

Vaccination mot typ 1-diabetes framme vid kliniska försöksstadiet

Utveckling av typ 1-diabetes är associerad med en autoimmun reaktion mot insulin, glutaminsyradekarboxylas och membranproteinet IA-2. Experiment på spontandiabetiska försöksdjur visar att sjukdomen kan förebyggas med tidig autoantigen behandling. Mekanis- men är ännu oklar, men det är möjligt att samma skydd mot typ 1-diabetes skulle kunna framkallas hos människa.

Typ 1-diabetes (insulinberoende diabetes) är en vanlig sjukdom i Sverige. Det finns över 40 000 patienter som har typ 1-diabetes. Varje år insjuknar nära 500 barn och unga vuxna i typ 1-diabetes. Barndiabetesregistret visar att sjukdomen under de senaste tio åren har ökat med 1–2 procent per år. I världsstatistiken över incidens ligger Sverige på tredje plats efter Finland och Sardinien. Ökningen av typ 1-diabetes, inte bara i Sverige utan också på andra håll i världen, är alarmerande. Sjukdomen tycks öka med en förbättrad levnadsstandard.

Vår kunskap om etiologi och patogenes vid typ 1-diabetes har förbättrats, men vi är ännu långt ifrån en förståelse av vilka omgivningsfaktorer som påverkar individer med riskgener för typ 1-diabetes på ett sätt som leder till en kronisk autoimmun reaktion mot de langerhanska öarnas betaceller. En autoimmun reaktion mot specifika antigen i betacellerna kan också påvisas i den spontandiabetiska »NOD-musen» och »BB-råtten». Behandling av dessa djur med autoantigen – en typ av vaccination – har visat att den spontana

autoimmuna reaktionen kan dämpas, vilket resulterat i att utvecklingen av diabetes hämmats. I denna artikel diskuteras kort möjligheten att i framtiden på samma sätt vaccinera människor mot diabetes.

Genetiska etiologiska faktorer

De etiologiska faktorer som styr utvecklingen av typ 1-diabetes är dels genetiska, dels faktorer i omgivningen. Ett omfattande arbete har lagts ned på att kartlägga de genetiska faktorer som påverkar utvecklingen av typ 1-diabetes. Den viktigaste genetiska faktorn är HLA på kromosom 6. Det är ännu oklart exakt vilken gen eller vilka gener som styr sjukdomsutvecklingen, men den samlade informationen tyder på att HLA klass II-generna för DR och DQ, som är nära grannar, är av störst betydelse.

I samarbete med barndiabetesregistret och vuxendiabetesregistret har HLA DR och DQ kartlagts för patienter och kontroller. Dessa undersökningar visar att nära 90 procent av patienter med typ 1-diabetes har HLA-typerna DQ2, DQ8 eller både DQ2 och DQ8 (Tabell I). Eftersom nära 40 procent av den svenska befolkningen också har dessa HLA-typer kan man således sluta sig till att dessa är nödvändiga, men att de inte räcker för att typ 1-diabetes skall utvecklas.

Varför DQ2 eller DQ8? Funktionen hos HLA klass II-proteiner är att presentera antigen. T-cellsreceptorn känner igen det trimolekylära komplexet som bildas av en antigenpeptid som fastnat mellan HLA klass II-proteinernas två kedjor. Det har spekulerats i att det finns diabetogena peptider, kanske från insulin eller glutaminsyradekar-



SERIE Diabetes

Tidigare artiklar i serien är publicerade i nr 46, 47 och 49/98, 1–4/99, 7/99 och 8/99. Gästredaktör är professor Ulf Smith, Göteborg

boxylas, GAD65, som binder till antingen HLA DQ2 eller DQ8. Peptiden presenteras tillsammans med DQ2 eller DQ8 för T-cellsreceptorer på T-lymfocyter, som i sin tur initierar en autoimmun process som förstör betacellerna.

