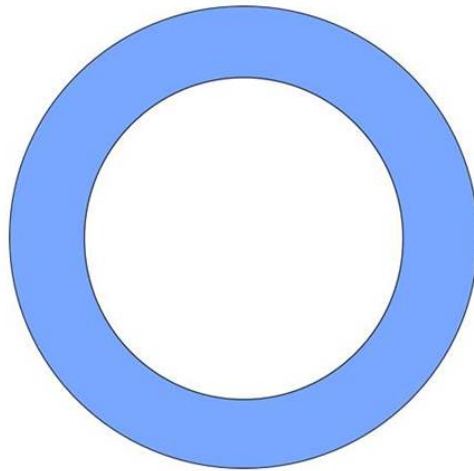




UPPSALA  
UNIVERSITET

## Vad orsakar diabetes typ 1?

Hur samspelet mellan gener och miljö  
leder till  $\beta$ -cell apoptos



Louise Granlund

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2015  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

# Vad orsakar diabetes typ 1?

## Hur samspelet mellan gener och miljö leder till $\beta$ -cell apoptos

Louise Granlund

Självständigt arbete i biologi 2015

### Sammandrag

Diabetes, liksom alla autoimmuna sjukdomar, är ett resultat av att kroppens naturliga försvar mot främmande organismer och patogener gjort revolt och vänt sig mot kroppens egna vävnader. Trots en lavinartad ökning av diabetes typ 1 i Sverige såväl som i andra länder finns idag inga botemedel mot sjukdomen, och de som drabbas tvingas leva med att dagligen ta insulininjektioner och att hålla konstant koll på sitt blodsocker. Grundprinciperna för diabetes uppkomst, utveckling och konsekvenser i kroppen är välkända men de specifika mekanismerna som ligger bakom dem är långt ifrån förstådda trots många år av forskning och omfattande studier. Vad orsakar egentligen diabetes typ 1?

De många olika faktorer, både genetiska och miljömässiga, som i olyckliga kombinationer tillsammans tycks avgöra en persons insjuknande är en förklaring till det svåra i att kartlägga orsakerna till sjukdomen. En genregion på kromosom sex kallad human leukocyt antigen (HLA) har identifierats innehålla de gener som står för den största genetiska sårbarheten att utveckla sjukdomen. Det finns stora variationer inom detta locus och vissa alleltyper medierar ökad risk att insjukna medan andra snarare har en skyddande effekt. Men långt ifrån alla individer som visar på en ökad genetisk risk för att insjukna drabbas av sjukdomen. En anledning till detta tycks vara att sjukdomsförloppet behöver initieras av någon miljömässig faktor och allt ifrån tungmetaller till komjölk har undersökts som potentiella utlösare av sjukdomen. En av de troligaste teorierna är att virusinfektioner kan spela en avgörande roll och då specifikt familjen enterovirus. När sjukdomsförloppet väl inletts startar en kaskad av händelser i immunförsvaret som slutligen leder till  $\beta$ -cellernas död. Vårt adaptiva immunförsvar ger upphov till T-celler som attackerar den egna kroppen, så kallade autoreaktiva T-celler, vilka genom att utsöndra perforin, Fas-ligander och cytokiner initierar apoptos hos  $\beta$ -cellerna.

Diabetes typ 1 är ett ytterst aktuellt forskningsområde som tyvärr ofta hamnar i skymundan för andra välfärdssjukdomar så som cancer och diabetes typ 2. Ju mer vi lär oss om vilka faktorer som driver uppkomsten av sjukdomen samt vilka mekanismer som bryter ner de insulinproducerande  $\beta$ -cellerna, desto bättre behandlingsmetoder och eventuella framtida botemedel kan vi hoppas på.

### Inledning

Vid autoimmuna sjukdomar angriper kroppens immunförsvar den egna kroppen och bryter ner kroppsegna celler och vävnader. Diabetes typ 1 (T1D, Type 1 Diabetes), är en autoimmun sjukdom som idag blir allt vanligare i västvärlden. Idag diagnostiseras 2 barn per dag med diabetes i Sverige vilket innebär att vårt land, näst efter Finland, har den högsta andelen insjuknade barn i världen (<http://www.barndiabetesfonden.se/> 2014). Frågor kring vad som orsakar denna sjukdom, vilka mekanismer som ligger bakom sjukdomsutvecklingen och varför vissa löper större risk att drabbas än andra står fortfarande obesvarade trots intensiv forskning.

Diabetes typ 1 orsakas av att immunförsvaret attackerar och bryter ner de insulinproducerande  $\beta$ -cellerna i de Langerhanska öarna; en grupp celler i bukspottkörteln. Detta leder slutligen till en total insulinbrist i kroppen, en process som dock tar lång tid. Symptom brukar framträda först när 80 % av  $\beta$ -cellerna blivit förstörda. Vanliga symptom som då uppträder är att personen ifråga dricker och kissar mycket, mår illa, uppvisar en snabb viktnedgång eller ser suddigt varpå det är viktigt att snabbt komma i kontakt med läkare. Som diabetiker är det tyvärr även vanligt med både akuta och långsiktiga komplikationer. Akuta komplikationer kan vara diabeteskoma eller insulinchock. Diabeteskoma är en följd av syraförgiftning (ketoacidosis) som inträffar när stora mängder ketoner friläpps i blodet då kroppen använder fett istället för kolhydrater som energikälla. Detta är ett tecken på insulinbrist, då blodsockerhalten blir för hög. Insulinchock är det motsatta, då insulinmängden blir för hög och blodsockerhalten alldeles för låg, vilket kan medföra att hjärnan får energibrist. I värsta fall leder detta till kramper och medvetslöshet. Mer långsiktiga komplikationer innefattar problem med flera andra vitala delar av kroppen såsom hjärta, njurar och ögon då höga blodsockervärden under längre tid skadar kapillärer och nerver. Många hypoteser kring varför denna målinriktade autoimmuna respons sker har presenterats med den gemensamma nämnaren att det anses vara en invecklad kombination av genetisk känslighet och miljöfaktorer som utlöser ett utbrott av sjukdomen (<http://www.barndiabetesfonden.se/> 2014, Owen *et al.* 2013).

Vårt adaptiva immunförsvaret består av två former av vita blodkroppar, lymfocyter, kallade B- och T-celler vars uppgift är att skydda oss från patogener. Patogener definieras som organismer, till exempel virus, svampar och bakterier, vilka kan framkalla sjukdomar hos människor (Owen *et al.* 2013). De två lymfocyterna bär på antigenreceptorer som känner igen specifika antigener, en substans hos en patogen, som triggar igång B- och T-cellerna vilka då förstör den främmande organismen, till exempel genom att bilda antikroppar. Vid studier av diabetes typ 1 är det främst T-cellerna som är intressanta. Det finns två typer av T-celler, hjälpar T-celler och cytotoxiska T-celler, och det är de senare som kan initiera apoptos hos  $\beta$ -cellerna (Kindt *et al.* 2007).

En specifik region av gener kallad det humana leukocyt-antigenkomplexet (eng. human leukocyte antigen complex, förkortas HLA) har identifierats som den genetiska faktorn med störst inverkan på om en person utvecklar diabetes eller inte. Denna genregion, tillsammans med andra, styr bland annat över antigenpresentation, autoreaktiva T-cellers respons och  $\beta$ -cellers autoimmunitet, alla tre områden starkt kopplade till diabetes typ 1. Dock utvecklar långt ifrån alla som bär på den genetiska mottagligheten diabetes. Möjliga förklaringar till det är miljöns inverkan och effekt som inducerare av sjukdomsförloppet. Många olika miljömässiga faktorer har diskuterats som eventuella utlösare (Xie *et al.* 2014). Jag vill undersöka den reaktionsväg genom vilken specifika varianter av HLA kan inducera sjukdomen och de miljöfaktorer, främst virus, som även spelar in. Själva sjukdomsförloppet innebär att immunförsvaret bryter ner de insulinproducerande delarna i de Langerhanska öarna i bukspottkörteln. Jag kommer därför även utforska hur det går till när T-cellerna angriper och initierar apoptos hos  $\beta$ -cellerna.

