

L'ÉTUDE CLINIQUE DU MOIS

Essais de préservation des cellules B à la phase initiale du diabète de type 1 : résultats négatifs avec l'insuline retard, mais prometteurs avec un anticorps monoclonal anti-CD3

J.C. PHILIPS (1), A.J. SCHEEN (2) ET LE REGISTRE BELGE DU DIABÈTE (3)

RÉSUMÉ : Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune qui aboutit à un épuisement plus ou moins rapide du capital de cellules B. Des essais de préservation des cellules insulinosécrétoires peuvent être réalisés à un stade très précoce, moment où la maladie est encore silencieuse, chez des sujets à risque bien identifiés ou, plus tardivement, à la phase clinique inaugurale diagnostiquée par les signes d'appel classiques de l'hyperglycémie. L'étude multicentrique américaine "Diabetes Prevention Trial-Type 1" a montré que l'administration prophylactique de petites doses d'insuline retard, deux fois par jour par voie sous-cutanée, ne prévient pas l'apparition d'un diabète de type 1 et ne préserve pas l'insulinosécrétion résiduelle chez 169 sujets à très haut risque de développer la maladie, sélectionnés sur des critères génétiques, immunologiques et endocrino-métaboliques parmi de jeunes sujets apparentés de patients diabétiques de type 1, et ce, par comparaison à 170 sujets appariés, témoins non traités. Par contre, un essai pilote d'intervention à la phase inaugurale du diabète de type 1 a montré que l'administration d'un anticorps monoclonal humanisé anti-CD3 est capable de préserver l'insulinosécrétion résiduelle et d'améliorer la qualité du contrôle métabolique, avec des doses d'insuline moindres, durant la première année de suivi chez 9 des 12 patients traités. Outre une amélioration des connaissances concernant l'histoire naturelle du diabète de type 1, ces essais ouvrent de nouvelles perspectives pour des stratégies de prévention de cette maladie, actuellement testées dans le cadre du Registre Belge du Diabète.

PRESERVATION OF B-CELLS AT THE INITIAL PHASE OF TYPE 1 DIABETES : NEGATIVE RESULTS WITH ULTRALENTE INSULIN, BUT PROMISING RESULTS WITH AN ANTI-CD3 MONOCLONAL ANTIBODY

SUMMARY : Type 1 diabetes is an autoimmune disease leading to a progressive exhaustion of the insulin secretion and a destruction of the B-cells. Attempts of preservation of insulin-producing B-cells can be performed at an early, most often silent, stage of the disease in well-selected at high risk subjects or during the period immediately following the clinical diagnosis based upon classical signs of hyperglycaemia. In the "Diabetes Prevention Trial-Type 1", the prophylactic subcutaneous administration of low-dose ultralente insulin was not able to prevent the development of type 1 diabetes nor to preserve residual insulin secretion in young relatives at very high-risk of diabetes, selected upon genetic, immunological and metabolic criteria. In contrast, a pilot randomized trial shows that a treatment with a nonactivating humanized monoclonal antibody against CD3 mitigates the deterioration in insulin production and improves metabolic control, with lower dose of exogenous insulin, during the first year of type 1 diabetes mellitus in 9 out of 12 treated patients. Besides a better understanding of the natural history of the disease, these clinical trials open new perspectives for prevention of type 1 diabetes mellitus, currently assessed by the Belgian Diabetes Registry.

