen, niet aangedane alvleesklier. Het transplanteren brengt echter ook nadelen met zich mee. Naast de chirurgische complicaties die kunnen optreden, is er ook het risico op afstoting (alloreactiviteit) van het getransplanteerde orgaan. Daarnaast is er tevens een mogelijkheid tot terugkeren van de vernietiging van de nieuw getransplanteerde beta-cellen in de donor alvleesklier door het eigen immuunsysteem (autoimmunititeit). Om afstoting (reactie van het immuunsysteem tegen een lichaamsvreemd orgaan) en het op nieuw optreden van DM I door de zgn. autoimmunititeit tegen te gaan dient men afweer onderdrukkende medicatie te gebruiken (immuunsuppressie). Deze immuunsuppressie medicatie heeft eveneens bijwerkingen. Bekende bijwerkingen van dergelijke medicatie zijn oa. een verhoogde kans op (ernstige) infecties en de ontwikkeling van kwaadaardige tumoren. Deze bijwerkingen komen oa. door de niet-specifieke werking van deze middelen. Naast het onderdrukken van de afweer tegen de beta-cellen (autoimmunititeit) en de nieuw getransplanteerde lichaamsvreemde alvleesklier (afstoting), hebben de afweer remmende medicijnen ook een remmend effect op afweer mechanismen tegen infecties en het voorkomen van de ontwikkeling van kwaadaardige tumorcellen. De winst van een goed gereguleerde glucose huishouding moet daarom afgewogen worden tegen de nadelen van benodigde afweer remmende medicatie behoefte. DM I patiënten waarbij de nieren zijn aangetast en waarbij nierdialyse dichterbij komt of reeds gestart dient te worden, hebben een verkorte levensverwachting. Om deze reden wegen de voordelen van gebruik van immuunsuppressie bij dergelijke patiënten op tegen de nadelen. Daarom wordt bij DM I indien mogelijk een nier transplantatie gecombineerd met een alvleesklier transplantatie. Naarmate de afweer medicatie specifiek werkt, worden de reeds genoemde bijwerkingen minder en wordt de drempel om een transplantatie uit te voeren uiteraard lager. De ontwikkeling van specifiekere afweer remmende medicijnen zou tevens de kans kunnen bieden om bij jonge en verder gezonde mensen de autoimmunititeit tegen de eigen beta-cellen een halt toe te roepen.

Hiermee zou dan de ontwikkeling en/of progressie van DM I beperkt kunnen worden. Dit zou een eventuele transplantatie kunnen uitstellen of zelfs doen voorkomen. Studies naar het effect en de mechanismen van verschillende afweer remmende medicijnen bij gecombineerde nier-alvleesklier transplantatie patiënten bieden de mogelijkheid om meer specifieke middelen te ontwikkelen, die wellicht in de toekomst gebruikt zouden kunnen worden bij patiënten waarbij de DM I ontstaat of nog maar kortdurend bestaat en waarbij nog geen complicaties door de DM I zijn opgetreden.

De huidige immuunsuppressieve behandeling bestaat uit verschillende dagelijkse te gebruiken afweer remmende middelen (onderhouds immuunsuppressie) gecombineerd met een zgn. inductie behandeling. De inductie behandeling is een behandeling met afweer remmende medicatie die alleen rondom de transplantatie wordt toegediend. Deze bestaat vanoudsher uit een therapie met polyclonale (gericht tegen meerdere moleculaire structuren op verschillende cellen) antistoffen. Polyclonale antistoffen worden verkregen door konijnen of paarden te injecteren met menselijke witte bloedcellen. De door het dier verwekte antistoffen tegen verschillende structuren op de menselijke witte bloedcellen worden gebruikt om transplantatie patiënten te behandelen. Deze polyclonale antistoffen zorgen voor vermindering van de afweer functie, waardoor de kans op afstoting afneemt. De kans op bijwerkingen door de verscheidenheid aan antistoffen en de dierlijke herkomst is echter groot. Om deze reden zijn de zgn. humane monoclonale antistoffen ontwikkeld. Deze antistoffen zijn gericht tegen een enkele structuur op de witte bloedcellen en zijn dusdanig gemodificeerd waardoor zij een menselijke antistof structuur hebben. Hierdoor zou de theoretische kans op ongewenste effecten minder zijn.