Syftet med denna uppsats är att undersöka vad vi idag känner till om orsakerna till den här sjukdomen samt mekanismerna bakom den autoimmuna nedbrytningen av  $\beta$ -cellerna. För att förstå detta är det viktigt att först förstå grundmekanismerna hos vårt immunförsvaret. Uppsatsen kommer därför börja med att kort beskriva vårt immunförsvaret innan den går vidare till att behandla de områden jag valt att fokusera på, för att så gott det går besvara frågeställningen; hur uppkommer diabetes typ 1?

## Hur fungerar immunförsvaret?

För att förstå hur en autoimmun respons går till är det viktigt att förstå hur immunförsvaret reagerar på verkliga hot från främmande celler och patogener. Immunförsvaret kan delas in i två delar, det nativa- och det adaptiva försvaret. När vi diskuterar autoimmuna sjukdomar är det vårt adaptiva försvar som är av intresse. Det adaptiva försvaret känner igen speciella proteinstrukturer kallade antigener hos patogener med hög specificitet och kan skilja på många miljoner strukturer hos främmande antigener. Det är även ansvarigt för det immunologiska minnet, vilket är den egenskap som bidrar till vår förmåga att utveckla immunitet mot vissa sjukdomar. En grundförutsättning för att det adaptiva försvaret ska fungera är att det klarar av att skilja kroppsegna protein från främmande protein och det är när denna essentiella funktion inte fungerar som autoimmuna sjukdomar så som diabetes typ 1 utvecklas. Huvudkomponenterna i vårt adaptiva försvar är B- och T-lymfocyter samt antigenpresenterande celler (APC) (Kindt *et al.* 2007).

### B-lymfocytens uppbyggnad och funktion

B-lymfocyter, även kallad B-celler, bildas och mognar i benmärgen och på deras membran sitter antigenbindningsreceptorer, så kallade antikroppar. Antikroppar är glykoproteiner bestående av fyra polypeptid kedjor, två identiska tunga kedjor sammankopplade med två identiska lätta kedjor via disulfidbindningar. Dessa antigenreceptorer är ytterst specifika. När ett antigen binder till sin receptor leder det till att B-cellen delar sig och differentierar till minnesceller samt effektorceller kallade plasmaceller. Minnescellerna är, som deras namn avslöjar, viktiga för vårt immunologiska minne, medan plasmacellerna producerar enorma mängder antikroppar vilka sekreteras. Genom att binda till antigener ger dessa antikroppar upphov till att patogenen förstörs. Detta kan ske genom att fagocytiska celler uppslukar dem, att de lyseras eller att deras virala eller toxiska egenskaper neutraliseras (Kindt *et al.* 2007).

### T-lymfocytens uppbyggnad och funktion

T-lymfocyter eller T-celler som de också kallas, fungerar i stora drag på liknande sätt som B-cellerna. De bildas i benmärgen men får sedan mogna i tymus, en körtel belägen högt upp i bröstkorget, där membranbundna antigenbindningsreceptorer utvecklas. Dessa kallas ofta T-cell receptorer (TCR). Man har definierat två typer av T-celler, T-hjälparceller (Th-celler) och cytotoxiska T-celler (Tc-celler) vilka kan skiljas från varandra med hjälp av de olika glykoproteiner de uttrycker på sitt membran. Th-celler uttrycker i regel glykoproteinet CD4+ medan Tc-celler har glykoproteinet CD8+ på ytan. Till skillnad från B-cellerna som känner igen fria antigener, så känner TCR bara igen antigener om de är bundna till ett cellmembranprotein kallat histokompatibilitetskomplexet, (eng. major histocompatibility complex, MHC). Även MHC är ett membranbundet glykoprotein vilket kan delas in i två klasser. MHC-molekyler av klass 1 kan uttryckas av i princip alla celler med kärna och känns igen av Tc-celler medan MHC-molekyler av klass 2 bara uttrycks av APC och känns igen av Th-celler. Exempel på APCs är makrofager, B-lymfocyter och dendritiska celler (Kindt *et al.* 2007).

När ett antigen presenterats för Th-celler svarar dessa genom att producera och släppa ut cytokiner vilka i sin tur aktiverar B-celler och cytotoxiska T-lymfocyter (CTLs), vilka har toxiska och celledödande egenskaper, samt många andra delar av immunförsvaret. När Tc-celler stöter på och känner igen klass 1 MHC-molekyler bundna till ett antigen utvecklas även de till CTL-celler (Kindt *et al.* 2007).

### Regulatoriska T-celler

En tredje viktig typ av T-celler är de regulatoriska T-cellerna, Treg. Dessa uttrycker

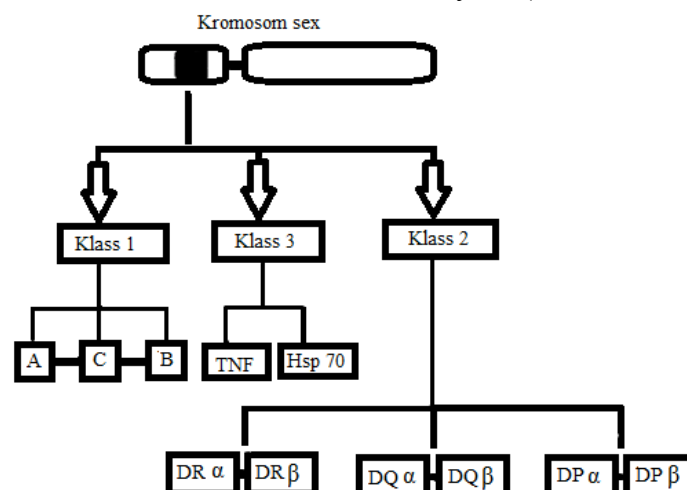
glykoproteinerna CD4+ samt CD25 på sina membran. Till motsats mot Th- och Tc-cellerna undertrycker de här T-cellerna immunresponsen och fungerar således som regulatorer för uttrycket av de andra T-cellerna. Det är av yttersta vikt att detta system tillsammans med andra regulatoriska moment fungerar som det ska, annars ökar risken att T-cellerna börjar känna igen kroppsegna celler som möjliga hot, vilket är precis vad som händer då autoimmuna sjukdomar uppkommer. Defekter i den regulatoriska funktionen hos Tregs har kunnat kopplas till diabetes typ 1 (Tan *et al.* 2014).

## Genetisk sårbarhet

Den generella teorin kring uppkomsten av T1D är att det orsakas av en kombination av genetisk sårbarhet och miljöpåverkan. Vad gäller den genetiska aspekten har uppemot 50 olika regioner i vårt genom identifierats med kopplingar till T1D (Xie *et al.* 2014). De gener med högst mottaglighet för T1D och som är överlägset mest studerade är alla belägna i HLA-regionen, också kallad MHC. Detta anses vara den viktigaste regionen i vårt genom med avseende på infektioner, autoimmunitet samt vårt immunförsvar (Horton *et al.* 2004, Nejentsev *et al.* 2007) och är därav det locus som här kommer att behandlas närmare.

