



Anticorps anti-ZNT8 dans le diabète de type 1

GEAI COLLOQUE 2014

Anticorps anti-ZnT8 : leur découverte

Recherche de nouveaux antigènes cibles/ anticorps « classiques » DID type 1

ICA: anti-îlots de Langerhans

GAD65: anti-glutamate décarboxylase

IA-2: anti-tyrosine phosphatase/insulinoma associated protein-2

IAA: anti-insuline

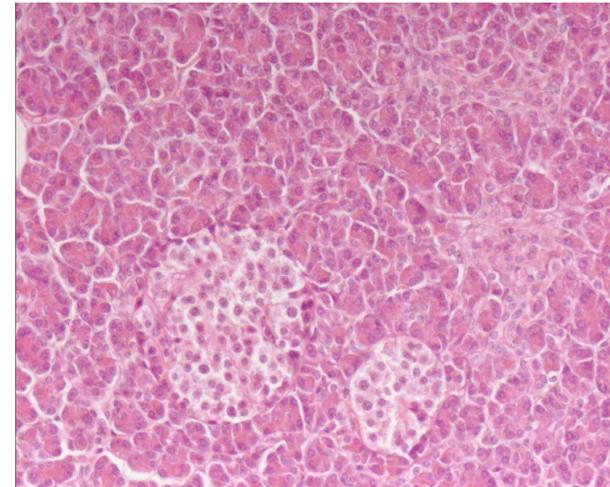
Etude d'expression d'ARNm par microarray

*Extrait de Pancréas humain ou des cellules β isolées

*Screening de sérums de patients DID1 récents ou en pré-diabète



68 gènes candidats



The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes

Wenzlau et al. PNAS 2007;104:17040-5.

Anticorps anti-ZnT8 : leur découverte

68 gènes candidats (GAD65, insuline, IA2)



SLC30A8 (Zinc Transporter-8)



Test de radioimmunoprécipitation / peptides de ZNT8 (N et C terminal)



sérums de patients DID1 récents ou en pré-diabète

Ac anti-ZNT8+ : 60-80%

The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes

Wenzlau et al. PNAS 2007;104:17040-5

Cible des autoanticorps anti-ZnT8 = Zinc Transporter-8

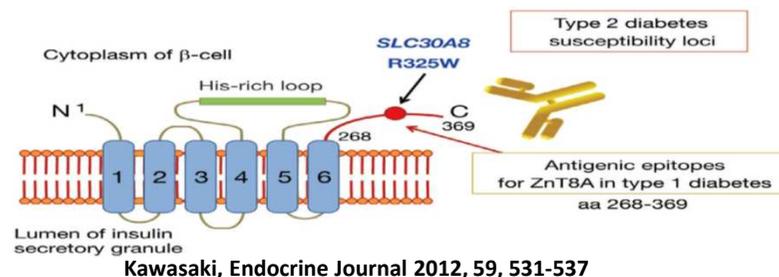
Protéines transporteurs des cations

6 domaines transmembranaires, 496 AA, 54 kDa

Gène SLC30A8 Polymorphisme codon /AA 325

+s isoformes de protéines/3 variants : **Arginine (R) 325, Tryptophane (W) 325 and Glutamine(Q) 325**

Andersen et al. Pediatr Diabets 2012 13 :454-62



Expression forte : membrane des granules de sécrétion contenant l'insuline dans les cellules β

Expression faible: lymphocytes, tissu adipeux sous cutané, cellules pancréatiques α

Rôle: Prise en charge intravésiculaire du zinc

Rôle du zinc: synthèse, stockage et sécrétion d'insuline

→ cristallisation de l'insuline sous forme d'hexamères : 6 molécules fixées au milieu par une molécule de Zinc

* Diminution d'expression de ZnT8 :

diminution de la capture du zinc exogène, réduction du stock cellulaire d'insuline,
diminution de la sécrétion d'insuline en réponse à un stimulus hyperglycémique

Down regulation of ZnT8 expression in INS-1 rat pancreatic beta cells reduces insulin content and glucose-inducible insulin secretion Fu Y et al, PLoS One, 2009; 25 ;4

