

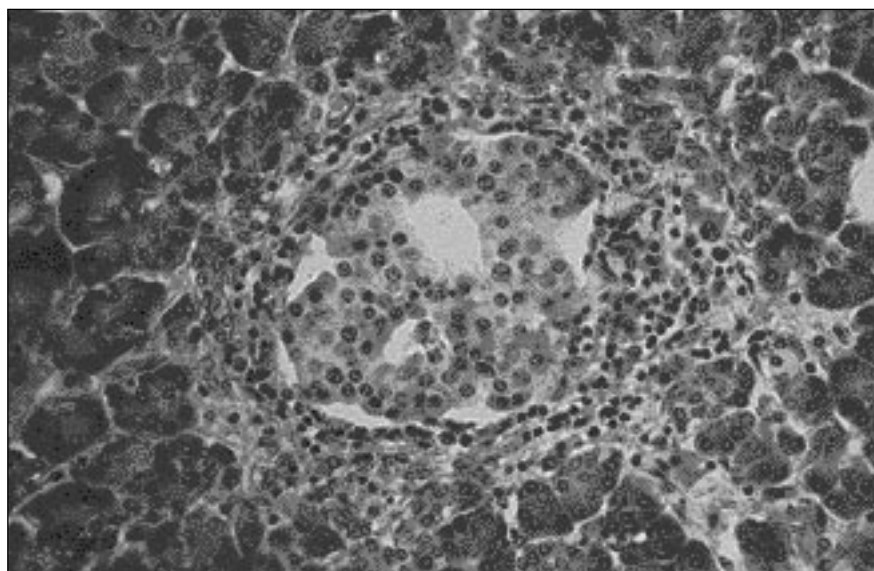
Interleukin-1 och kvävemonoxid inblandade i uppkomst av diabetes

Insulinberoende diabetes mellitus är en folksjukdom i västvärlden, och dess incidens ökar fortfarande, speciellt i Skandinavien. Det finns hållpunkter för att cytokinet interleukin-1 och kvävemonoxid har betydelse för uppkomst av sjukdomen. De toxiska effekterna av interleukin-1 och kvävemonoxid, genererat via autoimmuna reaktioner, på de insulinproducerande betacellernas funktion, samt olika farmakologiska möjligheter att blockera denna toxicitet, diskuteras i den här artikeln.

Insulinberoende diabetes mellitus, typ 1-diabetes, svarar för ca 10 procent av all diabetes i industrialiserade länder, är osedvanligt prevalent i Skandinavien och ökar fortfarande i incidens hos barn och ungdomar [1].

Typ 1-diabetes är en kronisk sjukdom som karakteriseras av en gradvis destruktion av de insulinproducerande betacellerna i endokrina pankreas [1]. Även om de direkta orsakerna till sjukdomen är ofullständigt kända, talar mycket för en autoimmun attack på betacellerna hos genetiskt predisponerade individer, möjligen utlöst av viral infektion [1-5].

Histologiskt uppvisar endokrina pankreas kraftig infiltration av immunceller före det kliniska utbrottet av diabetes, något som illustreras i Figur 1. Det anses numera att patogenesen för



Figur 1. Döende betaceller. Ö-cellsinflammation, »insulit», i endokrina pankreas föregår utbrottet av typ 1-diabetes. Bilden visar en langerhansk ö i ruiner, angripen av infiltrerande lymfocyter.

typ 1-diabetes är primärt cellmedierad, involverande såväl hjälpar-T-celler (CD4⁺) och suppressor-T-celler (CD8⁺) som monocyter och makrofager [2]. Nyare forskning, vilken jag sammanfattar i denna översiktsartikel, antyder att cytokinet interleukin-1 och den fria radikalen kvävemonoxid kan utgöra nyckelfaktorer för uppkomsten av typ 1-diabetes.

Betydelsen av interleukin-1

För drygt tio år sedan påvisades, genom pionjärstudier av Mandrup-Poulsen och medarbetare, att aktiverade makrofager producerar en faktor som är cytotoxisk för betaceller in vitro [2]. Det är känt att makrofager producerar ett antal cytokiner [4], en grupp lösliga peptider med betydelsefulla funktioner inom immunsystemet. Interleukin-1 β är den bäst karakteriserade av dessa och har studerats noga, under ett decennium, med avseende på effekter på betacellen in vitro [2-5].