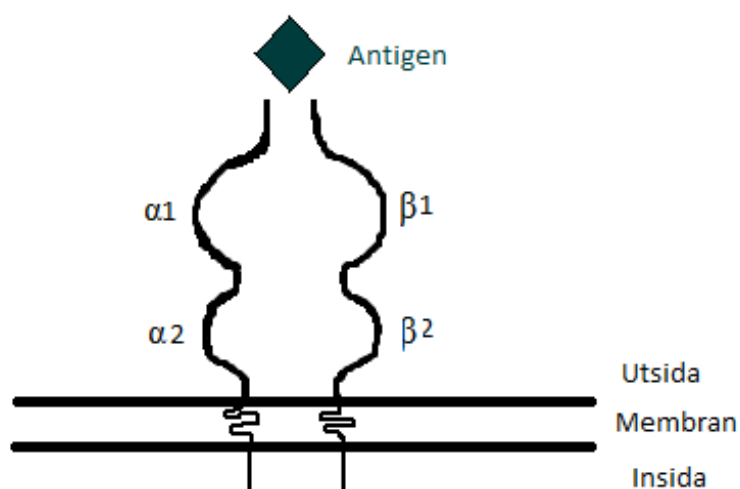
## Klassuppdelning och genprodukter av HLA-regionen

HLA anses vara den genregion med störst koppling till T1D. Namnet kommer från att den första genprodukten från den här regionen observerades på ytan av leukocyter och således kallades leukocytantigener. Genregionen är belägen på den korta armen på kromosom sex och innehåller ca 200 gener. HLA-regionen är den mest polymorfa genregion man känner till hos människan, där stora skillnader finns mellan individer (Trowsdale 2002). Man uppskattar att 40 % av de gener som uttrycks i HLA har immunsystemfunktioner (Beck *et al.* 1999,) med primär uppgift att skydda oss mot patogener. HLA-generna delas in i tre regioner, klass 1, klass 2 och klass 3 (Figur 1). Klass 3 kan delas upp i två genkluster, tumörnekrosfaktorklustret (eng. tumor necrosis factor cluster, TNF) som kodar för tre cytokiner aktiva i olika inflammationsprocesser, och värmechocksprotein (eng. heat shock protein, HSP) vilka medverkar i stressinducerad signalering till immunförsvaret. Som tidigare nämnt kallas HLA-regionen även för MHC, detta eftersom klass 1 och klass 2 kodar för MHC-molekyler. (Horton *et al.* 2004, Xie *et al.* 2014).



**Figur 1.** Karta över HLA-regionen på kromosom sex. HLA-regionen delas in i tre klasser, klass 1, klass 2 och klass 3. Dessa klasser kan sedan ytterligare delas in i ett antal subklasser. Klass 3 kan delas upp i ett TNF-kluster och ett Hsp-kluster. Klass 1 och klass 2 kodar för ett antal olika MHC-molekyler. Bild modifierad utifrån Xie *et al.* (2014).

Precis som klass 3 så består klass 1 och klass 2 också av flertalet gener. Generna som kodar för klass 1 MHC-molekylerna går under namnen A, B och C och de uppträder som enkla proteinkedjor vilka presenterar antigener för CD8+ T-celler. Generna som kodar för klass 2 MHC-molekylerna kallas DP, DQ och DR, dessa genprodukter bildar heterodimerer av en alfa- och en betakedja vilka uttrycks av APC för CD4+ T-celler (Figur 2) (Kelly *et al.* 2003). HLA klass 2 är det locus som är starkast associerat med T1D och specifika kombinationer av genotyper och alleler av dessa gener antas ge upphov till sjukdomsutvecklandet (Nejentsev *et al.* 2007). Både klass 1 och klass 2 är, som tidigare nämnt, mycket polymorfa och vissa av dessa loci har över 300 olika alleler (Trowsdale 2002). Enbaspolymorfi (eng. single nucleotide polymorphism, SNP) är den vanligaste formen av polymorfism som ger upphov till denna variation, ergo finns det många enskilda baser som skiljer sig åt när man jämför olika alleler med varandra. Raderingar och insättningar (eng. deletions och insertions) förekommer också och bidrar till variationen mellan allelerna (Horton *et al.* 2004, Cordell & Clayton 2002, Erlich *et al.* 2008).



**Figur 2.** HLA klass 2 MHC-molekyl. Klass 2 MHC-molekylen består av en heterodimer av en alfa- och en betakedja som uttrycks av antigenpresenterande celler, APC. Figuren visar även vart ett antigen kan binda in. Bild modifierad utifrån Kelly *et al.* (2003).

Förändringarna i dessa gener ger följaktligen även upphov till ändringar i genprodukterna. De flesta av förändringarna i generna resulterar i variationer i proteinkedjorna hos APC som binder och presenterar antigener för T-celler. Även om man oftast pratar om T-cellernas förmåga att känna igen de peptider som bygger upp patogeners antigener, så avgörs specificiteten av den här igenkänningen även av den allelvariant av MHC-molekylen som presenterar antigenen. Antigen-peptiden och MHC-molekylen bildar ett komplex som tillsammans känns igen av T-cellen (Mason 1998). Förändringar i strukturen hos MHC-molekylerna som resultat av förändrade alleler i klass 1 och klass 2 kan alltså ha en direkt påverkan på T-cellernas igenkänningsförmåga av antigener.

### **Förändringar som leder till variation hos HLA**

HLA-komplexet tillhör en mycket föränderlig region och dessa förändringar kan ske på många sätt. Dupliceringar av delar av vårt genom är något som förekommer frekvent och är en viktig del av både sjukdomsutveckling och evolution. Man räknar med att upp emot 5 % av vårt mänskliga genom består av duplikationer (Bailey *et al.* 2002) och dessa kan leda till formationen av genkluster, något som har skett i HLA-komplexet. Gener kopplade till immunsystemet har här bildat tydliga kluster, vilka är lite för välorganiserade för att det ska ha skett helt slumpartat. Det här kan tyda på att dessa gener samevolverat eller att de måste

uttryckas tillsammans för att ge en fungerande genprodukt. Därav har flera teorier kring fördelarna av att samla just immungenerna på detta sätt presenterats. Uttrycket av gener med relaterade funktioner skulle eventuellt kunna koordineras bättre, så att exempelvis gener involverade i inflammation tack vare klustersamordningen uttrycks samtidigt och inflammationsresponsen därmed underlättas. Ett annat tydligt exempel är generna i HLA klass 2, HLA-DQalfa samt HLA-DQbeta, vilka är fysiskt sammanlänkade. Detta tryggar att de uttrycks tillsammans i adekvata mängder för att bilda fungerande heterodimerer (Figur 2) (Horton *et al.* 2004).

Något som också observerats hos HLA klass 1 och klass 2 är den höga förekomsten av pseudogener i förhållande till antalet uttryckta gener. Pseudogener är gener som är besläktade med fungerande gener men som själva har förlorat sin funktion och inte uttrycks. De är dock inte essentiella för organismens överlevnad så trots pseudogenernas dysfunktion överlever organismen. De många duplikationer observerade i klass 1 och klass 2 regionerna tror man även genererar dessa pseudogener. Anledningen till att de behålls förmodas vara att de senare kan användas för att skapa nya alleler, vilket också delvis förklarar den variation vi ser i detta locus (Beck *et al.* 1999). HLA-generna visar dessutom på stor paralogi. När duplikationer sker i genomet kan det ge upphov till paraloga kopior, det vill säga att generna fortfarande är relaterade till varandra men nya egenskaper kan utvecklas hos kopiorna. Denna diversifiering genom duplicering ger HLA-generna ytterligare ett medel för att hantera de föränderliga epitopena hos attackerande patogener (Horton *et al.* 2004).

HLA-regionen är en mycket komplex region i vårt genom som ständigt måste utvecklas i kriget mot angripande patogener. Denna extrema variation ger oss även många alleler med kopplingar till T1D, där den ena inte utesluter den andra och specifika kombinationer ibland ökar risken ytterligare för att insjukna (Cordell & Clayton 2002). Det blir än mer invecklat när man tar med i beräkningen att vissa alleler istället direkt minskar risken att utveckla T1D. När olika populationer har studerats har stora skillnader observerats vad gäller vilka gener och alleler som ökar risken att insjukna respektive vilka som minskar risken att insjukna. Stora skillnader visar sig då man jämför patienter både från olika länder och med olika etnisk bakgrund (Xie *et al.* 2014, Erlich *et al.* 2008). Fortsatta studier kring hur de olika genvarianterna medierar ökad respektive minskad känslighet samt hur de fördelar sig mellan olika populationer skulle kunna ge en början på en förklaring till den ojämna distribueringen av antal insjuknade på olika platser i världen.