*Effet anti-oxydant et anti-apoptotique: rôle protecteur sur le pancréas

Intérêt diagnostique des anticorps anti-ZnT8

- * **60-80 %** des patients **DID type 1**
- * **86-94 %** : + 2 autres anticorps « classiques »: anti-GAD, IA2, insuline
- * **98 %**: 4 anticorps positifs
- * **26%** des sujets jeunes **sans** ICA ni ac anti-GAD, anti-IA-2, anti-insuline

- * **Détectés à partir de l'âge de 2 ans**

- * Taux des ac anti-ZNT8 : peut augmenter jusqu'à la date du diagnostic
peut diminuer rapidement dans les mois suivants le diagnostic

Intérêt diagnostique des anticorps anti-ZnT8

*Phénotypes cliniques différents DID type 1

-plus jeune âge

-déficit en insuline plus sévère

-marqueur pronostique de l'insulinosécrétion résiduelle

Positivité et taux de certains variants des ac anti-ZnT8 (R et Q) significativement associés aux taux de peptide C stimulé à 3, 6, 12 mois

***10 à 43 % patients atteints de diabète de type lent ou LADA (latent autoimmune diabetes in adults)**

Intérêt prédictif des anticorps anti-ZnT8 et DID type 1

Cohorte NHS (TrialNet Natural History Study of Type 1 Diabetes): 2256 patients

Recherche de sujets pouvant être inclus dans les essais de prévention du DID

Évaluation des marqueurs « anciens » classiques et nouveaux de risque de DID

***Risque de survenue d'un DID plus élevé : 31 % vs 7 %, $p < 0.001$**

incidence cumulative à 4 ans 1 seul ac classique +/- ZnT8

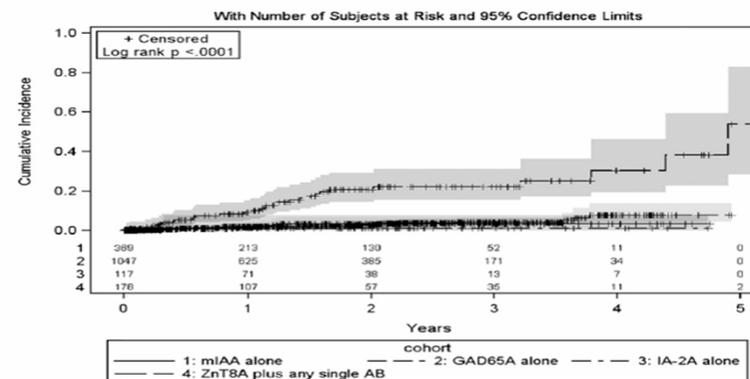


Figure 1—Cumulative incidences of diabetes in relatives positive for one standard BAA (IAA, GAD65A, or IA-2A) with or without ZnT8A. ICA⁺ relatives are excluded. The 95% confidence limits are indicated by the shaded areas. Diabetes risk was higher among ZnT8A⁺ relatives ($P < 0.0001$). mIAA, micro IAA; AB, antibody.