Just nu pågår en jakt på peptider som typiskt presenteras av HLA DQ2 och DQ8 klass II-molekyler. Sofistikerade experiment med transgena möss, som uttrycker människans HLA DQ2 eller DQ8 men inte längre sina egna klass II-molekyler, används för att selektera möjliga diabetogena peptider. Dessa peptider används sedan in vitro för att ta reda på om nydiagnostiserade patienter med typ 1-diabetes har T-lymfocyter som känner igen dessa peptider. Tanken är att dessa peptider skulle kunna användas i försök att förebygga eller dämpa sjukdomsförloppet vid typ 1-diabetes.

Diabetes hos NOD-musen kan förebyggas med peptider från GAD65 eller insulin. Behandlingsätten är olika men

Tabell I. Genetiska faktorer av betydelse för utveckling av typ 1-diabetes. Frekvenser tagna från en landsomfattande undersökning av typ 1-diabetes hos 0–34 år gamla.

HLA-typ (kortnamn)	HLA-haplotyp (DQA1–DQB1)	Kopplad DR-typ	Friska kontroller, procent	Typ 1-diabetes-patienter, procent
DQ8	A1*0301–B1*0302	DR4	15	39
DQ2	A1*0501–B1*0201	DR3	11	27
DQ2/8			3	40
DQ6	A1*0102–B1*0602	DR15	14	1

Författare

ÅKE LERNMARK

professor, medicinkliniken, University of Washington, Seattle, Washington, USA, samt adjungerad professor, endokrinologiska kliniken, Lunds universitet, Universitetssjukhuset MAS, Malmö.

Omgivningsfaktorer som ger en ökad risk för typ 1-diabetes

Några exempel på omgivningsfaktorer som tillskrivits betydelse för utveckling av typ 1-diabetes:

Virussjukdomar
Coxsackie B
Påssjuka
Röda hund
Echovirus

Kemikalier
Nitrosaminer
Vacor (råttgift)
Pentamidin
L-asparaginas

det är av intresse att GAD65-peptider som gavs nasalt också kunde förebygga diabetes.

Det återstår att ta reda på om och hur peptider från insulin och GAD65 kan ges till människor. När skall man i så fall ge autoantigen? Är det primär intervention där alla behandlas eller en pseudoprimär intervention där bara de personer som har de genetiska förutsättningarna skall behandlas? Den alternativa möjligheten är att skydda individer som har de genetiska förutsättningarna mot omgivningsfaktorer som skulle kunna initiera typ 1-diabetesprocessen.

Omgivningsfaktorer

En lång rad faktorer av möjlig etiologisk betydelse för typ 1-diabetes har beskrivits (Ruta). Det finns 100 år gamla publikationer som rapporterar att diabetes har uppstått i samband med virusinfektioner. Under årens lopp har dessa tidiga publikationer följts av många fallbeskrivningar av patienter som utvecklade typ 1-diabetes efter påssjuka, röda hund eller coxsackievirusinfektioner. Coxsackievirus, som senare kunde framkalla diabetes hos möss, har isolerats från patienter som nyligen insjuknat i typ 1-diabetes. Barn med kongenital rubellainfektion löper en hög risk att utveckla typ 1-diabetes om de föds med någon av de HLA-typer som är positivt associerade med typ 1-diabetes. Det kan dock ta 10–15 år innan sjukdomen debuterar kliniskt.

En fall-kontroll-studie av svenska diabetesbarn visar att gestationella infektioner av tarmvirus är en riskfaktor för typ 1-diabetes hos barnet. Retrovirus skulle också kunna vara av etiologisk betydelse. En fall-kontroll-studie av barndiabetesregistret visade att mässlingsinfektioner minskade den relativa risken för typ 1-diabetes. Det finns således inte en enhetlig bild av re-

lationen mellan virusinfektioner och senare utveckling av diabetes. Gestationella infektioner tycks vara av stor betydelse, och det är möjligt att ett ökat skydd av blivande mödrar skulle kunna minska incidensen av typ 1-diabetes på lång sikt. Försök att visa att BCG-vaccinering skyddar mot typ 1-diabetes har varit negativa.