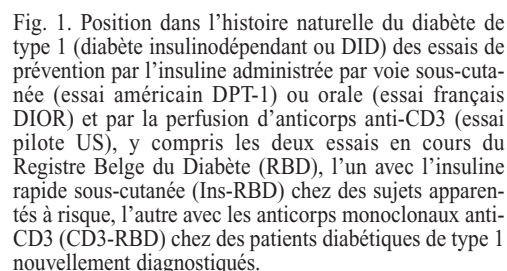
KEYWORDS : Immune therapy - Insulin - Monoclonal antibody - Prevention - T lymphocytes - Type 1 diabetes

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune qui aboutit à une destruction, jusqu'ici inexorable et le plus souvent totale, des cellules B des îlots de Langerhans du pancréas (1, 2). Le dépistage de sujets à risque peut être effectué sur la base de caractéristiques génétiques, immunologiques et endocrino-métaboliques (3, 4). Dans notre pays, il peut être réalisé dans le cadre du Registre Belge du Diabète, en particulier chez les sujets apparentés du premier degré de patients diabétiques de type 1 (5). Une fois la maladie immunologique déclenchée, on assiste à un tarissement progressif de la capacité insulinosécrétoire, généralement jusqu'à l'épuisement complet. Ainsi, les patients diabétiques de type 1 deviennent rapidement C-peptide négatifs, dépendent exclusivement de l'insuline exogène pour assurer un bon contrôle métabolique, sont exposés à une instabilité glycémique importante

et sont à haut risque de développer à terme des complications vasculaires, en particulier de microangiopathie (2, 6). Au vu de résultats prometteurs dans différents modèles animaux de diabète de type 1, notamment chez la souris NOD (7), la tentation est grande d'instaurer des traitements de prévention basés notamment sur l'immunomodulation, la tolérance immunitaire, la vaccination ou encore la protection de la cellule B contre les effets de l'agression auto-immune (8-12). Ces tentatives visent soit à prévenir l'apparition de la maladie clinique chez des sujets à risque (8, 9), soit à préserver le maigre capital de cellules B encore présent (moins de 20 %) chez des patients avec diabète de type 1 inaugural, ce qui contribue à améliorer fortement la stabilité ultérieure des profils glycémiques (10-12). Les résultats de deux études américaines viennent d'être publiés dans le numéro du 30 mai 2002 du New England Journal of Medicine : ceux, négatifs, d'un vaste essai de prévention avec l'insuline chez des sujets apparentés à risque de développer la maladie, la "Diabetes Prevention Trial - Type 1 Diabetes

(1) Assistant, (2) Chargé de Cours, Chef de Service, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies métaboliques, Département de Médecine, CHU Sart Tilman, Liège.

(3) Belgian Diabetes Registry, VUB, Bruxelles.



ailleurs, ces sujets ont été hospitalisés pendant 4 jours toutes les années pour bénéficier d'une perfusion intraveineuse d'insuline) et 170 sujets, appariés et utilisés comme témoins, ont été simplement surveillés. Tous les candidats ont été soumis à une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) de façon à tester leur tolérance au glucose à l'inclusion dans l'étude puis tous les 6 mois par la suite, pendant une durée médiane de suivi de 3,7 années. Le critère d'évaluation principal était l'apparition d'un diabète selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé (16).

a) Résultats du Diabetes Prevention Trial-Type 1

Le taux annuel de progression vers un diabète avéré a été de 15,1 % dans le groupe d'intervention et de 14,6 % dans le groupe d'observation (NS). L'incidence cumulée de diabète a été similaire dans les deux groupes, avec un risque relatif de 0,96 dans le groupe d'intervention par comparaison au groupe d'observation. Il est intéressant de noter que le risque de développer un diabète est environ le double chez les sujets qui présentent déjà une diminution de la tolérance au glucose lors de l'HGPO à l'inclusion par rapport à ceux qui ont une tolérance normale : incidence de 22 % par an *versus* 10 % par an, $p < 0,001$. L'analyse de la réserve insulinaire endogène par le dosage du peptide-C ne montre aucune différence significative lors du suivi entre les deux groupes ayant reçu ou non le traitement prophylactique par insuline. Il en est de même des besoins quotidiens en insuline à la fin de l'étude qui sont comparables chez les 69 sujets devenus diabétiques malgré le traitement préventif et chez les 70 sujets devenus diabétiques dans le groupe témoin. Enfin, le traitement par insuline a été bien toléré et aucune hypoglycémie sévère n'a été observée.

