

intill en gen som är involverad i barn-diabetespatogenesen.

År 1994 publicerades två arbeten där man använt denna metod med mikrosatelliter fördelade över hela genomet på ca 100 familjer [5, 19]. I den ena studien identifierades 19 regioner och i den andra 10 som kan ligga intill diabetes-riskgener. I Tabell I visas de regioner som visade starkast koppling. För fem av dessa regioner (IDDM1-4 och IDDM7) har det ursprungliga fyndet replikerats i en oberoende studie [5, 19-23].

I tabellen anges hur stor del av den familjära aggregationen som man uppskattar att var och en av dessa genetiska regioner står för. IDDM1, eller HLA-regionen, på kromosom 6 står för den största delen av den familjära aggregationen och verkar därför vara den region som har störst betydelse för risken att utveckla barndiabetes.

Det är sannolikt så att inte alla IDDM-regioner är involverade i varje fall av barndiabetes, utan det finns en

heterogenitet även i vilka gener som är involverade.

Syskonparstudier har alltså identifierat regioner där gener som är involverade i barndiabetespatogenesen finns. Dessa regioner är ännu så länge ganska stora (5–20 centimorgan, cM), vilket innebär att en sådan region kan innehålla 250–1 000 gener [24]. Det krävs därför ytterligare studier för att identifiera vilka gener som är involverade. För detta kommer stora familjematerial att behövas med flera hundra familjer, och det är dessutom en fördel om de är genetiskt homogena.

HLA-DR- och HLA-DQ-markörer

HLA-regionen, eller IDDM1, visade sig redan 1973 vara involverad i att bestämna risk för diabetes [25]. Först visade sig HLA klass I-alleler, HLA-B15 och -B8, vara positivt associerade med barndiabetes medan -B7 var negativt associerad [25-27]. Det har senare visat sig att associationen till klass I-allelerna kan förklaras av att dessa gener lig-

ger i närheten av HLA klass II-gener som visar en starkare association till barndiabetes [27-29]. Om man har samma varianter av HLA-generna som ett syskon som har barndiabetes är risken att få diabetes ca 15 procent. Om man bara delar en kromosom med syskonet är risken 5 procent och delar man ingen HLA-gen med sitt syskon är risken 1 procent.

HLA-generna har alltså stor betydelse för risken att utveckla barndiabetes. HLA-generna kodar för proteiner som är involverade i presentationen av peptider till T-celler i immunsystemet. Eftersom barndiabetes är en autoimmunsjukdom är det således lätt att se en roll för HLA-molekylerna i diabetespatogenesen.

Vi har studerat HLA-generna DRB1, DQA1 och DQB1 hos patienter utvalda från det svenska barndiabetesregistret samt ålders-, köns- och geografiskt parerade kontroller [30, 31]. De haplotyper som visade en signifikant association med barndiabetes visas i Tabell II.

Ingrid Kockum

Autoantigenreglering vid typ 1-diabetes

De strukturer i ö-cellerna, autoantigenen, som stimulerar till självdestruktion presenteras för immunsystemet tillsammans med HLA-molekyler, till vilka en stor del av den genetiska styrningen finns kopplad. Mängden antigen anses vara av stor betydelse för den hastighet med vilken den autoimmuna förstörelseprocessen fortgår.

Vi har i experimentella studier av betacellernas antigenreglering visat att mängden autoantigen är kopplad till cellernas funktion.

Kliniskt förefaller det också finnas ett samband mellan betacellens aktivitet och diabetesjukdomens initiala förlopp, som skulle kunna avspegla ett ökat antigenuttryck som fås vid betacellsbelastning. Flera av riskfaktorerna för typ 1-diabetes som man funnit i epidemiologiska studier är sådana till sin natur att de ökar insulinbehovet, och därigenom ökar de belastningen på betacellerna och antigenuttrycket.

Incidensen av autoimmun diabetes stiger också under graviditet [34], då belastningen på betacellerna ökar, samtidigt som övrig autoimmunitet mildras

till följd av graviditetens immunsupprimerande natur.

När insulinbehandlingen inleds vid diabetesdebuten, och betacellerna därigenom får vila, upplever många patienter en remissionsfas som karakteriseras av normaliserade glukosnivåer och därigenom troligen ett minskat antigenuttryck, som kan bromsa den autoimmuna attacken och ge betacellerna en nådetid. Det finns också tidigare studier [35, 36] som visar att behandling med insulin i höga doser i anslutning till diabetesdebuten är gynnsamt, och en tänkbar förklaring även här är betacellsvila och ett minskat antigenuttryck.