Förutom cytotoxiska effekter kunde interleukin-1 hämma insulinsekretionen genom att selektivt interferera med mitokondriell substratoxidation, resulterande i reducerad nivå av NAD⁺ och en minskad energiproduktion [5-7]. Den glukoskänsliga insulinsekretionen

påverkades särskilt, liknande situationen i tidig typ 1-diabetes som karakteriseras av en progredierande glukosintolerans. Dessutom hämmades uttrycket av insulingenen och biosyntesen av insulin selektivt av interleukin-1, sannolikt ledande till den insulinbrist som utmärker typ 1-diabetes. Dessa resultat sammantagna ledde till hypotesen att interleukin-1 är involverat i uppkomsten av typ 1-diabetes [2].

Såväl normala som tumöromvandlade betaceller har specifika cellytereceptorer som binder interleukin-1 med hög affinitet. Det verkar som om dessa, liksom i makrofager, är av typ 1 och cirka 80 kDa i storlek [5]. Dessutom har man identifierat en peptid som verkar antagonistiskt på interleukin-1-receptorn och frisätts parallellt med interleukin-1 från makrofager [2]. Denna peptid är cirka 22 kDa stor och uppvisar 72 procent sekvenshomologi med interleukin-1 [2]. Kanske inte så förvånande befanns peptiden skydda betacellen från effekterna av interleukin-1 in vitro [5].

Interleukin-1 utövar sina hämmande och toxiska effekter på betacellen genom multipla och komplexa signalsystem, som uppenbarligen kräver gentranskription, translation av mRNA och de novo proteinsyntes, eftersom cytoki-

Författare

ÅKE SJÖHOLM

docent, specialitäläkare, klinisk assistent i endokrinologi, institutionen för molekylär medicin, Rolf Lufts centrum för diabetesforskning, Karolinska sjukhuset, Stockholm, vid tidpunkten för artikelns tillkomst »visiting scientist» vid University of Hawaii, Honolulu, USA.

nets toxicitet kan blockeras av hämmare av dessa processer [8, 9]. Uttrycket av åtminstone 33 olika proteiner i betacellen ändras av interleukin-1 [2].

Induktionen av vissa av dessa proteiner speglar sannolikt försvarsmekanismer mot interleukin-1. Exempelvis induceras i andra vävnader olika »stressproteiner», katalas, hemoxygenas, glutathionperoxidas och superoxid-dismutas av stress och toxiner, och dessa induceras även i betacellen av interleukin-1 [5, 10]. Betacellen har under normala betingelser ett osedvanligt lågt uttryck av dessa försvarspoteiner, vilket kan bidra till betacellens känslighet för autoimmun attack och dess oförmåga att tolerera fria radikaler [10].

Produktion av kväve-monoxid och apoptotisk betacellsdöd

Efter den första rapporten om att den toxiska fria radikalen kväve-monoxid är inblandad i den toxiska effekten av interleukin-1 i betacellen [11], antyder en mängd data att ett obligatoriskt primärt steg i den hämning av betacellen som interleukin-1 orsakar, utgörs av produktion av kväve-monoxid [11-13]. Detta kan vara av särskild klinisk relevans eftersom epidemiologiska data har påvisat en ökad incidens av typ 1-diabetes hos befolkningsgrupper med högt dietärt intag av nitrit, möjligen orsakat av bildningen av diabetogena nitrosaminer [14, 15]. Kväve-monoxid är mycket instabil och omvandlas snabbt till sina stabila slutprodukter nitrit och nitrat [16]. Interleukin-1 ökar betacellens bildning av kväve-monoxid genom att inducera uttrycket av en subform av enzymet kväve-monoxid-syntas (iNOS) [12] efter 3-6 timmar.

Betacellens 130 kDa stora Ca^{2+} -oberoende inducerbara kväve-monoxid-syntas liknar det som uttrycks i makrofager och är lokaliserat till kromosom 17 [8]. Enzymet feedback-hämmas av kväve-monoxid självt, sannolikt genom minskad transkription [8]. Nedbrytningen av enzymets mRNA sker snabbt och påverkas inte av interleukin-1 [8].

