

# Антигеннеспецифическая иммунотерапия при сахарном диабете 1 типа

Ю.В. Силко, Е.В. Пекарева, Т.В. Никонова

Адрес для переписки: Юлия Викторовна Силко, alekseevauv@bk.ru

*В связи с признанием ведущей роли аутоиммунной составляющей в генезе сахарного диабета 1 типа одним из наиболее перспективных направлений в профилактике и лечении заболевания на сегодняшний день считается иммунотерапия. В обзоре приведены результаты международных клинических исследований, посвященных антигеннеспецифической иммунотерапии.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1 типа, иммунотерапия, моноклональные антитела, анти-CD3, IL-1RA, Анакинра

**В** настоящее время мероприятия по профилактике сахарного диабета (СД) можно условно подразделить на антигенспецифические и антигеннеспецифические. Антигенспецифическая терапия направлена на создание толерантности к собственным антигенам. Антигеннеспецифическая связана с неспецифической иммуносупрессией. Существует два вида антигеннеспецифической иммунотерапии: рекомбинантными моноклональными антителами к CD3 (анти-CD3 мАТ) и рекомбинантным рецепторным антагонистом интерлейкина 1 (IL-1RA).

## Моноклональные антитела к CD3

Механизм действия анти-CD3 мАТ сводится к подавлению пролиферации и дифференцировки Т-клеток. Т-лимфоциты распознают антиген с помощью Т-клеточного рецептора (T cell receptor – TCR) [1]. TCR связан с молекулой кластера дифференцировки CD3; при этом образуется комплекс CD3/TCR. Непосредственно после взаимодействия комплекса CD3/TCR с антигенпредставляющими клетками происходит цепь событий, приводящих к выбросу цито-

кинов, необходимых для пролиферации Т-клеток.

Изначально препараты анти-CD3 мАТ применялись для профилактики отторжения при пересадке почек. Один из них – муромонаб-CD3 (Ортоклон, ОКТ-3) был зарегистрирован в США в 1986 г. для лечения пациентов с отторжением печеночного и почечного аллотрансплантатов.

Позже действие анти-CD3 мАТ стали изучать на модели СД 1 типа. Однако клиническое применение животных анти-CD3 мАТ, в частности муромонаба-CD3, было ограничено в связи с развитием серьезных побочных реакций (анафилаксия, нефропатия, тахикардия, повышение артериального давления, тошнота, рвота) [2].

В 1990-х гг. предприняты попытки уменьшить побочные эффекты путем создания человеческих анти-CD3 мАТ и использования мутаций в структуре Fc-фрагмента. Клинические исследования продемонстрировали снижение частоты побочных реакций [3, 4]. Обнадеживающие результаты доклинических исследований способствовали инициации клинических исследований.

В фазах I–II рандомизированного контролируемого открытого исследования изучалась безопасность и клиническая эффективность применения hОКТ3γ1 (Ala-Ala) в отношении прогрессирования СД 1 типа. В него были включены 42 пациента в возрасте от 7,5 до 30 лет с длительностью заболевания до шести недель. Пациенты основной группы в первые шесть недель после постановки диагноза получили 12- или 14-дневный курс терапии. После лечения улучшились показатели стимулированного смешанной пищей С-пептида, которые сохранялись в течение одного года ( $97 \pm 9,6\%$  против  $53 \pm 7,6\%$  соответственно,  $p < 0,01$ ). Лучшие показатели ответа С-пептида в ходе стимуляции отмечены и через два года после лечения ( $p < 0,02$ ). При этом на протяжении наблюдения в основной группе наблюдались более низкие значения гликированного гемоглобина (HbA1c) ( $p = 0,004$ ). Потребность в экзогенном инсулине с 6-го по 24-й месяц исследования также была значительно меньше. Побочные эффекты были мягкими (сыпь, лихорадка), за исключением одного случая, когда развилась тромбоцитопения (препарат был отменен) [5]. Другие клинические исследования фазы II Теплизумаба также показали более высокие показатели ответа С-пептида в ходе стимуляционных тестов и снижение потребности в экзогенном инсулине в группах лечения [6]. В фазе II клинического исследования другого препарата анти-CD3 мАТ – Отеликсизумаба (ChAglyCD3) приняли участие