Antigen vid typ 1-diabetes

Vid sjukdomsdebuten har de flesta patienterna antikroppar mot strukturer i ö-cellerna. Frekvensen autoantikroppar är högre hos barn (ca 90 procent) än hos vuxna (ca 70 procent). I betacellerna finns flera olika strukturer, antigen, som dessa antikroppar är riktade emot och som sannolikt är av betydelse för uppkomsten av den autoimmuna reaktionen.

Det är ICA-antigenet [37], som nyligen visats vara ett tyrosinfosfat, där »islet cell antibody» (ICA) 512 [38] och IA-2 är beteckningar på olika peptidfragment av detta antigen. Det är också enzymet glutamatdekarboxylas (GAD) [39], som katalyserar reaktionen från

glutaminsyra till gammaaminosmörtsyra (GABA). GABA är den viktigaste inhiberande neurotransmittorn i CNS och finns framförallt i lillhjärneuron, men alltså även i betacellerna där funktionen är mer oklar.

Enzymet GAD förekommer i två isoformer, GAD65 och GAD67, där endast GAD65-formen förekommer i humana betaceller [40], och det är också den formen som fungerar som autoantigen. Även insulin [41] kan utgöra autoantigen vid typ 1-diabetes. Ett antal andra strukturer har också föreslagits som antigen i betacellerna men deras betydelse är ännu inte klarlagd (se Figur 3).

Extensiv betacellsvila

Mot bakgrund av djurexperimentella, epidemiologiska och kliniska observationer genomfördes det s k DIDD-projektet, diazoxid- och insulinbehandling vid debut av diabetes.

20 vuxna patienter, 16 män och 4 kvinnor, med nyupptäckt autoimmun diabetes utvaldes slumpmässigt till behandling med antingen diazoxid, som hämmar den egna insulinsekretionen, eller placebo som tillägg till sedvanlig 4-dos insulinbehandling, under tre månaders tid. Patienternas förmåga till endogen insulinproduktion, mätt som C-peptid basalt och glukagonstimulerat, följdes under tolv månader (Figur 4).

Autoantigenreglering in vivo och in vitro

Autoantigenreglering in vitro

Vi har studerat hur betacellens funktion påverkar mängden av autoantigenet GAD med immunprecipitationsteknik. Langerhanska öar odlades i tre dygn under olika betingelser som påverkar betacellens funktion.

I de inledande experimenten odlades råttöar i olika glukoskoncentrationer [42], sedan odlades råttöar med och utan glipizid som stimulerar insulinsekretionen [43], samt med och utan diazoxid som hämmar insulinsekretionen [43]. Efter odling märktes öarna radioaktivt, lyserades och immunkomplex bildades genom tillsats av serum från en patient med diabetes, innehållande antikroppar mot GAD, och det hela analyserades med elektrofores och fluorografi.

I Figur 3 ses resultatet från ett experiment med humana öar, som odlats i olika glukos-koncentrationer; 5, 11 och 28 mM [40]. Där syns tydligt att mängden av autoantigenet GAD beror av glukoskoncentrationen, medan HLA klass 1-molekylen inte påverkas. Även i de övriga experimenten fanns en klar koppling mellan betacellens funktion och mängden GAD. Vid hög betacellsaktivitet, såsom vid höga glukosnivåer och stimulerad insulinsekretion, ökar mängden GAD, och tvärtom: vid betacellsvila, såsom vid låga glukosnivåer och hämmad insulinsekretion, minskar GAD-mängden.

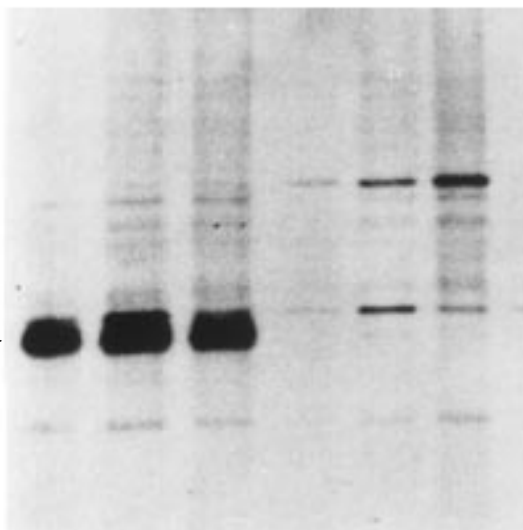
Antigenreglering in vivo

För att studera antigenuttrycket in vivo sonmatades råttor i tio dygn med ett sulfonylureapreparat, glipizid, som stimulerar insulinsekretionen, eller med en kaliumkanalöppnare, diazoxid, som i stället effektivt hämmar den egna insulinsekretionen [44].