Betydelsen av kväve-monoxid understryks av att specifika hämmare av indu-

cerbart kväve-monoxid-syntas, till exempel argininanaloger och aminoguanidin, förmår fullständigt skydda mot interleukin-1-orsakad toxicitet i odlade betaceller [8, 9]. I sin egenskap av reaktiv, lågmolekylär, fri radikal, kan kväve-monoxid snabbt interagera med ett antal målproteiner [16]. Exempelvis orsakar kväve-monoxid ultrastrukturella skador och DNA-fragmentering, karakteristisk för apoptotisk celldöd, i betacellen [3].

Flertalet studier av interleukin-1 och kväve-monoxid har gjorts i isolerade betaceller från gnagare, och dessa ämnens betydelse i human typ 1-diabetes är fortfarande under debatt [8, 17]. Humana betaceller verkar vara förhållandevis motståndskraftiga mot interleukin-1 och kväve-monoxid [17], och interleukin-1 måste kombineras med andra cytokiner producerade i den inflammatoriska öcellslesionen (gammainterferon och tumörnekrosfaktor α) för att ge effekter.

Den humana betacellen är dessutom mindre benägen att bilda kväve-monox-

shock-proteiner», katalas, hemoxygenas, glutathionperoxidas och superoxid-dismutas [10].

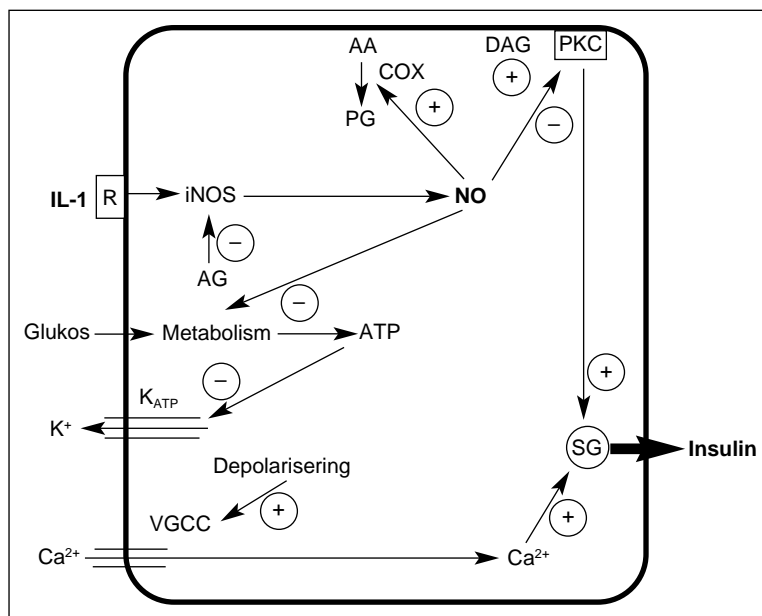
Intressant nog innehåller serum från patienter med nydiagnostiserad typ 1-diabetes, vars betaceller utsatts för autoimmun attack, inte endast förhöjda nivåer av interleukin-1 [18], utan orsakar också onormalt kraftigt Ca^{2+} -inflöde i betaceller, resulterande i DNA-fragmentering typisk för apoptos [19]. Interleukin-1 initierar apoptos i dessa celler genom kväve-monoxidproduktion [3]. Helt nyligen har ett flertal artiklar visat att betacellen dör genom apoptos vid typ 1-diabetes, sannolikt orsakad genom interleukin-1-medierad upreglering av »Fas» [20, 21]. Fas är ett så kallat dödsprotein, tillhörande familjen av receptorer för tumörnekrosfaktorer och nervtillväxtfaktor, och anses vara ett protein bundet till betacellens plasmamembran [22].