80 пациентов в возрасте 12–39 лет с недавно диагностированным СД 1 типа, получавших лечение инсулином не более четырех недель. Пациенты были рандомизированы на две группы: первая получала по 8 мг ChAglyCD3 в течение шести дней, вторая – плацебо. В первой группе отмечены более высокие уровни базального С-пептида по сравнению со второй группой даже спустя 18 месяцев. Это привело к снижению потребности в экзогенном инсулине во время исследования – 12% по сравнению с исходным значением. Во второй группе наблюдалось повышение потребности в инсулине. Кроме того, авторы сделали вывод: лучший эффект был у пациентов с изначально более высоким уровнем С-пептида.

Необходимо отметить, что у ряда пациентов зафиксированы переходящие нежелательные явления, не потребовавшие прекращения лечения: головная боль, артралгии, миалгии, высыпания, проявления, подобные мононуклеозу [7].

Исследование по изучению Отеликсизумаба было расширено. Данные, накопленные за четыре года, продемонстрировали замедление повышения потребности в экзогенном инсулине (+0,09 Ед/кг/сут в группе Отеликсизумаба против +0,32 Ед/кг/сут в группе плацебо). В подгруппе Отеликсизумаба с исходно более высокой остаточной функцией бета-клеток за период наблюдения ни у одного из 11 пациентов не отмечено снижение уровня С-пептида до нуля, в то время как в соответствующей подгруппе плацебо у четырех пациентов из девяти такой уровень наблюдался. В подгруппе пациентов в возрасте < 27 лет терапия Отеликсизумабом способствовала сохранению функции бета-клеток в течение 36 месяцев, что сопровождалось снижением уровня HbA1c и вариабельности гликемии [8].

Фаза III клинических испытаний Теплизумаба проводилась в исследовании Protege. Изучалось воздействие повторного приема препарата (три режима дозиро-

вания) исходно и через шесть месяцев. В течение второго года исследования значимой разницы в уровне HbA1c между группой плацебо и группами лечения не было. В группе 14-дневной полной дозы препарата отмечено уменьшение снижения площади под кривой (ППК) для С-пептида по сравнению с плацебо ( $p = 0,027$ ). К первому году исследования 11 из 207 пациентов этой группы не принимали инсулин (в отличие от пациентов группы плацебо – 0/98,  $p = 0,02$ ), ко второму году таких пациентов было трое ( $p > 0,05$ ) [9].

### Рекомбинантный рецепторный антагонист интерлейкина 1

IL-1RA относится к семейству белков IL-1. Кроме него в семейство также входят IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . IL-1 – цитокин с широким диапазоном биологических и физиологических эффектов. Он относится к группе провоспалительных цитокинов, способных стимулировать Т- и В-лимфоциты, усиливать клеточную пролиферацию, инициировать или супрессировать экспрессию определенных генов. В качестве медиатора воспаления способен опосредовать развитие острофазного ответа [10]. Биологические эффекты IL-1 $\beta$  реализуются после связывания со специфическим мембранным рецептором IL-1RI. IL-1RA также может связываться с этим рецептором, блокируя эффекты IL-1. Равновесие между продукцией и ингибированием синтеза белков семейства IL-1 играет важную роль в развитии и протекании воспалительного процесса.

Рекомбинантный IL-1RA является негликозилированным аналогом природного белка, отличающимся от нативной формы одной аминокислотной последовательностью в N-терминальной части. Он получил международное непатентованное название «Анакинра». На его основе компания Amgen (Калифорния, США) производит препарат Кинерет. В Государственном научно-исследовательском институте особо чистых биопрепаратов

разработан его аналог – препарат Ралейкин.

В ноябре 2001 г. Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration – FDA) Анакинра была одобрена для лечения ревматоидного артрита [11].