Bukspottkörtlarna från dessa råttor användes sedan som substrat i en immunofluorescensfärgning, och sluttitrarna för ett antal serum från patienter med nypupptäckt diabetes bestämdes. Vi använde både serum med ett betacellsspecifikt färgningsmönster, där antigenet är GAD, och serum med ett »all islet»-mönster, där antikropparna istället är riktade mot ICA-antigenet. För båda dessa typer av serum var sluttitrarna högre om råttan matats med glipizid i stället för med vatten, och lägst var titrarna om råttans egen insulinproduktion hämmats med diazoxid. Kopplingen mellan antigenmängd och betacellens funktion gäller således både GAD och ICA-antigenet, in vitro och in vivo.

5 mM 11 mM 28 mM 5 mM 11 mM 28 mM

Klass 1-molekylen, tunga kedjan



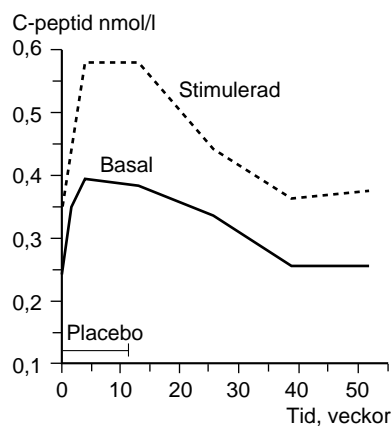
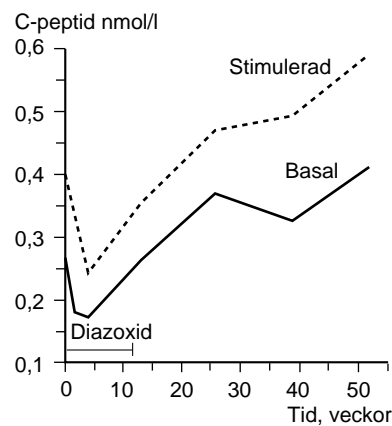
← GAD 65

Figur 3. Mängden av autoantigenet GAD (t h) ökar vid stigande glukos-koncentrationer, men mängden av HLA klass 1-molekylen (t v) påverkas inte.

De patienter som under tre månader i omedelbar anslutning till sin sjukdomsdebut behandlades med diazoxid uppvisade initialt en hämmad insulinsekretion, orsakad av detta läkemedel. Efter det att diazoxidbehandlingen avslutats återhämtade sig insulinproduktionen och förbättrades under uppföljningsperioden.

Patienterna som istället gavs placebo uppvisade ett mer klassiskt förlopp vad

gäller den egna insulinproduktionen, med hög endogen insulinproduktion under remissionsfasen, och sedan en allt sämre insulinproducerande förmåga. Glukoskontrollen, mätt som HbA1c, var lika i båda grupperna under uppföljningsåret.



Figur 4. Endogen insulinproduktion, mätt som C-peptid basalt och efter 0,5 mg glukagon intravenöst, hos de patienter som behandlades med diazoxid (överst) eller placebo (underst) som tillägg till sedvanlig insulinbehandling under tre månader i anslutning till sjukdomsdebuten. Skillnaden mellan grupperna är signifikant efter nio och tolv månaders uppföljning.

Sammanfattning

Mängden autoantigen är beroende av betacellens funktion och detta kan ha ett flertal kliniska implikationer, både vad gäller flera av riskfaktorerna och förekomst och induktion av remissionsfas. Det tycks också finnas en möjlighet att påverka den immunologiska sjukdomsprocessen, även så sent som vid klinisk sjukdomsdebut, och förhoppningen är att konceptet med betacellsvila på något sätt kan komma till användning även hos högriskindivider för att förhindra eller åtminstone fördröja ett kliniskt insjuknande.

Elisabeth Björk