### **Immunförsvarets föränderlighet**

Vårt immunförsvaret deltar i en konstant kapplöpning mot angripande patogener och står under ett starkt selektionstryck att diversifiera sig. I takt med att patogener förändrar sina externa antigener måste immunförsvaret utvecklas och skapa nya antigenreceptorer för att känna igen det nya hotet. Anledningen till den stora variation vi ser hos HLA-generna anses vara att variationen medför skydd mot sjukdomar (Beck *et al.* 1999). Kroppen lägger stora resurser på försvar vilket reflekteras av att mer än 5 % av alla de gener som uttrycks hos oss människor har att göra med immunförsvaret. Som beskrivet ovan så visar många HLA-gener, framförallt klass 1 och klass 2, på denna snabba utveckling mot patogener med sin ständiga föränderlighet. Det är på grund av det en mycket svår uppgift att koppla specifika varianter av HLA-gener till T1D då många olika kombinationer och olika alleler tycks ge upphov till samma fenotyp. T1D är också, som många andra HLA-associerade sjukdomar, en multifaktoriell sjukdom vilket betyder att den påverkas av många olika omständigheter så som ett flertal genetiska och miljömässiga faktorer (Horton *et al.* 2004).

## Miljöns betydelse som utlösare av T1D

Många upptäckter har tillsammans lett till att man började undersöka möjligheten till att miljön också påverkar utvecklingen av sjukdomen. Till dessa upptäckter hör bland annat att mindre än 10 % av de personer som har HLA-regioner känsliga för att utveckla T1D faktiskt drabbas av sjukdomen och i jämförelser gjorda mellan enägstvillingar uppträder sjukdomen i mindre än 40 % av fallen hos båda barnen. Det faktum att antalet insjuknade ökar hos populationer som förflyttat sig från en region med få incidenter till en region med betydligt fler incidenter talar också för att miljön spelar in i sjukdomsutvecklingen. (Knip *et al.* 2005, Coppieters *et al.* 2012). Det är därför minst lika viktigt att förstå vilka exogena faktorer som tillsammans med känsliga genregioner kan ligga till grund för den selektiva förstörelsen av  $\beta$ -cellerna. Läkemedel, stress, kemikalier, virala infektioner och tungmetaller är bara några exempel på miljömässiga faktorer där potentiella kopplingar till autoimmuna sjukdomar har observerats. Det har därför utvecklats hypoteser kring att mottagliga gener kan kräva en exogen utlösare för att till exempel T1D ska utvecklas (Knip *et al.* 2005, Xie *et al.* 2014). Dock vet man ännu inte exakt hur dessa miljöinducerade avtryckare influerar sjukdomsförloppet hos T1D patienter men det finns resultat som pekar ut ett antal mekanismer för hur det kan gå till. Miljön kan inducera epigenetiska modifieringar vilket är det fenomen när fenotypiska förändringar uppstår utan att genotypen förändras. Genuttrycket och cellfunktionen ändras alltså utan att DNA-sekvensen förändras. Det här kan exempelvis ske genom DNA-metylering eller histon modifieringar, två processer vilka är kopplade till reglering av transkriptionen. Man diskuterar även inverkan av molekylär mimikry som en trolig miljöfaktorprocess som kan påverka utvecklingen av T1D. Molekylär mimikry är en mekanism som baseras på att det finns strukturella likheter mellan en patogen och en autoantigen, något som observerats hos många virus (Xie *et al.* 2014).

## Virusinfektioners koppling till T1D med fokus på molekylär mimikry

Hur kan två till synes så vitt skilda saker som en viral infektion och en autoimmun sjukdom vara sammanlänkade? Även om det exakta svaret på denna fråga ännu befinner sig i en form av gråzon har många virus kunnat kopplas till T1D, däribland enterovirus, en grupp virus som orsakar bland annat förkylning och polio (<http://enterovirusfoundation.org/>, 2009). Om virus själva kan inducera den autoimmuna attacken eller om de fungerar som en katalysator i en redan startad reaktion är ännu oklart, men att virus kan spela en avgörande roll i sjukdomsutvecklingen är en allmänt accepterad teori (Xie *et al.* 2014). Man antar att virus kan påverka uppkomsten av T1D genom ett antal immunmekanismer som inkluderar bland annat störningar i utvecklingen av T-celler i tymus,  $\beta$ -cellspezifisk infektion och molekylär mimikry. Fokus kommer här att ligga på den sistnämnda mekanismen, molekylär mimikry och hur den kopplar virusinfektioner till autoimmunitet (Coppieters *et al.* 2012).

Molekylär mimikry innebär att det infekterande viruset, till exempel enterovirus, har en konformation eller aminosyrasekvens som är mycket lik en autoantigen till exempel på  $\beta$ -cellerna. Det leder till att virusets epitop, som T-celler vanligtvis känner igen, blandas ihop med epitoper på  $\beta$ -cellerna vilket ger upphov till en autoimmun respons. Varför T-cellerna inte kan känna igen och skilja de kroppsegna från de främmande epitoperna i fall som dessa kan kännas som ett ytterst grundläggande fel hos immunförsvaret. Som om det misslyckats med den mest basala av uppgifter. Men om man som Don Mason (Mason 1998) betänker det faktum att varje T-cell inte uteslutande känner igen endast ett enda antigen-MHC-komplex från en specifik patogen, utan snarare många olika antigenkomplex hamnar situationen i ett annat ljus. Det här kan tyckas motsägelsefullt då T-cellernas specificitet samtidigt är otroligt viktig för att vi ska få en korrekt respons på olika patogener och samtidigt undvika



autoimmuna attacker. Så hur går det ihop? Om det hade varit så att varje T-cell endast kände igen en unik antigen skulle immunförsvaret bli oerhört ineffektivt då väldigt få T-celler skulle finnas att hantera varje enskilt hot. Vi skulle ha en enorm variation hos T-cellerna, alla specifika för en enskild exogen peptid, men vi skulle inte ha tillräckliga kvantiteter T-celler att hantera patogenen om den väl attackerade. Den egenskap T-celler alltså besitter, att känna igen flera stycken strukturellt lika, men ändå olika, antigener kallas för krossreaktivitet och är ett viktigt utmärkande drag för T-cellerna. Den här krossreaktiviteten är en uppoffring immunförsvaret tvingats göra för att ha en chans att kunna hantera alla de icke kroppsegna molekyler det stöter på varje dag. När T-cellerna således reagerar på autoantigener, kan det delvis förklaras av krossreaktivitet. Under otursamma förhållanden när autoantigeners strukturer liknar en främmande patogen för mycket leder det till autoimmunitet på grund av den molekylära mimikry. Noteras ska dock att den övervägande största delen av de undersökningar som dessa data bygger på är gjorda på möss. Men det finns goda belägg för att tro att det fungerar på liknande sätt hos människor och en del virus som infekterar oss bär troligtvis på antigener som liknar vissa mänskliga autoantigener (Mason 1998).

En grupp virus som ofta kopplas samman med T1D är som tidigare nämnt enterovirus vilket inkluderar virusen coxsackievirus B, rotavirus samt mumps virus. I länder som Sverige och Finland, som har en hög och ökande förekomst av T1D hos barn, har antalet insjuknade i enterovirusinfektioner minskat de senaste årtionden. Det här kan uppfattas som motstridigt då denna grupp virus samtidigt påstås ha en koppling till utvecklingen av diabetes. Det kan förklaras av att om färre individer infekteras av enterovirus så kommer nivåerna av antikroppar mot detta virus att minska i populationen och till exempel inte föras över i lika stor utsträckning från mor till barn via placentan och senare via bröstmjölken. I populationer där frekvensen av enterovirus minskar har således inte barn samma grundskydd mot dessa virus vilket också ökar deras känslighet för den diabetogena effekten av enterovirus (Knip *et al.* 2005). Det här ger således en möjlig förklaring till hur frekvensen av enterovirus korrelerar mot antalet insjuknade i T1D.