Tidigare rapporter [23] visade också att E-vitamin (gammatokoferol), en betydande dietär antioxidant i västvärlden, kan skydda betaceller in vitro från

effekterna av interleukin-1, sannolikt genom att detoxifiera kväve-monoxid och därmed förhindra lipidperoxidation [24]. Även in vivo orsakar tillförsel av E-vitamin en minskad incidens eller senareläggning av debuten av typ 1-diabetes i »BB-råttan» och »NOD-musen», två modeller för human autoimmun diabetes [25, 26]. Intressant nog har serum från diabetiker sämre antioxidativa egenskaper än serum från friska personer [27]. Våra tidigare studier rörande prooxidanter i betacellen har dessutom visat att kinoninducerad oxidativ stress inducerar apoptos i odlade betaceller [28]. Kväve-monoxid har ju mycket stor betydelse från kardiovaskulär synpunkt, bland annat som nitroglycerin vid behandlingen av angina pectoris. Hos diabetiker tycks det föreligga en primär resistens mot kväve-monoxid, vilket kan vara en förklaring till att diabetiker med

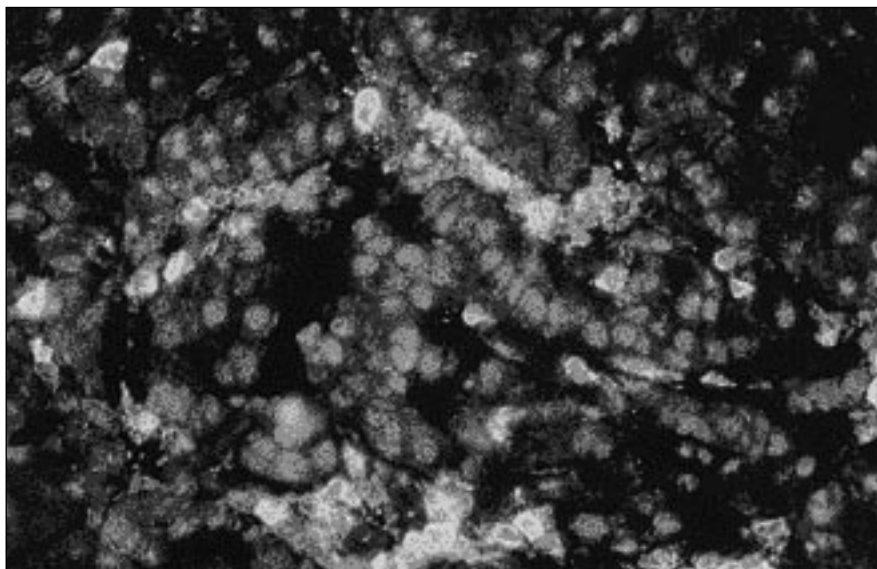
ischemisk hjärtsjukdom förefaller vara relativt nitratoleranta och därmed svårbehandlade med nitropreparat [29].

I Figur 2 presenteras en förenklad bild av intracellulära processer som påverkas av interleukin-1 och kväve-monoxid i betacellen. Nyligen påvisades



Figur 2. Inhibitoriska effekter av interleukin-1 och kväve-monoxid på betacellens funktion. Modell för hur interleukin-1 kan hämma insulinsekretionen via kväve-monoxid. Efter att interleukin-1 bundit till sin cellytereceptor, aktiveras en kaskad av händelser i den intracellulära signalöverföringen. Härigenom åstadkoms inhibition av olika delar av stimulus-sekretionskopplingen i betacellen. += stimulering; -= inhibition; AA = arakidonsyra; AG = aminoguanidin; ATP = adenosin trifosfat; COX = cyklooxygenas; DAG = 1,2-diacylglycerol; IL-1 = interleukin-1; iNOS = inducerbart kväve-monoxid-syntas; K_{ATP} = ATP-reglerad K^+ -kanal; NO = kväve-monoxid; PG = prostaglandiner; PKC = proteinkinase C; R = receptor; SG = sekretionsgranulum; VGCC = spänningsberoende Ca^{2+} -kanal.

id efter exponering för cytokiner, och förefaller också mindre känslig för kväve-monoxid än motsvarande cell från försöksdjur [8, 17]. Detta förhållande kan möjligen betingas av ett högre uttryck av skyddande enzymer som neutraliserar radikaler, till exempel »heat-



Aktiverade T-lymfocyter bärande HLA-DR-antigener angriper pankreas betaceller vid typ 1-diabetes.

också att kväveoxid verkar mediera den toxiska effekten på den insulinproducerande betacellen av den hyperlipidemi som existerar hos överviktiga typ 2-diabetiker [30, 31], möjligen via bildning av ceramid, vilket således anknyter till min tidigare artikel om lipotoxicitet [32].