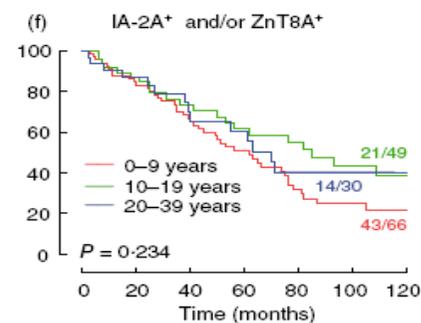
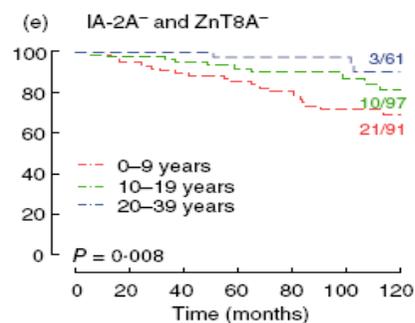
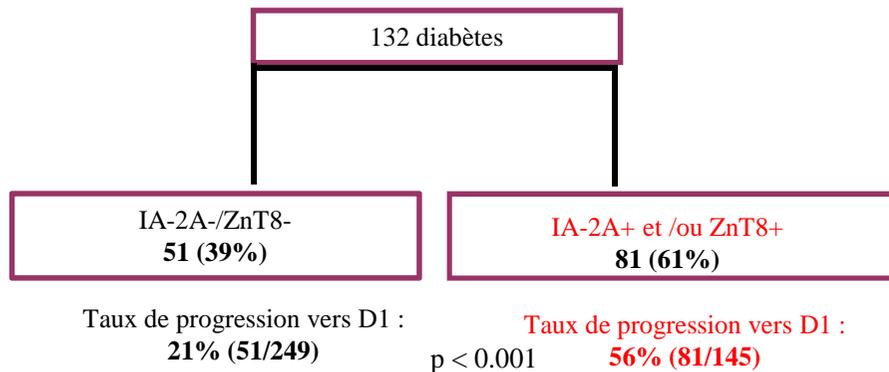
Yu L, Boulware DC, Beam CA, et al. Zinc transporter-8 autoantibodies improve prediction of type 1 diabetes in relatives positive for the standard biochemical autoantibodies. *Diabetes Care* 2012;35:1213-8.

Intérêt prédictif des anticorps anti-ZnT8 et DID type 1

***20% apparentés de 1er degré**

Registre belge du diabète : 6444 patients

**Après 63 mois de suivi médian : 394 patients avec 1 ou + ac positifs
132 /394 (34%) ont développé un diabète**



Gorus FK, et al. Screening for insulinoma antigen 2 and zinc transporter 8 autoantibodies: a cost-effective and age-independent strategy to identify rapid progressors to clinical onset among relatives of type 1 diabetic patients. Clin Exp Immunol 2013;171:82-90.

Intérêt prédictif des anticorps anti-ZnT8

Découverte dans les maladies auto-immunes associées?

Maladie coeliaque: 31%

Maladie d'Addison: 8.6%

Marqueurs prédictifs de Thyroïdites auto-immunes/ patients DID

Rogowicz-frontczak et al. Are zinc transporter type 8 antibodies a marker of autoimmune thyroiditis in non-obese adults with new-onset diabetes? Eur.J.Endocrinol. 2014 Mar 14;170:651-8.

Spécificité des anticorps anti-ZnT8

< 2 % de sujets contrôles

0 % patients atteints de Lupus

0 % patients atteints de Polyarthrite Rhumatoïde

1.4- 3 % patients atteints de diabète de type 2

Techniques de dosage

- Anticorps anti-ZnT8 dirigés majoritairement contre la **partie C terminale**
variants Arginine (R) 325 et Tryptophane (W) 325
plus rarement variant Glutamine (Q) 325
non spécifiques de ces trois variants

2 techniques de dosage utilisables en routine :

***technique de radio-immunoprécipitation**

***technique immunoenzymatique de type ELISA**

Ac dirigés contre la partie C-terminale de ZnT8 des variants Arginine (R) 325 et Tryptophane (W) 325+ ac non spécifiques de ces variants

Performances similaires de sensibilité et de spécificité de la technique ELISA vs radio-immunologique (programme IASP 2012« Islet Autoantibody Standardization Program »)

* 3eme technique

nouvelle protéine chimérique : IA2-ZnT8WR (contenant les 2 polymorphismes principaux de ZnT8)

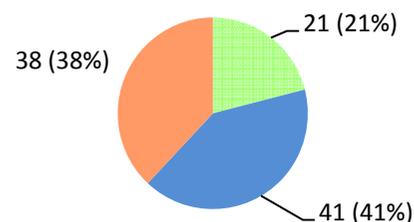
Résultats des premiers essais (Lyon)
594 patients (ac anti-GAD,IA2,ZNT8)
Technique immunoenzymatique de type ELISA
 Medizym® anti-ZnT8 (Medipan,/Eurobio) seuil +: 15 U/mL