I en artikel skriven av Härkönen *et al.* undersöks om enterovirus kan inducera en immunrespons som krossreagerar med  $\beta$ -cellautoantigener på grund av molekylär mimikry (Härkönen *et al.* 2002). Förstörelsen av  $\beta$ -cellerna är associerad med närvaron av autoantikroppar för många olika  $\beta$ -cellantigener, däribland glutamisk syra dekarboxylas (GAD65), insulin, tyrosin fosfatase (IA-2 och IAR) och värmechocks protein 60/65. Hos nydiagnostiserade patienter har även höjda nivåer av antikroppar mot coxsackievirus B (en typ av enterovirus) samt enterovirus RNA observerats. De här observationerna ledde till att Härkönen *et al.* undersökte den potentiella krossreaktionen mellan tyrosin fosfataseantigener och enterovirus-antigener. IA-2 och IAR är transmembranprotein som uttrycks främst på de Langerhanska öarna samt i det centrala nervsystemet och de har en sekvens i sin C-terminal som mycket liknar delar av ett protein hos enterovirus. I den här studien lyckades de bevisa att enterovirus antigener kan inducera en krossreaktion så att T-celler attackerar autoantigenerna tyrosin fosfataser. De flesta experiment gjordes *in vitro* men de erhöll likvärdiga resultat även från undersökningar gjorda på möss. Mellan 60 % och 70 % av alla nydiagnostiserade T1D patienter uppvisar antikroppar emot IA-2, vilka har sekvenser liknande vissa enterovirus. IA-2 och IAR anses därmed vara trovärdiga markörer på en autoimmun attack mot  $\beta$ -cellerna (Ellis *et al.* 1998). Den här studien stödjer därmed även den teori om att molekylär mimikry mellan virus och  $\beta$ -cellautoantigen är en trovärdig mekanism genom vilken T1D kan utlösas.

Sekvenshomologi mellan mikrober, som enterovirus, och kroppsegna antigener, som tyrosin fosfataser, är inte en ovanlig förteelse men det behöver inte alltid innebära att

immunförsvaret krossreagerar som i fallet ovan. Det har också föreslagits att molekyllär mimikry skulle vara en mekanism genom vilken virus kan trigga T-celler till att endast reagera autoreaktivt, och således omdirigeras T-cellerna från att attackera viruset självt (Harkonen *et al.* 2002). Många studier liknande den gjord av Härkönen *et al.* har gjorts, där homologi mellan olika enterovirus och antigener på de Langerhanska öarna har undersökts. Ett exempel är en studie gjord av Honeyman *et al.* då sambandet mellan rotavirus, som är en typ av enterovirus, och autoantigener på de Langerhanska öarna undersöktes. De observerade en koppling mellan rotavirusinfektioner och uppkomsten av autoantikroppar mot insulin, GAD65 och IA-2 hos barn i riskzonen för att utveckla T1D. Rotavirus innehåller ett protein kallat VP7 vilket är extremt immunogent – det framkallar alltså lätt en immunrespons. Det här proteinet i sin tur har en peptidsekvens som är mycket lik en peptidsekvens hos IA-2 samt en annan sekvens i GAD65 vilka båda känns igen av T-celler. Dessa T-celler kontrolleras i sin tur av en specifik allelvariant av HLA-DR (Honeyman *et al.* 2010). Denna studie ger således stöd till vad Härkönen *et al.* visade 2002. Molekyllär mimikry mellan immunogena peptider i olika enterovirus och homologa peptidsekvenser i autoantigener såsom IA-2 och GAD65 är en mekanism genom vilken autoimmunitet hos  $\beta$ -celler kan induceras eller ett redan startat sjukdomsförlopp förvärras.

## **T-cellmedierad förstörelse av $\beta$ -cellerna**

Efter att ha studerat vilka genetiska och miljömässiga faktorer som kan påverka uppkomsten av T1D så blir nästa steg att förstå mekanismerna genom vilka  $\beta$ -cellerna dör. Som vid många andra autoimmuna sjukdomar så leder en icke fungerande reglering av immunförsvaret till den autoimmuna förstörelsen av ett specifikt organ, i det här fallet  $\beta$ -cellerna i de Langerhanska öarna. T-celler specifika för autoantigener hos  $\beta$ -cellerna bildas även regelbundet hos friska individer, men de flesta av dessa förstörs innan de hinner lämna tymus. De som ändå tar sig förbi detta elimineringssteg kommer inaktiveras av de regulatoriska T-cellerna (Tregs). Men dysfunktioner i det regulatoriska systemet kan, som tidigare nämnt, kopplas till uppkomsten av autoimmuna sjukdomar såsom T1D (Rabinovitch & Suarez-Pinzon 1998).

När specifika alleler i HLA tillsammans med miljöstimuli, så som virus, skapar den otursamt perfekta kombinationen för oordning i immunförsvaret ges autoreaktiva T-celler en chans att ta sig förbi de regulatoriska systemen och gå till attack. Den ojämna balans som skapas mellan skadliga och skyddande delar av immunförsvaret kan då leda till apoptos vilket anses vara den troligaste formen av  $\beta$ -celldöd vid T1D, jämfört med nekros som också diskuterats som en möjlighet (Mauricio & Mandrup-Poulsen 1998).

Det finns många olika mekanismer genom vilka apoptos initieras hos utvalda celler men makrofager och T-celler anses ha det största ansvaret för processen. Många olika molekyler har även diskuterats som eventuella effektor-molekyler vid utvecklingen av T1D. Däribland cytokinerna interleukin 1 (IL-1) samt tumörnekrosfaktor alfa (TNF $\alpha$ ) (Tabell 1) såväl som fria radikaler vilka uttrycks av makrofager och T-celler. T-celler bildar även Fas-ligander och perforin. Det här kan leda till inflammation av de Langerhanska öarna, vilket kallas insulinitis, och tids nog även till apoptos av  $\beta$ -cellerna (Eizirik & Mandrup-Poulsen 2001, Lee *et al.* 2004).

## **Två huvudvägar leder till apoptos**

Apoptos, också kallat programmerad celldöd, triggas av signaler från till exempel cytokiner som startar en kaskad av reaktioner hos målcellen – kromatinkondensation, klyvning av

protein, nedbrytning av DNA med mera. Målcellen skrumpnar tillslut ihop och fagocyteras av närliggande celler utan att ge upphov till någon egentlig inflammatorisk respons till skillnad från vid nekros som leder till inflammation. Apoptos är en mycket välkontrollerad form av "självmord" som sker kontinuerligt hos många celltyper, till exempel våra röda blodkroppar. Men denna programmerade celldöd förmodas alltså även vara den mekanism genom vilken  $\beta$ -cellerna elimineras, det slutliga steget som leder till klinisk diabetes typ 1, och därmed värd att undersöka närmare (Mauricio & Mandrup-Poulsen 1998, Lee *et al.* 2004). Både CD4+ och CD8+ T-celler tycks spela avgörande roller vid nedbrytningen av  $\beta$ -cellerna men inte heller makrofager eller dendritiska celler går att bortse från då dessa förutom att agera som APC även verkar utsöndra olika effektormolekyler (Tabell 1).

Efter att T-cellerna mognat i tymus, alltså när  $\alpha$ - och  $\beta$ -kedjorna som bygger upp T-cellreceptorn syntetiserats, sker en selektion baserat på vilka T-celler som uttrycker korrekta receptorer. De T-celler med receptorer som binder med hög affinitet till kroppsegna antigener presenterade av APC i tymus kommer att rensas bort genom initiering av apoptos för att undvika autoimmunitet. T-celler som inte påvisar någon affinitet för MHC-molekyler över huvud taget är oanvändbara och elimineras också genom apoptos för att inte vara en onödig belastning för immunfösvaret. De T-cellreceptorer som känner igen icke-kroppsegna antigener kommer inte att selekteras bort utan fortsätta utvecklas och slutligen uttrycka antingen glykoproteinet CD4+ eller CD8+ (Figur 3), en process som tycks vara beroende av närvaron av vissa cytokiner (Orban *et al.* 2007). Vissa av dessa T-cellreceptorer kommer eventuellt även att vara krossreaktiva med autoantigener och således kan kroppsegen affinitet smita igenom selektionssystemet i tymus (Mauricio & Mandrup-Poulsen 1998).