Betacellens stimulus-sekretionskoppling

En karakteristisk egenskap hos kväveoxid är dess förmåga att binda till enzymer innehållande grupper av järn/svavel och därigenom modulera deras biologiska aktivitet [16]. En annan viktig biologisk egenskap hos kväveoxid är dess förmåga att stimulera S-nitrosylering av olika proteiner innehållande »kritiska» SH-grupper [16, 33, 34].

Kväveoxid hämmar betacellens insulinfrisättning, delvis genom S-nitrosylering av angränsande tiolgrupper, sannolikt bildande intramolekylära disulfider, i nyckelproteiner som protein-kinas C och fosfolipas C, i stimulus-sekretionskopplingen [35]. Dessa negativa effekter av kväveoxid på betacellens stimulus-sekretionskoppling kan vara av betydelse för den nedsättning av insulinsekretionen som utmärker typ 1-diabetes. Det är emellertid svårt, inte minst på grund av den snabba omvandlingen mellan olika oxidationsformer av kväveoxider, att helt utsluta att kväveoxid de facto kan fungera som en antioxidant och radikal-fångare, och således besitta skyddande och antiflogistiska egenskaper.

Enligt detta resonemang skulle ökningen i kväveoxid, som noterats efter exponering för cytokiner i diverse vävnader, kunna utgöra ett försvarssystem mot exempelvis syrgasradikaler

[36]. Ett sådant scenario har föreslagits, bland annat i lungan [37] och vid myokardischemi betingad av reperfusionsskador där kväveoxid föreslagits mediera det postischemiska skydd som utövas av ACE-hämmare [38].

Prostaglandinernas roll

Ett utmärkande drag i flertalet vävnader efter exponering för interleukin-1 är produktion av de inflammatoriska mediatorerna prostaglandiner, tromb-oxaner och leukotriener via fosfolipas A₂, cyklooxygenas och 12-lipoxygenas. Även i betacellen inducerar interleukin-1 en kraftig ökning av prostaglandinen PGE₂, som tidsmässigt korrelerar väl till cytokinets hämmande fas på insulinfrisättningen [12]. Interleukin-1 inducerar ett kooperativt uttryck av inducerbart kväveoxidsyntas och det inducerbara cyklooxygenaset typ-2, det senare enzymet aktiverat också av kväveoxid [39].

Det är möjligt att lokalt syntetiserade prostaglandiner kan utöva betydande påverkan på betacellens tillväxt och funktion, och det är tänkbart att de inverkar negativt på insulinsekretion och glukoshomeostas in vivo. Experiment på djur och människor avslöjade att infusion av prostaglandiner minskade mängden insulin frisatt vid ett glukostoleranstest [40]. Likaså kan vissa cyklooxygenasinhibitorer inte endast förstärka glukosinducerad insulinfrisättning hos människa, utan också förbättra glukostolerans och glukosinducerad insulinfrisättning hos patienter med typ 2-diabetes [40]. Då isolerade betaceller exponerades ett dygn för prostaglandiner ur E-serien, ledde detta till en hämning av betacellens replikation och insulinsekretion [41]. Ett flertal studier bekräftar även att korttidsexponering

för prostaglandin hämmar insulinfrisättningen in vitro [40].

Mål för läkemedel som kan skydda betacellen

Helt klart utgör dagliga injektioner av insulin en livräddande behandling för patienter med typ 1-diabetes, men önskvärt är givetvis en mer fysiologisk frisättning av insulin för att hålla en jämnare blodsockerprofil och därigenom kunna undvika sena komplikationer. Dessutom kan ännu inte någon effektiv förebyggande eller betacellskyddande terapi erbjudas dessa patienter eller närstående i riskzonen. Om interleukin-1 orsakar destruktion och dysfunktion av betacellen genom kväveoxidproduktion vid human typ 1-diabetes, utgör flera komponenter i interleukin-1-kväveoxidsystemet inbjudande mål för läkemedel som kan skydda betacellen från undergång och funktionell inhibition vid, eller före debuten av, typ 1-diabetes [3].