En conclusion, l'étude DPT-1 démontre que l'administration d'insuline ultralente en 2 injections sous-cutanées par jour à la dose de 0,25 U/kg/jour chez des sujets à haut risque de diabète de type 1 n'influence en rien l'histoire naturelle de la maladie, en particulier le tarissement de l'insulinosécrétion et l'évolution vers l'insulinodépendance.

b) Discussion des résultats du DPT-1

Les résultats du DPT-1 ne confirment donc pas les résultats prometteurs dans différents modèles animaux, en particulier chez la souris NOD (7,17) et ceux d'une étude pilote réalisée sur un petit nombre de sujets et publiée en 1993 (18). Les modèles animaux avaient montré que l'insuline pouvait prévenir l'apparition d'un diabète, soit par une action métabolique (mise au repos de la cellule B), soit par une action immunologique (induction d'une tolérance, notamment après administration orale d'insuline) (7, 17). L'étude pilote chez l'homme avait suggéré sur un nombre limité de patients que l'insuline administrée à titre prophylactique chez des sujets apparentés à haut risque de développer la maladie permettait de prévenir l'apparition du diabète de type 1 (18).

Une étude française (étude DIOR pour "Diabète Insuline Orale") vient par ailleurs de rapporter également des résultats négatifs avec l'insuline orale administrée chez des patients diabétiques de type 1 nouvellement diagnostiqués (19). Dans cet essai, et contrairement à ce qui avait été observé chez la souris NOD, l'insuline orale ne ralentit pas l'épuisement progressif de la sécrétion insulinaire, évaluée par le dosage du peptide-C. Ceci confirme les résultats négatifs d'une autre étude pilote italienne, la IMDIAB VII (20). Il est possible, cependant, que l'échec soit imputable à un traitement instauré à un stade beaucoup trop avancé de la maladie. Dès lors, les résultats du second versant de l'étude DPT-1 faisant aussi appel à l'administration orale d'insuline, mais chez des sujets non diabétiques sont attendus avec intérêt. Cette seconde étude, toujours en cours et donc non encore publiée, a recruté des sujets apparentés de patients diabétiques de type 1, mais à relativement faible risque de développer la maladie (risque évalué entre 25 et 50 % à 5 ans *versus* > 50 % dans la première étude DPT-1 présentée ci-dessus).

c) Etude en cours dans le cadre du Registre Belge du Diabète

Le tout est maintenant de savoir si cette approche préventive consistant en une adminis-

tration prophylactique d'insuline doit être définitivement abandonnée ou si ses modalités doivent être revues, par exemple dans le choix des sujets sélectionnés ou encore dans les caractéristiques de l'insulinothérapie administrée. Le Registre Belge du Diabète coordonne actuellement une étude en utilisant le dosage des auto-anticorps anti-tyrosine phosphatase (anti-IA2), particulièrement performant pour la sélection des sujets apparentés à risque (21, 22), et en administrant de l'insuline à action rapide plutôt que retard, sensée mieux contrôler les pics d'hyperglycémie post-prandiale (23). Ces deux différences, l'une d'ordre immunologique, l'autre d'ordre métabolique, sont peut-être importantes et pourraient influencer positivement les résultats finaux par rapport aux résultats négatifs de l'étude DPT-1 rapportés ci-dessus. L'étude belge analyse également, de façon aussi précise que possible, l'histoire naturelle de la perte de fonction de la cellule B et les marqueurs susceptibles de prédire l'évolution vers l'insulinodépendance dans cette population à risque.