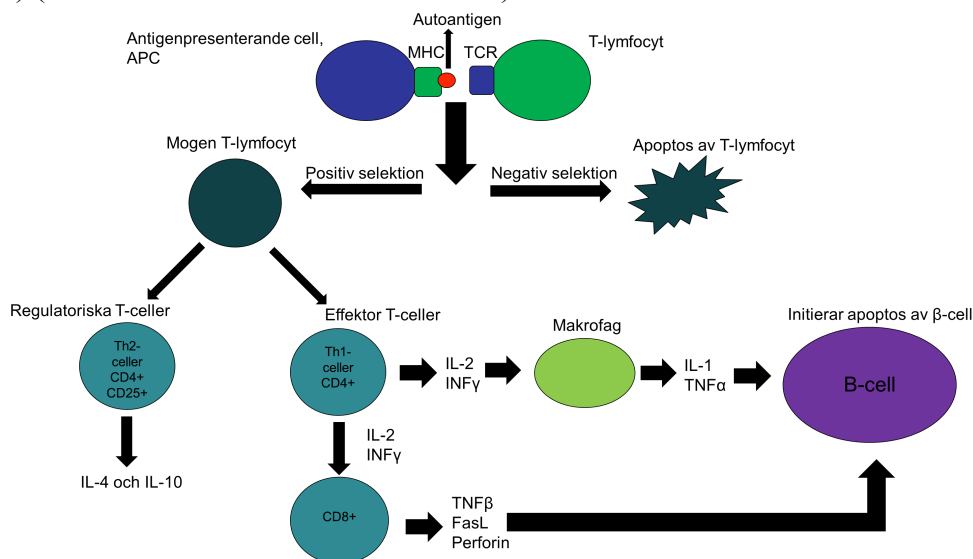
Två huvudvägar har identifierats genom vilka T-celler kan orsaka apoptos hos  $\beta$ -cellerna. En av dessa vägar är Fas-systemet vilket består av Fas-receptorer (FasR) samt Fas-ligander (FasL). Fas står för "First apoptosis signal" och FasR är ett transmembranprotein som hör till tumörnekrosfaktor-receptor-familjen (TNF). FasL uttrycks nästan uteslutande av färdigutvecklade och aktiverade CD4+ och CD8+ T-celler och de kan binda in till FasR uttryckta på målceller, till exempel  $\beta$ -celler. När FasL binder in till FasR inleds en serie av händelser som tillslut leder till apoptos genom aktiveringen av caspaser och det här systemet är förmodligen ett av flera genom vilket  $\beta$ -cellerna kan brytas ner (Mauricio & Mandrup-Poulsen 1998). En annan möjlig mekanism genom vilken  $\beta$ -cellerna kan elimineras via apoptos är med hjälp av perforin. Perforin är ett protein som binder till målcellens membran och skapar porer i det vilket möjliggör passiv diffusion över membranet. Perforin ligger packat i cytolytiska granuler hos CD8+ T-celler tillsammans med proteaset granzym, och dessa granuler släpps ut när T-cell receptorer triggas. När perforin skapat porer i målcellens membran kan granzym ta sig in i målcellen där de aktiverar nukleaser och caspaser vilket leder till apoptos (Eizirik & Mandrup-Poulsen 2001).

Många studier har gjorts för att försöka avgöra vilken av de två ovan beskrivna mekanismerna som är den huvudsakliga orsaken till  $\beta$ -celldöd. Flera av de tidigare studierna gjordes med hjälp av varierande tekniker och modeller beroende på om det var perforin-mekanismen eller Fas/FasL-mekanismen man undersökte. Det gjorde det svårt att dra slutsatser kring dessa två mekanismers relativa förhållande till varandra och allmänna påverkan i utvecklingen av T1D (Kreuwel *et al.* 1999). Men 1999 kunde Kreuwel *et al.* visa att även om båda de här apoptos-medierande vägarna är kapabla till att inducera diabetes så är perforin-mekanismen en mycket mer effektiv metod. Deras resultat pekar på att perforin är kapabelt att inducera  $\beta$ -celldöd 30 gånger effektivare än Fas/FasL, men i frånvaro av perforin kan alltså även Fas/FasL ensamt ge upphov till  $\beta$ -cellernas död. Denna slutsats stöds även av senare studier. 2006 gjorde

McKenzie *et al.* ett liknande experiment där perforin och Fas/FasL vägarna undersöktes och även de hävdar att  $\beta$ -cellerna förstörs främst via en perforin-beroende mekanism. I den alternativa vägen då Fas/FasL mekanismen framkallar sjukdomen menar de att cytokinerna  $\text{INF}\gamma$  och  $\text{TNF}\alpha$  kan fungera som uppreglerare av Fas. Viktigt att poängtera är att studierna tyder på att aktiverade T-celler, CTL, använder båda de här vägarna för att bryta ner  $\beta$ -cellerna, även om perforin tycks vara den dominerande reaktionsvägen (Kreuwel *et al.* 1999, McKenzie *et al.* 2006).

### Cytokiners roll i nedbrytningen av $\beta$ -celler

Förutom Fas-ligander och perforin anses även cytokiner ha en viktig roll i sjukdomsutvecklingen av T1D. Det här bland annat för att de kan uppreglera gener som styr till exempel bildningen av fria kväveradikaler samt Fas/FasL mekanismen, som tidigare nämnt. Vissa cytokiner uppträder även som direkt toxiska för  $\beta$ -cellerna, däribland IL-1 och  $\text{INF}\gamma$  vilka tillsammans med TNF observerats i de Langerhanska öarna *in vitro* (Thomas *et al.* 2004). Th-celler kan delas in i grupper beroende på vilka cytokiner de producerar (Tabell 1). Th1-celler bildar typ 1 cytokiner, däribland interleukin 2 (IL-2), interferon gamma ( $\text{INF}\gamma$ ) och tumörnekrosfaktor beta ( $\text{TNF}\beta$ ), medan Th2-celler bildar typ 2 cytokiner innefattande bland annat interleukin 4 och 10 (IL-4 och IL-10). Th2-cellerna fungerar som suppressorer för Th1-cellerna vilka attackerar  $\beta$ -cellerna när den här regleringen inte fungerar som normalt. Attacken mot  $\beta$ -cellerna går till så att Th1-cellerna, förutom att deras egen produktion av cytokiner är cytotoxisk för  $\beta$ -cellerna, även aktiverar andra delar av immunförsvaret såsom CTL-celler, makrofager samt fria syre- och kväveradikaler (Powrie & Coffman 1993). Detta leder slutligen till förstörelsen av  $\beta$ -cellerna, troligtvis genom att initiera apoptos. Förutom de tidigare nämnda Th1-cellerna med patogena egenskaper och Th2-celler samt Tregs med skyddande egenskaper finns en till variant kallad Th3-celler vilka utsöndrar cytokinen transforerande tillväxtfaktor beta ( $\text{TGF}\beta$ ). Två varianter av Treg-celler finns även, de som uttrycker cytokinerna IL-10 och  $\text{TGF}\beta$  samt de som direkt kan undertrycka Th1-cellerna (Figur 3) (Rabinovitch & Suarez-Pinzon 2007).



**Figur 3.** Utveckling av T-celler som leder till  $\beta$ -cell apoptos. Selektion av T-lymfocyter sker i tymus. Autoantigener presenteras av MHC-molekyler på APC vilka känns igen av T-cell receptorer (TCR). Därefter sker en selektion och vidare differentiering av T-cellerna till regulatoriska T-celler eller effektor T-celler. De regulatoriska T-cellerna uttrycker cytokinerna IL-4 och IL-10 vilka undertrycker uttrycket av Th1-cellerna. Th1-cellerna i sin tur uttrycker cytokinen IL-2 samt  $\text{INF}\gamma$  vilka aktiverar makrofager samt  $\text{CD8}^+$  T-celler. Makrofager bildar IL-1 och  $\text{TNF}\alpha$  vilka tillsammans med  $\text{CD8}^+$  T-cellernas  $\text{TNF}\beta$ , FasL och perforin initierar apoptos av  $\beta$ -celler. Bild modifierad utifrån Rabinovitch & Suarez-Pinzon (1998), Xie *et al.* (2014).