Kemikalier och farmaka har också visat sig kunna framkalla diabetes hos människor (Ruta). Kemikalier som i sin struktur innehåller nitrosaminer och som ingår i födoämnen skulle kunna vara av betydelse. Olika typer av diet påverkar utveckling av diabetes hos både NOD-musen och BB-råttan. Olika kemikalier kan således representera etiologiska faktorer som antingen initierar eller påskyndar en autoimmun process mot betacellerna.

Det är ännu oklart om det finns etiologiska faktorer i modersmjölk eller kommjölk. Omfattande undersökningar har inletts i Finland för att undersöka om modersmjölksersättning kan förhindra diabetesutveckling hos barn med hög genetisk risk. Inklusionskriterier i denna och liknande undersökningar innefattar ofta att barnet skall ha utvecklat autoantikroppar mot betacellsantigen, det vill säga markörer för att typ 1-diabetesprocessen har satt igång.

Markörer för den patogenetiska processen

Typ 1-diabetes är mycket starkt associerad med förekomst av autoantikroppar mot autoantigen i betacellerna (Tabell II). Flera studier visar att de radioimmunologiska analysmetoder som finns för att bestämma autoantikroppar mot insulin, GAD65 och membranproteinet IA-2 i stort sett kan ersätta den tidigare använda metoden att bestämma ö-cellsantikroppar (ICA) med indirekt immunfluorescensmetod på frusna snitt av human pankreas. De tre radioimmunologiska analysmetoderna undergår internationell standardisering. Det har varit betydligt svårare att standardisera metoder att reproducera T-lymfocytreaktivitet mot dessa autoantigen i blodprov från patienter med nyupptäckt typ 1-diabetes.

Flera undersökningar av förstagradsfamilj, som följts till dess att de utvecklade typ 1-diabetes, visar att fö-

rekomst av två eller tre antikroppar förutsäger diabetes. En rad studier har därför inletts för att bestämma autoantikroppar i blodprov från friska för att identifiera individer som löper risk att få typ 1-diabetes. Antikroppsanalyserna kombineras med HLA-typning för att utesluta individer som är HLA DQ6-positiva (Tabell I), eftersom denna HLA-typ är negativt associerad med typ 1-diabetes.

I flera pågående studier används insulin som »vaccin», eftersom det är ett autoantigen. En metabol effekt av insulin, även om det ges i små doser, kan naturligtvis inte uteslutas. Pågående undersökningar omfattar screening och uppföljning av nyfödda barn som är positiva för HLA DQ2, DQ8 eller bägge, men inte DQ6. I en studie (DAISY) kommer tidig insulinbehandling att erbjudas, i en annan studie i Finland randomiseras markörpositiva barn till behandling med nässpray med och utan insulin. Liknande studier har påbörjats (Linköping) eller planeras (Skåne) i Sverige, men det är ännu oklart om man kan erbjuda behandling med ett autoantigen, inklusive insulin. I en annan undersökning (Tyskland) screenas nyfödda barn till föräldrar som har typ 1-diabetes. En interventionsbehandling är ej planerad.

Flera interventionsstudier med insulin genomförs på autoantikroppspositiva förstagradsfamilj. I USA screenas fler än 60 000 förstagradsfamilj för ICA och nedsatt första topp i insulinsekretion efter intravenöst glukostoleranstest. I denna studie, DPT-1, randomiseras deltagarna till antingen parenteral behandling med insulin eller till en kontrollerad studie med oralt insulin. I Australien behandlas antikroppspositiva förstagradsfamilj med inhalator med och utan insulin, och i en kontrollerad europeisk multicenterstudie testas oralt insulin. Det kommer att ta 2–3 år innan resultat föreligger från dessa interventionsstudier med insulin.

