

## Framgångsrik genterapi mot experimentellt utlöst typ 1-diabetes

### Kort rapport

Åke Sjöholm  
docent, specialistläkare, en-  
heten för endokrinologi och  
diabetologi, Karolinska sjuk-  
huset, Stockholm.  
(ake@enk.ks.se)

II Ett alternativ för ett fåtal patienter med diabetes mellitus har varit transplantation av pankreas, ett omfattande ingrepp som är både kirurgiskt komplicerat och förenat med hög mortalitet.

Ett på senare år framtaget alternativ är transplantation av endast endokrina pankreas, dvs de Langerhanska cellöarna, en procedur som visserligen är betydligt mindre invasiv, men som dessvärre starkt begränsas av den sparsamma tillgången på transplanterbar vävnad.

I en artikel i *Nature* [1] har man använt sig av ett antal sinnrika och sofistikerade metoder för att med genterapi stadigvarande bota experimentell typ 1-diabetes i två olika djurmodeller för denna sjukdom, streptozotocininducerad diabetes och spontandiabetiska NOD-musen. Till skillnad från tidigare måttligt framgångsrika försök med genterapi har man i denna studie valt dels att inducera ett artificiellt uttryck av en okomplicerad insulinanalog i levern, dels konstruerat genhybriden så att dess uttryck står under kontroll av en promotoregion reglerad av glukos (leverns enzym pyruvatkinas).

Tidigare försök med ektopiskt insulinuttryck har mött svårigheter på grund av att proinsulinmolekylen, som endast uppvisar 1–2 procent av insulinets biologiska aktivitet, måste klyvas och processas proteolytiskt intracellulärt innan slutprodukten (färdigt insulin) kan släppas ut i blodet. De enzymer som krävs för denna komplexa process finns i stort sett endast i pankreas betaceller.

I studien har man undvikit denna problematik genom att syntetisera en enkelkedjig insulinanalog som, trots att den endast består av 7 aminosyror, uppvisar 20–40 procent av insulinets biologiska aktivitet. Således krävs ingen proteolytisk klyvning, som ju är fallet hos ordinarie insulin. Denna genhybrid placerades i ett modifierat virus som injicerades i vena porta och således hamna-

de i levern. Faktiskt visade det sig också att det virala genomet endast uttrycktes i levern.

Ett annat betydande problem med artificiellt insulinuttryck har varit svårigheterna att få detta att exakt matcha rådande blodsockernivåer. Författarna har löst detta genom att placera uttrycket av insulinanaloggenen under kontroll av en glukoskänslig promotoregion, nämligen leverenzymet pyruvatkinas, som således känner av blodsockret och styr insulinfrisättningen därefter.

Genom dessa tekniker, lyckades man åstadkomma en normal blodsockerprofil under hela försöksperioden som uppgick till 8 månader. Trots en något förlängsammad frisättning av insulinanalogen (jämfört med den snabba exocytosprocessen i pankreas) lyckades de virusransfererade djuren bibehålla såväl fasteblodsocker som postprandiella glukosnivåer som i det närmaste liknade friska djur.

Huruvida denna infallsvinkel kan användas för patienter med typ 1-diabetes är dock inte självklart. Den humana levern har betydligt lägre basal glukosproduktion än råttor och möss. Om insulinanalogen ska uttryckas i levern, kan hepatocyterna komma att utsättas för extremt höga lokala nivåer av insulin. Vad medför detta? Ingen vet.

Långdragen hypoglykemi, speciellt postprandiell sådan, är ett annat potentiellt problem vid irreversibel insulinproduktion även om detta inte noterades i försöksdjuren. Återigen kan man dock fråga sig hur människan reagerar. Icke desto mindre är konceptet med en glukoskänslig promotor högtintressant och kan tänkas minimera problematiken med hypoglykemier, även om andra faktorer som normalt reglerar insulinbehovet *in vivo* (t ex kostvanor förutom glukos, kroppsvikt, perifer insulinresistens, ålder, tillväxtfaser såsom pubertet och graviditet) säkerligen kräver än mer sofistikerade och avancerade metoder än så.

I ett närbesläktat arbete används en alternativ inställning med genetiskt manipulerade enteroendokrina K-celler, som viralt transfererats att uttrycka den humana insulingenen [2]. Finessen med att använda denna celltyp är att den ovanligt nog är känslig för glukos, trots att den beror på att enzymet glukokinase uttrycks. K-cellerna, som finns i proximala tunntarmen, producerar nor-

malt hormonet GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide) som fungerar som en glukoinkretin, dvs känner av mängden peroral glukos och stimulerar pankreas insulinfrisättning därefter.

I detta arbete tillverkades transgena möss, som specifikt visade sig uttrycka hybridgenen i K-cellerna. När författarna experimentellt slog ut >99,5 procent av pankreas betaceller med toxinet streptozotocin, förmådde den ektopiska insulinsekretionen från tarmens K-celler likväl helt skydda dessa djur från att utveckla diabetes. Därtill skedde detta utan hypoglykemiska episoder och med normal kinetik vid peroral glukosbelastning.

Till skillnad från pankreas betaceller, uttrycker K-cellen inte de cellyteantigen som anses orsaka den autoimmuna attacken på betacellen vid typ 1-diabetes. Den kan således fortsätta att producera ektopiskt insulin, och frisätta det i relation till rådande plasmaglukos alldeles oavsett om pankreas endogena insulinproduktion slagits ut av den autoimmuna diabetesprocessen.

Fördelarna med att använda K-celler, förutom deras glukoskänslighet, är att de normalt förekommer i ett antal av flera biljoner i tarmepitelet, som ju uppvisar ett stort antal proliferativt aktiva celler – bl a odifferentierade stamceller – med snabb omsättning. De är därigenom lättåtkomliga med noninvasiva tekniker som t ex endoskopisk leverans av orala beredningsformer av retrovirala vektorer, en teknik som redan tillämpats framgångsrikt för gentransfektion av gastrointestinala stamceller i andra sammanhang.

### Referenser

1. Lee HC, Kim SJ, Kim KS, Shin HC, Yoon JW. Remission in models of type 1 diabetes by gene therapy using a single-chain insulin analogue. *Nature* 2000; 408: 483-8 (kommentar sidorna 420-1).
2. Cheung AT, Dayanandan B, Lewis JT, Korbutt GS, Rajotte RV, Bryer-Ash M et al. Glucose-dependent insulin release from genetically engineered K cells. *Science* 2000; 290: 1959-62.