С этого момента Анакинра применялась у более чем 100 тыс. пациентов с ревматоидным артритом, переносимость препарата была хорошей [12].

В настоящее время проводятся исследования по определению клинической эффективности и безопасности Анакинры при СД 1 и 2 типа. Активно изучается роль IL-1 при СД.

IL-1, связываясь со своим рецептором, запускает каскад реакций, приводящих к апоптозу. Он независимо активировать два сигнальных пути: ядерный фактор NF- $\kappa$ B и МАПК (митоген-активируемые протеинкиназы). В большинстве клеток активация этих двух путей характеризует антиапоптогенную активность. В отличие от других клеток бета-клетки более чувствительны к воздействию IL-1, вероятно, по причине большего количества рецепторов к IL-1, а также качественного и количественного состава сигнальных путей. Активируются механизмы, приводящие к стрессу эндоплазматического ретикулума, а также к митохондриальному стрессу. Кроме того, апоптоз запускается и через систему рецепторов смерти Fas. IL-1 $\beta$  повышает экспансию и выживание наивных Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти, способствует дифференцировке Т-лимфоцитов к патологическим фенотипам, включая Th<sub>1</sub> и Th<sub>17</sub> [12–14].

Между тем высокий уровень глюкозы сам по себе обладает токсичным действием в отношении бета-клеток. В ряде исследований продемонстрировано, что в условиях *in vitro* под действием высоких концентраций глюкозы запускается каскад реакций, приводящих к образованию IL-1 $\beta$  и его секреции бета-клетками [15, 16].



Учитывая вышеизложенное, в качестве способа защиты бета-клеток при СД 1 и 2 типа можно рассматривать терапию IL-1RA, направленную на блокирование IL-1 $\beta$ .

Анакинра и сахарный диабет 2 типа  
Эффективность терапии IL-1RA у пациентов с СД 2 типа оценивалась на двух этапах [17, 18]. 52-недельное плацебоконтролируемое двойное слепое исследование проводилось в Швейцарии и Дании с января 2004 г. по март 2006 г. Первая часть исследования продолжалась 13 недель. 70 пациентов с СД 2 типа были рандомизированы на две группы: 34 из них получали Анакинру (Кинерет™, Amgen, Калифорния, США) в дозе 100 мг п/к один раз в день, 35 – плацебо. Один пациент был исключен из исследования до начала терапии. Все пациенты группы Анакинры завершили первую часть исследования в отличие от пациентов группы плацебо (двое были исключены). К 13-й неделе в группе Анакинры по сравнению с группой плацебо уровень HbA1c оказался ниже ( $p = 0,03$ ), было отмечено повышение секреции С-пептида ( $p = 0,05$ ), а также снижение соотношения проинсулина к инсулину (ПИ/И) ( $p = 0,005$ ), уровня IL-6 ( $p < 0,001$ ) и С-реактивного белка ( $p = 0,002$ ). Побочных эффектов, связанных с приемом препарата, не отмечалось [18].

Основной целью второй части исследования стало наблюдение за пациентами, завершившими первую часть. Она продолжалась 39 недель после прекращения приема препарата. Количество пациентов – 67. Через 39 недель в группе Анакинры по сравнению с группой плацебо соотношение ПИ/И оставалось ниже ( $p = 0,011$ ); уменьшение воспалительных маркеров (С-реактивного белка и IL-6) сохранялось до конца исследования ( $p = 0,014$  и  $p = 0,036$  соответственно).

При анализе подгрупп было выявлено, что у 21 (62%) пациента из группы, получавшей Анакин-

ру, к концу первой части исследования снизился уровень HbA1c (ответившие на лечение). В группе ответивших на лечение также продемонстрировано улучшение функции бета-клеток, оцениваемое посредством измерения ПИ/И ( $p = 0,041$ ) и ППК для С-пептида при проведении стимуляционных тестов (оральный глюкозотолерантный тест ( $p = 0,006$ ), в/в тест ( $p = 0,048$ ) и комбинация тестов ( $p = 0,025$ )). Кроме того, спустя 39 недель в группе ответивших на лечение сохранялось индуцированное Анакинрой улучшение функции бета-клеток, в то время как в группах не ответивших на лечение отмечалось снижение их функции, за исключением ППК для С-пептида в ходе в/в стимуляционного теста, которая осталась неизменной ( $p = 0,793$ ) [17]. Интересно, что исходный уровень IL-1RA в сыворотке крови был ниже у ответивших на лечение ( $p = 0,009$ ). При этом он оставался неизменным до конца исследования.

