

Nya och gamla genetiska markörer för barndiabetes

För att utveckla barndiabetes krävs genetisk predisposition, dvs att man bär på genetiska anlag för diabetes. Barndiabetes är en polygen sjukdom, vilket betyder att det finns många diabetesriskgener, eventuellt så många som tolv eller fler. HLA-regionen är en sådan riskgen. Det finns två HLA-haplotyper som ger ökad risk för barndiabetes och en som skyddar. Både HLA-DR- och HLA-DQ-gener påverkar risken för barndiabetes.

Risken att få barndiabetes är ungefär 15 gånger så hög om man har ett syskon med barndiabetes jämfört med befolkningen som helhet [16]. Denna ökade risk hos släktingar till patienter brukar kallas den familjära aggregationen [17]. Om den familjära aggregationen är hög, som för barndiabetes, talar det för att sjukdomen är åtminstone delvis genetiskt styrd. Men i familjen delar man inte bara gener utan även omgivningsfaktorer. Därför kommer en del av den familjära aggregationen att förklaras av delade gener och en del av delade omgivningsfaktorer.

Om barndiabetes styrdes till 100 procent av gener borde identiska tvil-

lingar alltid vara konkordanta eftersom de bortsett från immunoglobulin och T-cellsreceptorgener är genetiskt identiska. Konkordansen hos enägstvillingar är låg, runt 30 procent, vilket talar för att omgivningsfaktorer har stor betydelse [3, 4, 18]. Trots ett otal försök har det inte varit möjligt att hitta ett enkelt mendelskt nedärvningsmönster för barndiabetes. Man har därför dragit slutsatsen att barndiabetes är en polygen sjukdom, dvs en sjukdom där flera olika gener är involverade.

För att försöka hitta gener som är involverade i barndiabetes har man de senaste åren använt sig av syskonparstudier. Man utgår ifrån en familj med två syskon med diabetes och friska föräld-

rar och isolerar DNA ur blodprov från familjemedlemmarna. Sedan använder man polymeraskedjereaktion(PCR)-baserade tekniker för att amplifiera DNA-regioner i genomet, vilket varierar mycket i storlek mellan individer. En sådan typ av region kallas en mikrosatellit och består av upprepningar av en enkel DNA-sekvens.

Olika individer har olika antal av dessa upprepningar, och man analyserar hur många upprepningar varje individ i familjen har. Man jämför sedan de varianter som syskonen med diabetes har. Om man finner, när man analyserar många familjer, att syskonen med diabetes har samma varianter på en viss mikrosatellit är det troligt att den ligger

Tabell I. Genetiska regioner som sannolikt är involverade i barndiabetes. Markören anger den mikrosatellitmarkör eller gen som visat den starkaste kopplingen till IDDM i syskonparsstudier. Den familjära aggregationen är ett mått på hur stor del av den genetiska komponenten som kan förklaras av en viss genetisk region eller gen.

Namn	Kromosom	Markör	Familjär aggregation	Referens
IDDM1	6p21.3	HLA	2,5–2,6	[6, 7]
IDDM2	11p15	Insulin	1,7	[6, 7]
IDDM3	15q26	D15S107	1,4	[8, 9]
IDDM4	11q13	FGF3	1,3–1,6	[6–9]
IDDM5	6q25	ESR	1,1	[6]
IDDM6	18q	D18S64		[6, 9]
IDDM7	2q31	D2S152	1,1–1,8	[6, 10, 11]
IDDM8	6q	D6S446	1,8	[6, 9]
IDDM9	3q(21–25)	D3S1303	1,9	[6, 9]
IDDM10	10p11.2–q11.2	D10S582		[6, 7]
GCK	7p	D7S531	1,3	[6, 9, 22]
	Xq	DXS1068	1,2	[12]

Tabell II. HLA-haplotyper som är associerade med barndiabetes. Haplotyperna är sorterade efter deras uppskattade riskkvot (OR), dvs den risk att utveckla barndiabetes som är associerad med att ha en viss haplotyp (413 patienter, 335 kontroller).

Haplotyp	Patienter, procent	Kontroller, procent	Riskkvot, OR	P	Risk	Rankning
DR4–DQA1*0301–DQB1*0302	73	27	7,3	0,0001	1/221	+1
DR3–DQA1*0501–DQB1*0201	51	23	3,6	0,0001	1/261	+2
DR4–DQA1*0301–DQB1*0301	7	16	0,40	0,01	1/1 345	
DR13–DQA1*0103–DQB1*0603	5	15	0,28	0,0001	1/1 944	
DR11–DQA1*0501–DQB1*0301	2	10	0,23	0,0005	1/2 537	
DR14–DQA1*0101–DQB1*0503	0,5	5	0,13	0,01	1/6 204	
DR7–DQA1*0201–DQB1*0303	0,7	6	0,12	0,005	1/4 562	
DR15–DQA1*0102–DQB1*0602	0,7	25	0,03	0,0001	1/20 168	–3

DR4–DQA1*0301–DQB1*0302-haplotypen visar således den största risken följt av DR3–DQA1*0501–DQB1*0201. Alla andra haplotyper visar en riskkvot (OR) som är lägre än 1, vilket talar för att de är skyddande för diabetes. Men det kan också vara så att de haplotyper som har OR mindre än 1 har det eftersom man måste minska frekvensen av en del haplotyper hos patienter när man ökar förekomsten av DR4–DQA1*0301–DQB1*0302 och DR3–DQA1*0501–DQB1*0201. Vi använde oss av en rankingsmetod för att identifiera sådana haplotyper som verkligen skyddar för barndiabetes [32]. Resultatet ses i den sista kolumnen i tabellen. Av de haplotyper som hade OR mindre än 1 var det endast DR15–DQA1*0102–DQB1*0602 som gavs ett signifikant värde, vilket talar för att det är endast den haplotypen som skyddar från barndiabetes.

Vi försökte också bestämma vilken av generna (DRB1, DQA1 eller DQB1) som var närmast associerad med diabetes på de tre haplotyper som visade den starkaste associationen (DR4–DQA1*0301–DQB1*0302, DR3–DQA1*0501–DQB1*0201 och DR15–DQA1*0102–DQB1*0602). Vi kom då fram till att på DR4–DQA1*0301–DQB1*0302-haplotypen är det DQB1, på DR3–DQA1*0501–DQB1*0201-haplotypen DR3 och på DR15–DQA1*0102–DQB1*0602-haplotypen antingen DRB1- eller DQB1-genen som är närmast associerad med diabetes. Genom att studera både patienter från barndiabetesregistret (ålder vid diagnos 0–14 år) och patienter från diabetesincidensregistret (ålder vid diagnos 15–34 år) har vi funnit att frekvensen av hög-risk-HLA-alleler minskar med ökad ålder vid diagnos, medan frekvensen av låg-risk-HLA-alleler ökar [33]. Detta talar för en heterogenitet med hänseende till diabetesriskgener.

intill en gen som är involverad i barn-diabetespatogenesen.

År 1994 publicerades två arbeten där man använt denna metod med mikrosatelliter fördelade över hela genom 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).