Den selektiva hämmaren av inducerbart kväveoxidsyntas, *aminoguanidin*, har givits till spontandiabetiska NOD-möss in vivo [42], och befanns senarelägga utbrottet av autoimmun diabetes hos dessa djur men förmådde inte förebygga sjukdomen. I transgena möss, vilka artificiellt överuttrycker inducerbart kväveoxidsyntas i betacellen, kunde peroralt aminoguanidin senarelägga debuten av insulinopen diabetes [13]. Emellertid kan aminoguanidin även påverka andra processer än bildning av kväveoxid [43], och reducerar även blodflödet till betacellen in vivo [44].

Som diskuterats ovan har *E-vitamin*, sannolikt genom sin antioxidativa egenskap, uppvisat lovande resultat [23-26] vad gäller att skydda betacellen mot funktionell hämning av interleukin-1 och kväveoxid in vitro, och att fördröja utbrottet av typ 1-diabetes hos spontandiabetiska djur. Detta kan vara av speciellt intresse då diabetiker uppvisar en nedsatt antioxidativ aktivitet i serum [27].

I pågående kliniska studier har även E-vitamin, i en ettårig prospektiv studie, givits till nydiagnostiserade typ 1-diabetiker med intensiv insulinbehandling [45]. I denna studie gjordes även en jämförelse med nikotinamid, och det visade sig att E-vitamin uppvisade positiva egenskaper likvärdiga med nikotinamid vad gällde bevarandet av betacellfunktionen hos dessa patienter. Detta i termer av C-peptidnivåer och HbA_{1c}-värden, som var signifikant förbättrade jämfört med gruppen som enbart erhöll intensiv insulinbehandling [45]. Det skall bli intressant att se huruvida någon additiv eller synergistisk protektiv effekt kan åstadkommas med

en kombination av de båda vitaminerna i kommande studier.

Nikotinamid, en metabolit till vitamin B6, har testats in vitro med lovande resultat. Intressant nog förmår nikotinamid stimulera nybildning av betaceller genom differentiering [46], och förbehandling med nikotinamid in vitro av betaceller avsedda för transplantation till diabetiska djur accelererade dessa djurs tillfrisknande [47]. Nikotinamid genomgår för närvarande kliniska prövningar [45, 48-51], men de lovande resultat som vissa grupper observerat – det vill säga en försenad debut av typ 1-diabetes – måste naturligtvis bekräftas. Runt millennieskiftet förväntas de första resultaten bli tillgängliga [49].

Studierna avser huvudsakligen prevention hos personer med hög risk att insjukna i typ 1-diabetes [49, 50]. I den tyska DENIS-studien [51] screenades syskon till nysjuknade typ-1-diabetiker, och de personer som uppvisade höga titrar av öcellantikroppar randomiserades till placebo eller peroral nikotinamidbehandling. Efter tre år hade man, i denna studie, emellertid inte kunnat påvisa någon statistiskt signifikant reduktion avseende kumulativ risk för insjuknande i typ 1-diabetes hos dessa högriskindivider [51].

Referenser

1. Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus [review]. *Cell* 1996; 85: 291-7.
2. Mandrup-Poulsen T. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of IDDM [review]. *Diabetologia* 1996; 39: 1005-29.
3. Sjöholm Å. Aspects of the involvement of interleukin-1 and nitric oxide in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus [review]. *Cell Death and Differentiation* 1998; 5: 461-8.
7. Sjöholm Å. Differential effects of cytokines on long-term mitogenic and secretory responses of fetal rat pancreatic betacells. *Am J Physiol* 1992; 263: C114-20.
8. Eizirik DL, Flodström M, Karlén AE, Welsh N. The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic β -cells [review]. *Diabetologia* 1996; 39: 875-90.
12. McDaniel ML, Kwon G, Hill JR, Marshall CA, Corbett JA. Cytokines and nitric oxide in islet inflammation and diabetes [review]. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996; 211: 24-32.
15. Kostraba JN, Gay EC, Rewers M, Hamman RF. Nitrate levels in community drinking waters and risk of IDDM. *Diabetes Care* 1992; 15: 1505-8.
16. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule [review]. *Ann Rev Biochem* 1994; 63: 175-95.
21. Chervonsky AV, Wang Y, Wong FS, Visintin I, Flavell RA, Janeway CA Jr et al. The role of Fas in autoimmune diabetes. *Cell* 1997; 89: 17-24.
26. Hayward AR, Shriber M, Sokol R. Vitamin E supplementation reduces the incidence of diabetes but not insulinitis in NOD mice. *J Lab Clin Med* 1992; 119: 503-7.
30. Shimabukuro M, Koyama K, Lee Y, Unger RH. Leptin- or troglitazone-induced lipope-

nia protects islets from interleukin 1 β cytotoxicity. *J Clin Invest* 1997; 100: 1750-4.