I en studie av Arif *et al.* visar de att patienter med T1D har en väldigt ojämn fördelning mellan de här olika Th- och Treg-cellerna. De uppvisar en extrem polarisation mot Th1-celler medan friska individer påvisar en betydligt högre frekvens av Treg-celler. De drar därför slutsatsen att utveckling av T1D delvis kan bero på balansen mellan Th1- och Treg-celler (Arif *et al.* 2004).

**Tabell 1.** Ett antal cytokiner, vilka celler som utsöndrar dessa samt deras respektive effekter.

Cytokin	Utsöndras av	Effekt
Interleukin 1 (IL-1)	Makrofager	Direkt toxisk, inflammation
Tumörnekrosfaktor alfa (TNF $\alpha$ )	Makrofager	Direkt toxisk, inflammation
Interleukin 2 (IL-2)	Th1-celler	T-cell och B-cell förökning och spridning
Interferon gamma (IFN $\gamma$ )	Th1-celler	Direkt toxisk, aktiverar makrofager, ökar antigen presentationen
Tumörnekrosfaktor beta (TNF $\beta$ )	Th1-celler	T-cell och B-cell förökning och spridning
Interleukin 4 (IL-4)	Th2-celler	Undertrycker Th1-celler, främjar Th2 differentiering
Interleukin 10 (IL-10)	Th2-celler, Treg-celler	Undertrycker Th1-celler, främjar Th2 differentiering
Transformerande tillväxtfaktor beta (TGF $\beta$ )	Th3-celler, Treg-celler	Inhiberar T-cell och B-cell förökning och spridning

## Diskussion

Diabetesgåtan är fortfarande ett olöst mysterium. Mycket forskning bedrivs idag för att kartlägga såväl de genetiska och miljömässiga uppkomstfaktorerna som mekanismerna bakom  $\beta$ -cellernas apoptos. Man är på god väg att förstå HLA-genernas, men även andra geners varians och association till sjukdomen. HLA-regionens starka koppling till många delar av immunförsvaret, så som bildandet av cytokiner samt utseendet på MHC-molekylerna på APC, är klart relevanta för förståelsen av T1D. Och även om mängden möjliga miljöfaktorer att studera är näst intill oöverskådlig så är dagens kunskap kring virus sannolika påverkan på T1D en viktig pusselbit.

Ett problem som uppstår i försöken att förstå T1D är att det finns många studier med motsägelsefull data, vilket leder till svårigheter att ge en övergripande förklaring till sjukdomen. Det här beror delvis på att många studier som undersöker samma saker använder väldigt olika metoder och utför försöken under olika förhållanden vilket gör resultaten svåra att jämföra (Kreuwel *et al.* 1999). De flesta studier, om de inte utförs *in vitro*, utförs på möss eller råttor som försöksdjur vilket presenterar ytterligare ett problem. Även om resultaten skulle vara entydiga så måste vi vara försiktiga med att applicera de slutsatser som dras baserat på försöksdjur eller *in vitro* studier på människor. Självklart ger de här studierna en god bild och presenterar en trolig hypotes kring vilka processer som försigår även hos

människor under sjukdomsförloppet, men de är svåra att bevisa. Att utföra liknade försök på människor är svårt att göra, dels för att eventuella etiska problem kan uppstå, men framförallt är det svårt att hitta lämpliga försöksindivider. Som tidigare nämnt så observeras symptom på T1D oftast så pass sent i sjukdomsförloppet att väldigt lite tid finns att undersöka de kroppsliga förhållanden som då råder. Ur den aspekten är det mycket fördelaktigt att använda sig av försöksdjur där sjukdomsförloppet på ett kontrollerat sätt kan observeras från början till slut. Studier gjorda för att bestämma olika geners koppling till sjukdomen utgår dock självfallet från det mänskliga genomet.

Att försöka förstå orsaken till hur T1D uppkommer är viktig forskning då ökad kunskap ger goda möjligheter till bättre behandlingsmetoder, tidigare diagnostisering och förhoppningsvis även effektiva botemedel inom en inte allt för oöverskådlig framtid. Vi måste veta bakgrunden för att kunna skapa framtiden. Förståelse kring vilka dysfunktioner i regleringen av immunsystemet samt vilka mekanismer som leder till apoptosis av  $\beta$ -cellerna måste även det ses som forskningsområden värda att prioritera. Det är svårt att hitta nya alternativa behandlingsmetoder som fungerar i längden, så som transplantation av  $\beta$ -celler, om patienten i fråga fortfarande har ett immunförsvar som aktivt förstör dessa celler. Kan vi förstå immunförsvarets autoreaktivitet på  $\beta$ -cellerna kan vi potentiellt förhindra den här aktiviteten redan när de första symptomen på T1D uppkommer, likväl som hitta bättre, i längden fungerande behandlingar och eventuella botemedel.

Även om effektivare behandlingar av T1D som resultat av forskningens framsteg är mycket välkomna så måste det allmänna målet med forskningen vara ett definitivt botemedel. T1D kostar idag samhället mycket pengar då staten står för kostnaden med att förse alla drabbade med insulin och andra livsnödvändiga hjälpmedel. Med tanke på det kraftigt ökande antalet insjuknande kommer den här kostnaden bara att stiga, vilket kan medföra påfrestningar även på andra delar av samhället. Kan däremot ett botemedel eller om möjligt vaccin konstrueras kommer kostnaderna för att ta hand om alla drabbade dramatiskt att minska.

Vad vet vi då om orsakerna till uppkomsten av T1D? Slutsaten som kan dras med den kunskap vi har idag är att individer som är på fel plats vid fel tillfälle är de som insjuknar. Bär man på de alleler som just på den här platsen i världen medierar en ökad genetisk sårbarhet för sjukdomen och samtidigt utsätts för ett tillräckligt starkt miljöstimuli, högst troligt ett virus kanske i kombination med ytterligare miljöfaktorer, så initieras sjukdomsförloppet. Vi kommer kanske aldrig förstå fullt ut hur alla dessa mekanismer hänger ihop och påverkar varandra. Men forskningen kommer med tiden garantera generera nya metoder för behandling av diabetes typ 1, så att T1D-patienter slipper leva ett liv beroende av exogena insulininjektioner och oroväckande komplikationer. Framtiden är ljus även om gåtan ännu är olöst.

## **Tack**

Tack till Anna Rosling, Åsa Mackenzie, Åsa Konradsson Geuken, Sandra Kleinau, min seminariegrupp, mina föräldrar, Anna och Håkan Granlund, samt min syster, Ulrika Granlund, för kommentarer och hjälp på vägen.

## **Referenser**

Arif S, Tree TI, Astill TP, Tremble JM, Bishop AJ, Dayan CM, Roep BO, Peakman M. 2004.

Autoreactive T cell responses show proinflammatory polarization in diabetes but a regulatory phenotype in health. *J Clin Invest* 113: 451–463.

Bailey JA, Gu Z, Clark RA, Reinert K, Samonte RV, Schwartz S, Adams MD, Myers EW, Li PW, Eichler EE. 2002. Recent Segmental Duplications in the Human Genome. *Science* 297: 1003–1007.

Beck S, Geraghty D, Inoko H, Rowen L, Aguado B, Bahram S, Campbell RD, Forbes SA, Guillaudeux T, Hood L, Horton R, Janer M, Jasoni C, Madan A, Milne S, Neville M, Oka A, Qin S, Ribas-Despuig G, Rogers J, Shiina T, Spies T, Tamiya G, Tashiro H, Trowsdale J, Vu Q, Williams L, Yamazaki M. 1999. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 401: 921–923.

Coppieters KT, Wiberg A, von Herrath MG. 2012. Viral infections and molecular mimicry in type 1 diabetes. *Apmis* 120: 941–949.

Cordell HJ, Clayton DG. 2002. A unified stepwise regression procedure for evaluating the relative effects of polymorphisms within a gene using case/control or family data: Application to HLA in type 1 diabetes. *Am J Hum Genet* 70: 124–141.

Eizirik DL, Mandrup-Poulsen T. 2001. A choice of death – the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia* 44: 2115–2133.