ESSAI PILOTE AVEC UN ANTICORPS MONOCLONAL ANTI-CD3

a) Résultats de l'essai pilote américain

Cet essai analyse les effets d'un anticorps monoclonal anti-CD3 humanisé sur la diminution progressive de l'insulinosécrétion chez des patients diabétiques de type 1 récemment diagnostiqués (13). Dans les 6 semaines suivant le diagnostic clinique, 24 patients ont été randomisés soit vers un traitement de 14 jours par un anticorps monoclonal anti-CD3 - hOKT3 gamma 1 (Ala-Ala)-, soit vers le non-recours à ce traitement (témoins), et suivis durant une année. Dans le groupe traité, 9 patients sur 12 maintiennent ou augmentent leur production d'insuline à un an alors qu'il n'y en a que deux dans le groupe non traité ($p = 0,01$). Il en résulte un taux d'hémoglobine glyquée plus bas ($p = 0,008$) et des doses d'insuline plus faibles ($p = 0,03$) chez les sujets préalablement traités par anti-CD3 par comparaison aux sujets n'ayant pas reçu ce traitement. Ces réponses cliniques sont associées à un changement dans le rapport des cellules T CD4+/CD8+ 30 et 90 jours suivant le traitement. L'administration de l'anticorps monoclonal anti-CD3 n'a pas entraîné d'effets indésirables majeurs et les plaintes les plus fréquentes ont consisté en fièvre, rash et anémie.

En conclusion, cet essai pilote montre qu'un traitement par un anticorps monoclonal anti-CD3 limite la détérioration de la fonction insuli-

nosécrétoire et améliore le contrôle métabolique durant la première année suivant le diagnostic chez la majorité des patients diabétiques de type 1 traités, avec un profil de risque apparemment acceptable.

b) Discussion

Dans le diabète auto-immun de type 1, le mécanisme responsable de la destruction des cellules B des îlots de Langerhans du pancréas implique les lymphocytes T cytotoxiques ainsi que différentes molécules solubles produites par ces cellules, dont l'interféron- γ , le tumor necrosis factor α et certaines interleukines (2). Ces observations ont amené à la réalisation d'essais cliniques avec différents médicaments immunomodulateurs, comme la ciclosporine, l'azathioprine, la prednisone, (10) ... Ces médicaments agissent en interférant avec la production de cytokines et/ou la prolifération des lymphocytes T. Ils ont montré leur capacité à augmenter l'incidence et à prolonger la durée des rémissions lorsqu'ils étaient administrés peu après le diagnostic clinique de diabète de type 1. Hélas, ces résultats positifs n'ont été observés que de façon transitoire, même avec le maintien du traitement au long cours, et la récurrence était immédiate à l'arrêt de la thérapeutique. De plus, les patients traités étaient exposés à des effets indésirables non négligeables, ce qui a amené à l'interruption de ces essais et à la recherche de nouvelles stratégies immunomodulatrices plus spécifiques, et donc plus efficaces et moins toxiques (2).

Plusieurs équipes ont montré, notamment chez la souris NOD, que l'administration d'anticorps monoclonaux modifiés contre le complexe CD3 étaient capables de prévenir ou de "guérir" un diabète auto-immun analogue au diabète de type 1 humain (24, 25). Le complexe CD3, localisé à la surface des lymphocytes en association stable avec le récepteur Fc, joue un rôle central dans l'activation antigène-spécifique des lymphocytes T. L'anticorps monoclonal anti-CD3 utilisé contient la région de liaison de l'OKT3, mais une région Fc mutée, ce qui l'empêche de se lier au Fc récepteur des macrophages. Il en résulte une action plus ciblée que celle obtenue avec les immunomodulateurs classiques : ainsi, cet anticorps monoclonal bloque la production de l'interleukine 2 et de l'interféron γ , cytotoxiques, alors qu'il favorise la production d'autres interleukines (IL-5 et IL-10), plutôt cytoprotectrices. Ainsi, les mécanismes proposés pour expliquer les effets positifs d'un anticorps monoclonal anti-CD3 pourraient impliquer un effet direct sur les cellules T intervenant dans la pathogénie du diabète de type 1,