Ac anti-ZNT8 Positifs = 143 / 594 (24%)		
ZnT8 isolés	ZnT8 + et GAD + ou IA2+	ZnT8 + et GAD+ et IA2+
35 (24,4%)	59 (41,3%) <i>+anti-GAD = 43 (73%)</i> <i>+anti-IA2 = 16 (27%)</i>	49 (34,3%)

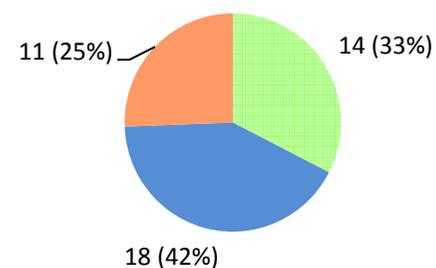
27 renseignements cliniques /35 isolés

13 diabètes type 1	48%	19-159
2 diabètes type lent (LADA)	7%	58-159
3 diabètes non classés	11%	16/47/147
3 diabètes type 2	11%	29/113/200
6 patients non diabétiques	22%	16-114

Enfants (n=100)



Adultes (n=43)



Conclusions

1. Amélioration de la sensibilité diagnostique

*DID type 1

Phénotypes cliniques ?

*LADA

2. Test prédictif: patients à risque accru de développer un DID

*Apparentés de 1er degré

*Patients /autre pathologie auto-immune associée

Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus Sacks et al. Diabetes care 2011

RECOMMENDATION: ISLET CELL AUTOANTIBODIES ARE RECOMMENDED FOR SCREENING NONDIABETIC FAMILY MEMBERS WHO WISH TO DONATE PART OF THEIR PANCREAS FOR TRANSPLANTATION INTO A RELATIVE WITH END-STAGE TYPE 1 DIABETES.

RECOMMENDATION: ISLET CELL AUTOANTIBODIES ARE NOT RECOMMENDED FOR ROUTINE DIAGNOSIS OF DIABETES, BUT STANDARDIZED ISLET CELL AUTOANTIBODY TESTS MAY BE USED FOR CLASSIFICATION OF DIABETES IN ADULTS AND IN PROSPECTIVE STUDIES OF CHILDREN AT GENETIC RISK FOR TYPE 1 DIABETES AFTER HLA TYPING AT BIRTH,

RECOMMENDATION: SCREENING FOR ISLET CELL AUTOANTIBODIES IN RELATIVES OF PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES OR IN PERSONS FROM THE GENERAL POPULATION IS NOT RECOMMENDED AT PRESENT. STANDARDIZED ISLET CELL AUTOANTIBODIES ARE TESTED IN PROSPECTIVE CLINICAL STUDIES.

Prévalence en France : 180 000 personnes (10 % des cas de diabètes)

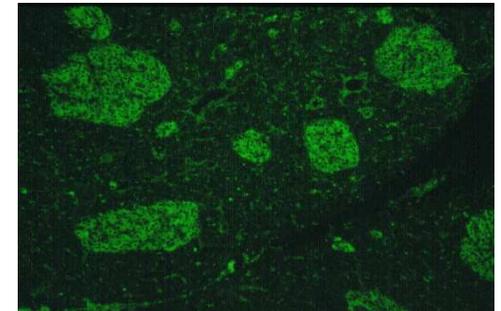
13,5 cas pour 100 000 enfants < 15 ans , Augmentation: 3 à 4 % /an depuis 20 ans

Ac anti-ZnT8 prescrits en complément du bilan initial / ac anti-GAD et anti-IA2 négatifs

Prescription en 1^{ère} intention avec autres marqueurs classiques:

Ac anti-GAD + IA2 + ICA + ZnT8?

Ac anti-GAD + IA2 + ZnT8?





Remerciements

Lorna GARNIER
Geneviève CHENARD

Magali DECHOMET
Marie-Agnès HANICOTTE
Gilles JOUVENEL
Aristide NZEUMI
Marie Pierre OTTO