Ellis TM, Schatz DA, Ottendorfer EW, Lan MS, Wasserfall C, Salisbury PJ, She JX, Notkins AL, Maclaren NK, Atkinson MA. 1998. The relationship between humoral and cellular immunity to IA-2 in IDDM. *Diabetes* 47: 566–569.

Enterovirus Foundation. WWW-dokument 2009: <http://enterovirusfoundation.org/>. Hämtad 2015-11-18.

Harkonen T, Lankinen H, Davydova B, Hovi T, Roivainen M. 2002. Enterovirus infection can induce immune responses that cross-react with beta-cell autoantigen tyrosine phosphatase IA-2/IAR. *J Med Virol* 66: 340–350.

Honeyman MC, Stone NL, Falk BA, Nepom G, Harrison LC. 2010. Evidence for Molecular Mimicry between Human T Cell Epitopes in Rotavirus and Pancreatic Islet Autoantigens. *J Immunol* 184: 2204–2210.

Horton R, Wilming L, Rand V, Lovering RC, Bruford EA, Khodiyar VK, Lush MJ, Povey S, Talbot CC, Wright MW, Wain HM, Trowsdale J, Ziegler A, Beck S. 2004. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet* 5: 889–899.

Kelly MA, Rayner ML, Mijovic CH, Barnett AH. 2003. Molecular aspects of type 1 diabetes. *Mol Pathol* 56: 1–10.

Kindt TJ, Osbourne BA, Goldsby RA. 2007. *Kuby immunology*, 6. ed. W.H. Freeman, New York.

- Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyöty H, Vaarala O, Åkerblom HK. 2005. Environmental Triggers and Determinants of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 54: S125–S136.
- Kreuwel HTC, Morgan DJ, Krahl T, Ko A, Sarvetnick N, Sherman LA. 1999. Comparing the Relative Role of Perforin/Granzyme Versus Fas/Fas Ligand Cytotoxic Pathways in CD8+ T Cell-Mediated Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *J Immunol* 163: 4335–4341.
- Lee M-S, Chang I, Kim S. 2004. Death effectors of  $\beta$ -cell apoptosis in type 1 diabetes. *Mol Genet Metab* 83: 82–92.
- Ludvigsson J, barndiabetesfonden. WWW-dokument 2014-03-14: <http://www.barndiabetesfonden.se/>. Hämtad 2015-10-20.
- Mason D. 1998. A very high level of crossreactivity is an essential feature of the T-cell receptor. *Immunol Today* 19: 395–404.
- Mauricio D, Mandrup-Poulsen T. 1998. Apoptosis and the pathogenesis of IDDM - A question of life and death. *Diabetes* 47: 1537–1543.
- McKenzie MD, Dudek NL, Mariana L, Chong MM, Trapani JA, Kay TW, Thomas HE. 2006. Perforin and Fas induced by IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  mediate beta cell death by OT-I CTL. *Int Immunol* 18: 837–846.
- Nejentsev S, Howson JMM, Walker NM, Szeszkó J, Field SF, Stevens HE, Reynolds P, Hardy M, King E, Masters J, Hulme J, Maier LM, Smyth D, Bailey R, Cooper JD, Ribas G, Campbell RD, Clayton DG, Todd JA. 2007. Localization of type 1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A. *Nature* 450: 887–U19.
- Orban T, Kis J, Szerey L, Engelmann P, Farkas K, Jalahej H, Treszl A. 2007. Reduced CD4+ T-cell-specific gene expression in human type 1 diabetes mellitus. *J Autoimmun* 28: 177–187.
- Owen JA, Punt J, Stranford SA. 2013. *Kuby immunology*, 7. ed., International ed. W.H. Freeman, New York.
- Powrie F, Coffman RL. 1993. Cytokine regulation of T-cell function: potential for therapeutic intervention. *Immunol Today* 14: 270–274.
- Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. 1998. Cytokines and Their Roles in Pancreatic Islet  $\beta$ -Cell Destruction and Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Biochem Pharmacol* 55: 1139–1149.
- Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. 2007. Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes. *Cell Biochem Biophys* 48: 159–163.
- Tan T, Xiang Y, Chang C, Zhou Z. 2014. Alteration of regulatory T cells in type 1 diabetes mellitus: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 47: 234–243.
- Thomas HE, Irawaty W, Darwiche R, Brodnicki TC, Santamaria P, Allison J, Kay TWH.



2004. IL-1 Receptor Deficiency Slows Progression to Diabetes in the NOD Mouse. *Diabetes* 53: 113–121.

Trowsdale J. 2002. The gentle art of gene arrangement: the meaning of gene clusters. *Genome Biol* 3: 2002.1.

Xie Z, Chang C, Zhou Z. 2014. Molecular mechanisms in autoimmune type 1 diabetes: a critical review. *Clin Rev Allergy Immunol* 47: 174–192.

## Vad orsakar diabetes typ 1?: etisk bilaga

Louise Granlund

Självständigt arbete i biologi 2015

### När värderas en sjukdom som farlig?

Diabetes typ 1 är en sjukdom som bara blir vanligare och vanligare i Sverige, framförallt hos små barn där åldern vid insjuknande blir allt lägre. Nästan 800 barn insjuknar varje år, det är fler än 2 om dagen. Trots det är den här folksjukdomen väldigt dåligt uppmärksam i samhället i allmänhet och media i synnerhet. Om man jämför allmänhetens medvetenhet och kunskap kring sjukdomar som cancer eller hjärt-kärlsjukdomar med diabetes typ 1 syns stora skillnader. Det är självklart viktigt med kunskap kring dessa mycket allvarliga sjukdomar också, men det ena borde inte förta det andra. Diabetes typ 1 är tyvärr förknippat med många fördomar kring livsstilsval och blandas inte sällan ihop med diabetes typ 2. Barn som drabbas av diabetes typ 1 har inte fått mer godis än andra barn, rört sig mindre eller är överviktiga i en större grad, de råkar bara bära på mottagliga gener som triggats igång av den omgivande miljön.

Med tanke på den snabba ökningen av andelen barn diagnostiserade med diabetes typ 1 förtjänar den här sjukdomen betydligt mer uppmärksamhet än den får idag. En viktig sak att poängtera i detta är att trots att barncancer är en mycket allvarlig diagnos så botas idag 75 – 80 % av alla barn som drabbas. Ingen av de barn som drabbas av diabetes typ 1 blir någonsin friska igen. Det är här jag tror problemet med uppmärksamhet kring sjukdomar ligger. När värderas en sjukdom som farlig? Vem bestämmer det? Hur påverkar detta hur pengar tilldelas forskning kring olika sjukdomar? Jag tror att människor reagerar starkare och anser sjukdomar allvarligare än andra när utgången av sjukdomen antingen innebär ett totalt tillfrisknande eller att patienten avlider, vilket är fallet vid t.ex. cancer. Människor är rädda för döden så sjukdomar som direkt hotar med just det blir automatiskt läskiga. Om en sjukdom går att leva med, värderas den inte längre som lika farlig, oron trappas ner och allmänheten och media glömmar bort att den existerar. Det faktum att diabetes typ 1, förutom att vara en kronisk sjukdom, även ofta medför allvarliga komplikationer och många drabbade dör i förtid, är något som få känner till och därav glöms det bort så fort andra, direkt livshotande sjukdomar läggs på bordet. Därför behöver kunskapen kring diabetes typ 1 bli större, så att den kan tävla om forskningsresurser samt allmänhetens och medias utrymme på samma premisser som andra stora välfärdssjukdomar.

### Forskningsetik

Jag har baserat mitt arbete på originalartiklar och reviewartiklar från olika forskningsgrupper publicerade i ett antal olika tidskrifter där vissa är återkommande. Jag har även använt mig av kursböcker och pålitliga hemsidor. Det är ibland svårt att som student avgöra om artiklar beskriver tillförlitliga experiment, men av vad jag kunnat avgöra så är mina källor trovärdiga, mycket för att många artiklar tar upp och beskriver liknande processer vilket gör att de ger stöd för varandra. Hela uppsatsen stöds av referenser förutom diskussionen då mina egna slutsatser och åsikter sammanfattar texten.