Предполагают, что недостаточный уровень IL-1RA обусловлен генетически. Гены семейства IL-1 локализованы на 2-й хромосоме. Полиморфизм гена IL-1RN, кодирующего IL-1RA, ассоциирован с его сывороточным уровнем [19, 20]. Повышенный уровень циркулирующего IL-1RA связан с носительством полиморфизма IL-1RN\*2 VNTR (variable numbers of tandem repeat – варьирующие по числу тандемные повторы) во 2-м интроне.

В исследовании была установлена корреляционная зависимость между наличием 2-й аллели и исходным сывороточным уровнем IL-1RA ( $r^2 = 0,18$ ,  $p = 0,021$ ). Однако различий по частоте встречаемости 2-й аллели между группами ответивших и не ответивших на лечение не было ( $p = 1,0$ ).

Частота T- и C-аллелей SNP (single nucleotide polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм) rs4251961, наблюдаемая в этом исследовании, не отличалась от частоты в популяции без СД 2 типа. Это, по мнению авторов, свиде-

тельствует о том, что С-аллель не влияет на развитие СД 2 типа, однако является фармакогенетическим биомаркером гликемического ответа на лечение Анакинрой [17].

Анакинра и сахарный диабет 1 типа  
Применение антагониста IL-1 изучалось и у больных СД 1 типа. Исследование началось в 2008 г., завершилось в 2009-м. В нем приняли участие пациенты с впервые выявленным СД в возрасте от 6 до 18 лет, длительность заболевания – не более одной недели. Помимо группы лечения было две группы плацебо. В течение 28 дней дети из группы лечения с массой тела более 25 кг получали 100 мг Анакинры п/к, с массой тела менее 25 кг – 50 мг. Изначально в группу лечения было отобрано 15 человек, пять из них в дальнейшем были исключены. Существенных различий в уровне гликемии, базального и стимулированного С-пептида в ходе ММТТ (mixed meal tolerance test – тест на толерантность к смешанной пище) между группами не было. Однако через один и четыре месяца в группе Анакинры потребность в инсулине была ниже и были меньше его суточные дозы. Через семь месяцев дозы инсулина в группах существенно не различались [21].

Исследование AIDA (рандомизированное плацебоконтролируемое двойное слепое исследование фазы IIa) оценивало безопасность и потенциальную эффективность терапии анти-IL-1 у пациентов с впервые выявленным СД 1 типа. Было рандомизировано 69 человек. Критерии включения: возраст от 18 до 35 лет, диагноз СД 1 типа с появлением первых симптомов в течение 12 недель до начала исследования, наличие положительных GAD65 антител и пик С-пептида после ММТТ по крайней мере 0,2 нмоль/л. На протяжении девяти месяцев 25 человек получали Анакинру [14] в дозе 100 мг п/к один раз в день, 26 человек – плацебо. Прием Анакинры не повлиял на повыше-



# Эндокринология Северо-Запада России – 2015



**УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ,  
предлагаем вам принять участие в работе конгресса!**

## Организаторы

РОО «Профессиональная медицинская ассоциация эндокринологов Санкт-Петербурга»

Комитет по здравоохранению правительства Санкт-Петербурга

Комитет по здравоохранению правительства Ленинградской области

**Дата проведения** – 18–20 июня 2015 года

**Место проведения** – гостиница ParkInn by Radisson Пулковская, площадь Победы, д. 1 (ст. м. «Московская»)

## Планируется обсуждение следующих вопросов:

1. Сахарный диабет и его осложнения.
2. Заболевания щитовидной и околощитовидных желез.
3. Заболевания гипоталамо-гипофизарной области.
4. Ожирение.
5. Остеопороз.
6. Заболевания надпочечников.
7. Заболевания половых желез.
8. Патология эндокринных желез при соматических заболеваниях, воздействии профессиональных факторов.
9. Хирургические аспекты эндокринных заболеваний.
10. Организация эндокринологической помощи населению.