l'induction de populations de cellules régulatrices, ou encore les deux processus (26). Les anticorps anti-CD3, contrairement à ce qui est observé avec les traitements immunomodulateurs classiques, peuvent induire, même après un traitement de brève durée, une modification prolongée de la réponse immunitaire. Ceci est particulièrement important dans une maladie comme le diabète de type 1 puisqu'on pourrait espérer une protection prolongée après un traitement de courte durée. Enfin, l'anticorps humanisé modifié s'est révélé avoir une bien meilleure tolérance que l'anticorps murin OKT3 déjà largement utilisé dans le rejet de greffes, et seuls des phénomènes de fièvre, rash et anémie lors de l'administration aiguë ont été rapportés.

c) Etude en cours dans le cadre du Registre Belge du Diabète

Un essai clinique prospectif multicentrique sur un plus grand nombre de sujets utilisant des modalités de traitement quelque peu différentes de celles de l'essai américain (autre anticorps monoclonal anti-CD3 humanisé, durée de traitement de 6 jours au lieu de 14 jours, ...) est actuellement en cours sous l'égide du Registre Belge du Diabète. La fonction de la cellule B y sera particulièrement bien évaluée grâce à la technique du clamp hyperglycémique. Au vu des observations prometteuses de l'essai pilote susmentionné sur un nombre très limité de patients, les résultats de l'étude belge sont attendus avec grand intérêt et devraient apporter la preuve de la réelle efficacité et sécurité de cette nouvelle approche thérapeutique.

CONCLUSIONS

L'histoire naturelle du diabète de type 1 est de mieux en mieux connue. C'est le cas aussi bien durant la phase qui précède le diagnostic clinique (phase qui peut durer des années de façon asymptomatique après l'initiation du processus auto-immun) que pendant les premières années qui suivent l'apparition de l'hyperglycémie, période caractérisée par un épuisement progressif de la capacité insulinosécrétoire et par une disparition plus ou moins complète des cellules B des îlots de Langerhans. La tentation est forte d'essayer d'interférer sur ce processus auto-immun conduisant, de façon programmée et inexorable, à l'insulinodépendance totale avec toutes les conséquences que cet état implique. Plusieurs interventions potentiellement efficaces ont été identifiées, encore faut-il qu'elles soient actives de façon prolongée tout en se révélant non toxiques. L'induction d'une tolérance est sans aucun doute une voie particulière-

ment élégante, même si elle soulève encore beaucoup d'interrogations, au vu, par exemple, des résultats plutôt décevants obtenus jusqu'à présent avec l'insuline à titre prophylactique. De nouveaux espoirs sont fondés dans l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CD3 amenant à une immunomodulation, plus ciblée, plus efficace et plus sûre par comparaison à ce que peuvent réaliser les médicaments immuno-suppresseurs classiques. Les résultats de l'essai pilote américain doivent trouver leur confirmation dans le grand essai multicentrique actuellement en cours coordonné par le Registre Belge du Diabète.