35. Sjöholm Å. Nitric oxide donor SIN-1 inhibits insulin release. *Am J Physiol* 1996; 271: C1098-1102.
41. Sjöholm Å. Prostaglandins inhibit pancreatic β -cell replication and long-term insulin secretion by pertussis toxin-insensitive mechanisms but do not mediate the actions of interleukin-1 β . *Biochim Biophys Acta* 1996; 1313: 106-10.
46. Sjöholm Å, Korsgren O, Anderson A. Polyamine requirements in nicotinamide-stimulated betacell differentiation in fetal porcine islet-like cell clusters. *Endocrinology* 1994; 135: 1559-65.
50. Knip M, Åkerblom HK. IDDM prevention trials in progress – a critical assessment [review]. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1998; 11 suppl 2: 371-7.

En fullständig referenslista kan erhållas från docent Åke Sjöholm, Institutionen för molekylär medicin (L6:01B), Rolf Lufts Centrum för Diabetesforskning, Karolinska sjukhuset, 171 76 Stockholm. E-post: ake@enk.ks.se

Summary

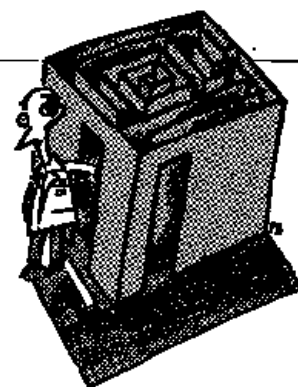
Interleukin-1 and nitric oxide involved in the pathogenesis of diabetes

Åke Sjöholm

Läkartidningen 1999; 96: 2338-41.

Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is not only a common metabolic disorder in industrialised countries, but its incidence is still increasing, especially in Scandinavia. The article consists in a review of evidence implicating nitric oxide (NO) and the cytokine, interleukin-1 (IL-1), in the pathogenesis of IDDM. Cytotoxic effects of IL-1 and NO, generated through autoimmune reactions associated with insulinitis and impairing the function of insulin-producing pancreatic β -cells in IDDM, are discussed, as are possible pharmacological strategies for blocking this toxicity. Compounds capable of blocking IL-1 cell surface receptors and NO synthesis may prove beneficial in protecting β -cells from autoimmune assault in IDDM. If IL-1 causes β -cell dysfunction and destruction through NO synthesis in IDDM, several pathways in the IL-1-NO system are attractive potential targets for drugs protecting β -cells against these effects, thus providing a means of intervening in the pathogenesis of IDDM.

Correspondence: Associate Professor Åke Sjöholm, Dept of Molecular Medicine, Rolf Luft Center for Diabetes Research, Karolinska sjukhuset, SE-171 76 Stockholm, Sweden. E-mail: ake@enk.ks.se



**enligt
min
erfarenhet**

Läkartidningens serie 1990–1992 i särtryck

När konsensus saknas om hur läkaren bör behandla, spelar den beprövade erfarenheten stor roll. Det 48-sidiga häftet innehåller 32 korta, praktiskt inriktade artiklar med anknytning till vårdens vardag och vänder sig till alla kliniskt verksamma läkare. Förutom diagnostik med terapi speglas goda exempel på prevention, ledningsfrågor och administration.

Pris 55 kr. Vid 11–50 ex 50 kr, vid högre upplagor 47 kr/ex.

Beställ här:

..... exemplar av

Enligt min erfarenhet

Namn

Adress.....

Sändes till Läkartidningen,
Box 5603, 114 86 Stockholm

Märk gärna kuvertet med
»Enligt min erfarenhet»

Beställning per fax:
08-20 76 19