In hoofdstuk 2 worden de verschillende werkingsmechanismen van verschillende afweer medicijnen (polyclonale antistoffen zoals ATG en het gehumaniseerd monoclonale antistoffen daclizumab) vergeleken. Tevens werd een tweede gehumaniseerd monoclonale antistof getest, welke in studie verband gebruikt wordt bij DMI patiënten. Dit gehumaniseerde monoclonale antistof is gericht tegen het molecuul CD3, wat voorkomt op witte bloedcellen en een belangrijke rol speelt bij de activering van deze cellen. De niet gehumaniseerde polyclonale antistoffen blijken de geattaqueerde cellen te vernietigen (depletie genaamd). De gehumaniseerde monoclonale antistoffen vernietiging de witte bloedcellen niet, maar zorgen wel voor remming/regulatie van hun ongewenste reactiviteit .

In hoofdstuk 3 wordt een studie beschreven waarbij het effect van twee verschillende afweer medicijnen, gebruikt als inductie therapie, op de afstoting bij patiënten na een gecombineerde nier-alvleesklier transplantatie wordt vergeleken. Het middel ATG wordt reeds langer gebruikt, geeft een verminderde de kans op afstoting, maar heeft door zijn aspecifieke werking (polyclonaal van aard) veel bijwerkingen. Daclizumab is een nieuwer medicijn en heeft op theoretische gronden een specifiekere werking (gehumaniseerd en monoclaal). Daclizumab is gericht tegen het molecuul CD25, dat

voorkomt op geactiveerde witte bloedcellen. Het effect van daclizumab op de afstoting en de autoimmunitet blijkt vergelijkbaar met het oudere middel ATG. In hoofdstuk 4 wordt een studie beschreven waarin de meer specifieke werking van daclizumab in vergelijking met ATG wordt beschreven. Uit deze studie blijkt, dat in een test opstelling de reactie van witte bloedcellen tegen bacteriën, virussen en tumoren beter gespaard blijft na gebruik van daclizumab vergeleken met ATG. Dit lijkt de op theoretische gronden te verwachte specifiekere werking van daclizumab te ondersteunen.

De transplantatie van de alveesklier als geheel orgaan vergt een grote operatie. De implantatie van geïsoleerde insuline producerende alveeskliercellen (uit de zgn. eilandjes van Langerhans) lijkt een nuttig alternatief. Deze zogenaamde eilandjes transplantatie is een minder belastende ingreep. De uit een alveesklier geïsoleerde eilandjes van Langerhans worden geïnjecteerd in de poortader van de lever, waarna de eilandjes zich nestelen in de lever en de insuline productie van de eigen alveesklier overnemen. De opbrengst van een dergelijke isolatie uit een alveesklier is echter niet efficiënt, waardoor er meestal meerdere alveesklieren van verschillende donoren nodig zijn om 1 patiënt van voldoende eilandjes van Langerhans te voorzien. Dit betekent dat er vaak meerdere implantaties nodig zijn, waarbij elke implantatie tevens uit meerdere donor alveesklier isolaties bestaat. Elke implantatie zorgt derhalve voor een nieuwe activatie van het afweersysteem. Het afweersysteem reageert tegen structuren op cellen van een donor, het zogenaamde HLA (Human Leucocyte Antigen) systeem. Elke individu heeft een unieke HLA samenstelling. Wanneer donor weefsel wordt geïmplant, kan het afweer systeem reageren tegen die HLA structuren die niet op de eigen cellen voorkomen (HLA mismatch). Wanneer men meerdere eilandjes na elkaar transplanteert is er een kans op een herhaalde HLA mismatch bij iedere volgende transplantatie. In hoofdstuk 5 wordt het effect van dergelijke multipale eilandjes implantatie en de reactie op herhaalde HLA mismatches bestudeerd bij drie patiënten. Bij 1 patiënt bleek de reactie op herhaalde mismatches de nieuwe en eerder getransplanteerde eilandjes aan te tasten, waardoor de functie verloren ging. Bij de twee overige patiënten bleek de reactiviteit tegen de herhaalde HLA mismatches laag te zijn. Deze patiënten behielden de functie van de getransplanteerde eilandjes. In sommige gevallen blijkt er dus een verminderde reactiviteit van het immuunsysteem te zijn ontstaan tegen hernieuwde introductie van donor cellen met een herhaalde HLA mismatch. De precieze reden voor dit fenomeen is nog niet geheel duidelijk. Wellicht ontstaat er een geïnduceerde tolerantie tegen herhaalde HLA mismatches. Duidelijk is in ieder geval, dat het klinische effect van herhaalde transplantaties van eilandjes overeenkomt met de resultaten van onze immunologische testen. Om de daadwerkelijke reden van een toe- of afgenomen reactiviteit van het afweersysteem te achterhalen, zal verder onderzoek nodig zijn. Onze immunologische testen kunnen hier een belangrijke bijdrage bij leveren. Zoals uit bovenstaande blijkt, is er nog veel onderzoek nodig om deze vorm van transplantatie verbeteren. Om