RÉFÉRENCES

1. Geenen V.— Le diabète insulino-dépendant. *Rev Med Liège*, 1996, **51**, 684-694.
2. Atkinson MA, Eisenbarth GS.— Type 1 diabetes : new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*, 2001, **358**, 221-229.
3. Philips JC, Letiexhe MR, Paquot N, et al.— Comment j'explore ... Un patient avec diabète de type 1 inaugural ou à risque de développer la maladie. *Rev Med Liège*, 1997, **52**, 363-366.
4. Bingley PJ, Bonifacio E, Ziegler A-G, et al.— on behalf of the Immunology of Diabetes Society. - Proposed guidelines on screening for risk of type 1 diabetes (Editorial). *Diabetes Care*, 2001, **24**, 398.
5. Gorus FK and the Belgian Diabetes Registry. - Diabetes registries and early biological markers of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes/Metab Rev*, 1997, **13**, 247-274.
6. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group.— Effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial : a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*, 1998, **128**, 517-523.
7. Atkinson MA, Leiter EH.— The NOD mouse model of type 1 diabetes : as good as it gets ? *Nat Med*, 1999, **5**, 601-604.
8. Gardner SG, Gale EAM, Williams AJK, et al.— Progression to diabetes in relatives with islet autoantibodies : is it inevitable ? *Diabetes Care*, 1999, **22**, 2049-2054.
9. American Diabetes Association.— Prevention of type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2000, **23** (Suppl 1), S108.
10. Naik RG, Palmer JP.— Preservation of beta-cell function in type 1 diabetes. *Diabetes Rev*, 1999, **7**, 154-182.
11. Gale EAM.— Can we change the course of beta-cell destruction in type 1 diabetes ? (Editorial). *N Engl J Med*, 2002, **346**, 1740-1742.
12. Kolb H, Gale EAM.— Does partial preservation of residual B-cell function justify immune intervention in recent onset type 1 diabetes ? *Diabetologia*, 2001, **44**, 1349-1353.
13. Diabetes Prevention Trial - Type 1 Diabetes Study Group.— Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 2002, **346**, 1685-1691.
14. 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**, 1692-1698.
15. Scheen AJ, Philips J-C.— Insulinothérapie pour prévenir le diabète de type 1 chez des sujets apparentés à haut risque : résultats négatifs du "Diabetes Prevention Trial-Type 1". *Rev Med Liège*, 2001, **56**, 536-538.
16. Luyckx FL, Scheen AJ.— Comment j'explore ... Les anomalies du métabolisme glucidique, de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline avec une hyperglycémie provoquée par voie orale. *Rev Med Liège*, 2001, **55**, 881-885.
17. Atkinson MA, Maclaren NK, Luchetta R.— Insulinitis and diabetes in NOD mice reduced by prophylactic insulin therapy. *Diabetes*, 1990, **39**, 933-937.
18. Keller RJ, Eisenbarth GS, Jackson RA.— Insulin prophylaxis in individuals at high risk of type 1 diabetes. *Lancet*, 1993, **341**, 927-928.
19. Chaillous L, Lefèvre H, Thivolet Ch, et al.— Oral insulin administration and residual B-cell function in recent-onset type 1 diabetes : a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*, 2000, **356**, 545-549.
20. Pozzilli P, Pitocco D, Visalli N, et al.— No effect of oral insulin on residual beta-cell function in recent-onset Type 1 diabetes (the IMDIAB VII). *Diabetologia*, 2000, **43**, 1000-1004.
21. Gorus F, Goubert P, Semakula C, and the Belgian Diabetes Registry.— IA-2-autoantibodies complement GAD65-autoantibodies in new-onset IDDM patients and help predict impending diabetes in their siblings. *Diabetologia*, 1997, **40**, 95-99.
22. Luyckx F, Delcour S, Philips JC, Scheen AJ.— Le dosage des auto-anticorps anti-GAD et anti-IA2 : une aide au diagnostic précoce du diabète de type 1. *Rev Med Liège*, 2000, **55**, 169-175.
23. Scheen AJ, Letiexhe MR, Geronooz I, et al.— L'hyperglycémie post-prandiale. II. Approches thérapeutiques médicamenteuses. *Rev Med Liège*, 2002, **57**, 196-201.
24. Chatenoud L, Thervet E, Primo J, Bach JF.— Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**, 123-127.
25. Herold KC, Bluestone JA, Montag AG, et al.— Prevention of autoimmune diabetes with nonactivating anti-CD3 monoclonal antibody. *Diabetes*, 1992, **41**, 385-391.
26. Chatenoud L.— Restoration of self-tolerance is a feasible approach to control ongoing beta-cell specific autoreactivity : its relevance for treatment in established diabetes and islet transplantation. *Diabetologia*, 2001, **44**, 521-536.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr A. Scheen, Département de Médecine, CHU Sart Tilman, 4000 Liège 1.