Det finns ytterligare en grupp av patienter som ökat i intresse för eventuella »vaccinationsstudier» med autoantigen. Denna grupp är de vuxna patienter med diagnostiserad diabetes som på grundval av rekommenderade kriterier klassificeras som typ 2-diabetiker trots

Tabell II. Autoantikroppar mot betacellsautoantigen vid typ 1-diabetes.

Autoantigen	Förkortning av antikropp	Frekvens av autoantikroppar	
		Friska, procent	Typ 1-diabetiker, procent
Insulin	IAA	1	40–50
GAD65	GAD65Ab	1	75–80
IA-2	IA-2Ab	1	50–70

att de har ö-cellsantikroppar. Denna diabetes, som har kommit att kallas LADA (latent autoimmune diabetes in the adult) eller typ 1,5-diabetes, utgör en målgrupp för en första studie med avsikt att ge rekombinant humant GAD65 som ett »vaccin». Avsikten är att undersöka om subkutant injicerat autoantigen skulle kunna avbryta den pågående patogenetiska processen, som hos dessa patienter innebär att deras diabetes blir insulinberoende inom 3–5 år.

Vaccination mot typ 1-diabetes – mycket forskning återstår?

De senaste årens forskning har resulterat i en förbättrad förståelse av de processer som leder fram till typ 1-diabetes. Sekvensanalyser av de HLA-gener som är nödvändiga, men inte tillräckliga, för att diabetes skall utvecklas har gjort det möjligt att identifiera individer som skulle kunna få typ 1-diabetes. Identifiering av autoantikroppar mot insulin, GAD65 och IA-2 samt utveckling av tillförlitliga, internationellt standardiserade analysmetoder för att bestämma dessa autoantikroppar hos friska, har gjort det möjligt att identifiera personer som är på väg att få typ 1-diabetes. Vi har blivit bättre på att förut-säga typ 1-diabetes än att förebygga sjukdomen.

För första gången ställs vi inför problemet att behandla friska personer med insulin. Kommer insulinbehandlingen att leda till att den autoimmuna reaktionen dämpas eller att återstående beta-celler får vila? På vilket sätt skulle GAD65 och IA-2 kunna användas i dessa och liknande studier? Det är många frågor som återstår att besvaras.

Studier av markörpositiva personer planeras världen över eftersom metoderna att screena för typ 1-diabetesmarkörer, både gener och autoantikroppar, har förbättrats. Beprövad erfarenhet av att behandla autoimmunitet med autoantigen eller peptider saknas. Vår förståelse av hur människans immunsystem kommer att reagera på rekombinanta autoantigen eller syntetiska peptider är rudimentär. Kontrollerade kliniska studier utan risk för deltagande markörpositiva personer kommer att krävas för att besvara frågan om vaccination mot diabetes är en framtida möjlighet.

Referenser

1. Dahlquist G, Blom L, Lönnberg G. The Swedish childhood diabetes study – a multivariate analysis of risk determinants for diabetes in different age groups. *Diabetologia* 1991; 34: 757-62.
2. Kaufman DL, Clares-Salzler M, Tian J, Forsthuber T, Ting GSP, Robinson P et al. Spontaneous loss of T-cell tolerance to glu-

tamic acid decarboxylase in murine insulin-dependent diabetes. *Nature* 1993; 366: 69-72.