К участию в конгрессе приглашаются эндокринологи, врачи общей практики, терапевты, кардиологи, хирурги и др.

В рамках конгресса состоится выставка современных образцов медицинского оборудования и лекарственных препаратов.

## Форма участия:

1. Устное сообщение.  
Продолжительность сообщения до 15 минут. Уведомление о включении устного доклада в работу конференций оргкомитет вышлет Вам в период с 10 мая по 20 мая 2013 года.
2. Публикация тезисов (ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ БЕСПЛАТНО).  
Тезисы принимаются только в электронном виде в текстовом редакторе Word (версия Word 97 и выше). Объем не должен превышать одной страницы текста (формат А4). Межстрочный интервал – одинарный, шрифт Times New Roman, размер 12 кегль. Язык тезисов – русский. Рекомендуемая структура тезисов: цель исследования, материалы и методы, результаты, выводы.

## Порядок оформления тезисов

На первой строке помещается название тезисов заглавными буквами, на второй строке – прописными буквами инициалы и фамилии авторов, ниже – организация, город. Тезисы необходимо отправить по электронной почте: [it-med@inbox.ru](mailto:it-med@inbox.ru) и/или [info@baltika21.ru](mailto:info@baltika21.ru) вложенным файлом с пометкой «Тезисы для „Эндокринология Северо-Запада России – 2015“». Вместе с тезисами должна быть предоставлена информация об одном из авторов, с которым оргкомитет может поддерживать контакт. Тезисы будут опубликованы в специальном сборнике.

**Срок подачи тезисов до 17 апреля 2015 г.**

## Условия участия в конференции

Регистрационный взнос составляет **1700 рублей** (НДС не облагается).

**Регистрационная форма на сайте [www.baltika21.ru](http://www.baltika21.ru)**

Взнос дает право на получение материалов конгресса, одного сборника тезисов, фирменной сумки, именного бейджа, сертификата участника, питания во время работы конгресса, компакт-диска с фотографиями работы конгресса. Получение вышеуказанных материалов конгресса для членов Ассоциации эндокринологов Санкт-Петербурга не требует оплаты регистрационного взноса

Технический комитет ООО «Ком-Форум», тел. +7 (812) 310-11-97



ние ответа С-пептида или пика С-пептида в ходе ММТТ, значений HbA1c, тощаковой глюкозы и ППК для глюкозы, IL-6 и С-реактивного белка. Частота

и тяжесть побочных эффектов были выше в группе Анакинры ( $p = 0,018$ ), в большинстве случаев они обусловлены реакцией в месте введения препарата.

## Заключение

Исследования продолжают. Обнадёживает перспектива применения иммунотерапевтических средств в комбинации. 