deze reden is momenteel de transplantatie van de alvleesklier als geheel orgaan de meest toegepaste methode om aangetaste insuline producerende cellen bij een DMI patiënt te vervangen. De resultaten van gecombineerde nier-alvleesklier transplantatie op langere termijn worden met name bepaald door de effectiviteit van de gebruikte afweer remmende medicatie. De korte termijn resultaten daarentegen worden tevens bepaald door eventueel optredende chirurgische complicaties. In hoofdstuk 6 worden chirurgische aspecten van een gecombineerde nier-alvleesklier transplantatie besproken. De alvleesklier produceert naast insuline tevens verteringssappen. De productie van verteringssappen is bij patiënten met diabetes mellitus niet verstoord. Wanneer een alvleesklier transplantatie plaats vindt, transplanteert men naast de benodigde insuline producerende cellen, ook de "overbodige" verteringssap producerende cellen. Deze verteringssappen moeten afgevoerd worden. In de begin jaren van deze vorm van transplantaties werd de "overbodige" verteringssap productie via de blaas afgevoerd in de urine door de alvleesklier op de blaas aan te sluiten. Tegenwoordig wordt de alvleesklier vaker op de darm aangesloten (wat meer vergelijkbaar is met de natuurlijke aansluiting van de alvleesklier op de twaalfvingerige darm). Beide drainage procedures (blaas- en darm drainage) hebben hun eigen voor- en nadelen. De meest frequente complicaties na blaas drainage zijn van urologische aard (urineweg infecties, bloed bij de urine etc.), na darm drainage is het ontstaan van lekkage van de alvleesklier-darm aansluiting met als gevolg het ontstaan van transplantaat- en levensbedreigende infectie/abcessen de meest gevreesde korte termijn complicatie. In onze studie wordt duidelijk, dat het ivm urologische complicaties in tweede instantie omzetten van de alvleesklier-blaas aansluiting naar een alvleesklier-darm aansluiting met weinig complicaties gepaard gaat. In bepaalde gevallen waarbij ingeschat wordt, dat een alvleesklier-darm aansluiting te risicovol is gedurende de transplantatie procedure, kan men kiezen om de alvleesklier op de blaas aan te sluiten en later in tweede instantie deze aansluiting alsnog omzetten naar de meer biologische aansluiting op de darm.

Concluderend kunnen we stellen, dat onze immunologische testen om autoimmuniteit en alloreactiviteit te detecteren geschikt zijn gebleken om ons te informeren over de ziekte activiteit en de oorzaken van het slagen of falen van immuuntherapie en transplantatie bij DMI patiënten. Derhalve kunnen deze testen gebruikt worden om het effect van nieuw ontwikkelde mildere afweer remmende medicatie te bestuderen. Onze studies hebben aangetoond, dat nieuwe gehumaniseerde monoclonale antistof therapeutica milder zijn en vergelijkbare effectiviteit bezitten in vergelijking met oudere polyclonale (niet-gehumaniseerde) antistof therapeutica in alvleesklier-nier transplantatie patiënten. Deze gegevens zouden directief kunnen zijn voor de ontwikkeling van nieuwe immunologische therapeutische strategieën in zowel DMI patiënten, als in alvleesklier-nier en eilandjes transplantatie patiënten.