3. Tisch R, Yang XD, Singer SM, Liblau RS, Fugger L, McDevitt HO. Immune response to glutamic acid decarboxylase correlates with insulinitis in non-obese diabetic mice. *Nature* 1993; 366: 72-5.
4. Schranz D, Lernmark Å. Immunology in diabetes: An update. *Diabetes Metab Rev* 1998; 14: 3-29.
5. Kockum I, Lernmark Å, Dahlquist G, Falorni A, Hagopian WA, Landin OM et al. Genetic and immunological findings in patients with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. The Swedish childhood diabetes study group and the diabetes incidence in Sweden study (DISS) group. *Horm Metab Res* 1996; 28(7): 344-7.
6. Patel SD, Cope AP, Congia M, Chen TT, Kim E, Fugger L et al. Identification of immunodominant T cell epitopes of human glutamic acid decarboxylase 65 by using HLA-DR (alpha1*0101,beta1*0401) transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(15): 8082-7.
7. Tisch R, Yang XD, Liblau RS, McDevitt HO. Administering glutamic acid decarboxylase to NOD mice prevents diabetes. *J Autoimmun* 1994; 7(6): 845-50.
8. Tian J, Clare SM, Herschenfeld A, Middleton B, Newman D, Mueller R et al. Modulating autoimmune responses to GAD inhibits disease progression and prolongs islet graft survival in diabetes-prone mice. *Nat Med* 1996; 2(12): 1348-53.
9. Yoon JW, Austin M, Onodera T, Notkins AL. Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med* 1975; 300: 1174-9.
10. Dahlquist G, Ivarsson S, Lindberg B, Forsgren M. Maternal enteroviral infection during pregnancy as a risk factor for childhood IDDM. *Diabetes* 1995; 44: 408-13.
11. Blom L, Nyström L, Dahlquist G. The Swedish childhood diabetes study: Vaccinations and infections as risk determinants for diabetes in childhood. *Diabetologia* 1991; 34: 176-81.
12. Dahlquist GG, Blom LG, Persson LÅ, Sandström AIM, Wall SGI. Dietary factors and the risk of developing insulin dependent diabetes in childhood. *BMJ* 1990; 300: 1302-6.
13. Verge CF, Stenger D, Bonifacio E, Colman PG, Pilcher C, Bingley P et al. Combined use of autoantibodies (IA-2ab, GADab, IAA, ICA) in type 1 diabetes: Combinatorial islet autoantibody workshop. *Diabetes* 1998; 47: 1857-66.
14. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, Yu L, Pietropaolo M, Jackson RA et al. Prediction of type 1 diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes* 1996; 5(7): 926-33.
15. Wiest-Ladenburger U, Hartmann R, Hartmann U, Berling K, Böhm BO, Richter W. Combined analysis and single-step detection of GAD65 and IA2 autoantibodies in IDDM can replace the histochemical islet cell antibody test. *Diabetes* 1997; 46: 565-71.
16. DPT-1 Study Group. The diabetes prevention trial-type 1 diabetes (DPT-1): implementation of screening and staging of relatives. *Transplant Proc* 1995; 27(6): 3377.
17. Landin-Olsson M, Nilsson KO, Lernmark Å, Sundkvist G. Islet cell antibodies and fasting C-peptide predict insulin requirement at diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 561-8.
18. Hagopian WA, Karlsen AE, Gottsater A, Landin-Olsson M, Grubin CE, Sundkvist G et al. Quantitative assay using recombinant

human islet glutamic acid decarboxylase (GAD-64) showed 64K autoantibody positivity at onset predicts diabetes type. *J Clin Invest* 1993; 91: 368-74.

19. Zimmet PZ, Tuomi T, Mackay IR, Rowley MJ, Knowles W, Cohen M et al. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): The role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diabetic Med* 1994; 11: 299-303.
20. Gottsäter A, Landin-Olsson M, Lernmark Å, Fernlund P, Sundkvist G, Hagopian WA. Glutamate decarboxylase antibody levels predict rate of beta-cell decline in adult onset diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 27: 13-40.

Summary

Vaccination against type I diabetes at the clinical trial stage

Åke Lernmark

Läkartidningen 1999; 96: 1300-2

The occurrence of type I diabetes is associated with autoimmunity against insulin, glutamate decarboxylase (GAD65) and the transmembrane protein IA-2. Experiments in the spontaneously diabetic NOD mouse and the BB rat have shown early autoantigen treatment to confer protection from diabetes. The question remains of whether human type I diabetes can be prevented by autoantigen 'vaccination'.

Correspondence: Professor Åke Lernmark, Robert H Williams Laboratory, Dept of Medicine, University of Washington, Box 357710, Seattle, WA 98195, USA.
E-mail: ake@u.washington.edu