## Литература

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет. М.: МИА, 2011.
2. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2000.
3. Chatenoud L., Baudrihaye M.F., Chkoff N. et al. Restriction of the human in vivo immune response against the mouse monoclonal antibody OKT3 // J. Immunol. 1986. Vol. 137. № 3. P. 830–838.
4. Alegre M.L., Peterson L.J., Xu D. et al. A non-activating 'humanized' anti-CD3 monoclonal antibody retains immunosuppressive properties in vivo // Transplantation. 1994. Vol. 57. № 11. P. 1537–1543.
5. Alegre M.L., Tso J.Y., Sattar H.A. et al. An anti-murine CD3 monoclonal antibody with a low affinity for Fc gamma receptors suppresses transplantation responses while minimizing acute toxicity and immunogenicity // J. Immunol. 1995. Vol. 155. № 3. P. 1544–1555.
6. Herold K.C., Gitelman S.E., 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. Vol. 54. № 6. P. 1763–1769.
7. Herold K.C., Gitelman S.E., Willi S.M. et al. Teplizumab treatment may improve C-peptide responses in participants with type 1 diabetes after the new-onset period: a randomised controlled trial // Diabetologia. 2013. Vol. 56. № 2. P. 391–400.
8. Miller S.A., St Onge E. Otelixizumab: a novel agent for the prevention of type 1 diabetes mellitus // Expert Opin. Biol. Ther. 2011. Vol. 11. № 11. P. 1525–1532.
9. Keymeulen B., Walter M., Mathieu C. et al. Four-year metabolic outcome of a randomised controlled CD3-antibody trial in recent-onset type 1 diabetic patients depends on their age and baseline residual beta cell mass // Diabetologia. 2010. Vol. 53. № 4. P. 614–623.
10. Hagopian W., Ferry R.J. Jr., Sherry N. et al. Teplizumab preserves C-peptide in recent-onset type 1 diabetes: two-year

results from the randomized, placebo-controlled Protégé trial // Diabetes. 2013. Vol. 62. № 11. P. 3901–3908.

11. Тоголян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 2000.
12. Pickersgill L.M., Mandrup-Poulsen T.R. The anti-interleukin-1 in type 1 diabetes action trial – background and rationale // Diabetes Metab. Res. Rev. 2009. Vol. 25. № 4. P. 321–324.
13. Mandrup-Poulsen T., Pickersgill L., Donath M.Y. Blockade of interleukin 1 in type 1 diabetes mellitus // Nat. Rev. Endocrinol. 2010. Vol. 6. № 3. P. 158–166.
14. Mandrup-Poulsen T., AIDA study group. Interleukin-1 antagonists for diabetes // Expert Opin. Investig. Drugs. 2013. Vol. 22. № 8. P. 965–979.
15. Moran A., Bundy B., Becker D.J. et al. Interleukin-1 antagonism in type 1 diabetes of recent onset: two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trials // Lancet. 2013. Vol. 381. № 9881. P. 1905–1915.
16. Maedler K., Sergeev P., Ris F. Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 110. № 6. P. 851–860.
17. Larsen C.M., Faulenbach M., Vaag A. et al. Sustained effects of interleukin-1 receptor antagonist treatment in type 2 diabetes // Diabetes Care. 2009. Vol. 32. № 9. P. 1663–1668.
18. Larsen C.M., Faulenbach M., Vaag A. et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus // N. Engl. J. Med. 2007. Vol. 356. № 15. P. 1517–1526.
19. Hurme M., Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes // Eur. J. Immunol. 1998. Vol. 28. № 8. P. 2598–2602.
20. Rafiq S., Stevens K., Hurst A.J. et al. Common genetic variation in the gene encoding interleukin-1-receptor antagonist (IL-1RA) is associated with altered circulating IL-1RA levels // Genes Immun. 2007. Vol. 8. № 4. P. 344–351.
21. Sumpter K.M., Adhikari S., Grishman E.K., White P.C. Preliminary studies related to anti-interleukin-1 $\beta$  therapy in children with newly diagnosed type 1 diabetes // Pediatr. Diabetes. 2011. Vol. 12. № 7. P. 656–667.

## Antigen-Nonspecific Immunotherapy in Type 1 Diabetes Mellitus

Yu.V. Silko, Ye.V. Pekareva, T.V. Nikonova

Endocrinology Research Centre

Contact person: Yuliya Viktorovna Silko, alekseevauv@bk.ru

Due to the fact that autoimmune attack is accepted as a lead cause in pathogenesis of type 1 diabetes mellitus, at present, immunotherapy is considered as one of the most promising approaches in prevention and treatment of the disease. Here we review the results of international clinical studies aimed at antigen-nonspecific immunotherapy type 1 diabetes mellitus.

**Key words:** type 1 diabetes mellitus, immunotherapy, monoclonal antibodies, anti-CD3, IL-1RA, Anakinra