

Les anticorps anti-ZnT8

Nicole Fabien^{a,*}

1. Introduction

Les anticorps anti-transporteur 8 de zinc (ZnT8), récemment découverts, ont permis d'enrichir le panel des marqueurs biologiques du diabète de type 1 (DID) i.e. les anticorps anti-glutamate décarboxylase (GAD), anti-tyrosine phosphatase ou insulinoïde associated protein-2 (IA2), anti-îlots de Langerhans (ICA) et anti-insuline [1-3]. Le dosage des anticorps anti-ZnT8 permet d'améliorer la sensibilité des dosages immunologiques classiquement prescrits dans le diagnostic du DID [1, 4-6]. Des études sont en cours pour définir leur utilité en pratique clinique courante.

2. Antigène cible

Le transporteur 8 de zinc (ZnT8) est une protéine membranaire des granules de sécrétion des cellules β des îlots de Langerhans. Cette protéine appartient à la famille des transporteurs à efflux de cations. Codée par le gène SLC30A8, elle est composée de plusieurs domaines transmembranaires [1]. En raison d'un polymorphisme génétique du codon codant pour le 325^e acide aminé, il existe plusieurs isoformes de cette protéine avec l'expression de trois variants: arginine (R) 325, tryptophane (W) 325 et glutamine (Q) 325 [7].

Le transporteur 8 de zinc assure le transport et la pénétration du zinc dans les granules d'exocytose des cellules β . Le zinc assure la stabilité de six molécules d'insuline sous forme d'hexamère et joue donc un rôle primordial dans la synthèse, le stockage et la sécrétion d'insuline par les cellules β [8]. Le zinc exerce également un rôle protecteur sur le pancréas par un effet anti-oxydant et anti-apoptotique. Il a été démontré *in vitro* que la diminution d'expression de ZnT8 entraînait une capture diminuée du zinc exogène, une réduction du stock cellulaire d'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline en réponse à un stimulus hyperglycémique [9].

3. Techniques de dosage

Les anticorps anti-ZnT8 sont dirigés majoritairement contre la partie C terminale [10]. Les anticorps décrits actuellement sont dirigés le plus souvent contre les variants arginine (R) 325 et tryptophane (W) 325, plus rarement contre le variant glutamine (Q) 325, et peuvent être non spécifiques de ces trois variants.

Il existe, à ce jour, deux techniques de dosage utilisables en routine: une technique de radio-immunoprécipitation [11] et une technique immunoenzymatique de type ELISA capable de détecter et de quantifier les anticorps dirigés contre la partie C-terminale de ZnT8 des variants arginine (R) 325 et tryptophane (W) 325, ainsi que les anticorps non spécifiques de ces variants.

Une troisième technique a été également récemment mise au point avec la synthèse d'une nouvelle protéine chimérique: IA2-ZnT8WR (contenant les 2 polymorphismes principaux de ZnT8), technique qui permet de détecter à la fois les anticorps anti-IA2 et anti-ZnT8 [12].

Les performances de sensibilité et de spécificité de la technique immunoenzymatique de type ELISA sont similaires à celles de la technique radio-immunologique de référence comme pour les anticorps anti-GAD et anti-IA2 (résultats du programme « Islet autoantibody standardization program 2012 ») [12].

4. Prévalence et spécificité

Les anticorps anti-ZNT8 sont détectés chez 60 à 80 % des patients atteints de DID. Cette prévalence peut être plus faible et ce en fonction du type de diabète, de l'âge et de l'origine de la population étudiée [1, 5, 13]. Ces anticorps ont été décrits chez 26 % de patients atteints de DID sans autre anticorps classique (GAD, IA2, ICA), ce qui a renforcé leur intérêt puisque 10 % des patients adultes en moyenne et 5 à 10 % des enfants atteints de DID ne présentent aucun anticorps classique [14, 15].

La présence simultanée des anticorps anti-GAD, anti-IA2 et anti-insuline a été décrite chez 86 à 94 % des patients atteints de DID. Si le dosage des anticorps anti-ZnT8 remplace l'un des trois anticorps précédents, la prévalence reste similaire et peut atteindre 98 % si les quatre anticorps sont positifs. Lorsque les anticorps anti-ZnT8 sont inclus en tant que quatrième anticorps, la proportion de patients atteints de DID sans anticorps diminue de 2 à 4 % [1, 5].

Concernant l'âge de survenue des anticorps anti-ZNT8, il a été démontré que les enfants suivis de leur naissance jusqu'à la date de diagnostic de DID peuvent présenter ces anticorps dès l'âge de 2 ans et le plus souvent plus tardivement que les anticorps anti-GAD ou anti-IA2.

^a Service d'immunologie – UF Auto-immunité

Centre de biologie Sud
Centre hospitalier Lyon-Sud – Hospices civils de Lyon
Chemin du Grand-Revoynet
69495 Pierre-Bénite cedex

* Correspondance

nicole.fabien@chu-lyon.fr

Le taux des anticorps anti-ZnT8 peut augmenter jusqu'à la date du diagnostic et la diminution de ce taux serait rapide dans les mois suivants le diagnostic [4, 5, 16], contrairement au taux des anticorps anti-GAD. La valeur diagnostique des anticorps anti-ZnT8 peut ainsi dépendre du délai entre le dosage des anticorps et la découverte du DID.

Concernant les autres types de diabète, leur présence a été décrite chez des patients atteints de diabète de type lent ou LADA (latent autoimmune diabetes in adults) et varie de 10 à 35 %. Ces anticorps anti-ZnT8 sont parfois les seuls anticorps présents, ce qui renforce, là encore, l'intérêt de leur dosage [7, 13, 17].

Leur prévalence décrite chez les apparentés au premier degré des patients diabétiques est de 20 % en moyenne. Les anticorps anti-ZnT8 pourraient être ainsi considérés comme un des marqueurs importants de survenue d'un DID chez les apparentés, en association au génotypage HLA et/ou au dosage des autres anticorps [11, 18-20]. Il a été récemment démontré que le risque de survenue d'un DID est plus élevé lorsque ces anticorps sont présents (31 % vs 7 %, $p < 0,001$) [11].

La valeur prédictive positive des anticorps anti-ZnT8 isolés ou en association avec les autres anticorps classiques est en cours d'étude. Pour rappel, les anticorps anti-GAD sont détectés de façon fréquente (68-80 %) mais ont une faible valeur prédictive positive de survenue de DID chez les sujets prédiabétiques, notamment quand leur taux n'est pas très élevé. Les anticorps anti-IA2 et anti-insuline ont une valeur prédictive positive plus élevée mais une prévalence plus faible (50-72 %) chez les sujets atteints de DID [1].

La présence concomitante des anticorps anti-IA2 et anti-ZnT8 est associée à un taux de progression vers le diabète augmenté, et cette combinaison serait la plus sensible pour prédire l'apparition d'un diabète et pour prédire également l'insulinorequérance [18, 21].

La recherche de ces anticorps permettrait également de déterminer des phénotypes cliniques différents car ils sont associés généralement à un âge plus jeune de survenue du DID et à un déficit en insuline plus sévère notamment chez les patients présentant des anticorps anti-GAD, IA2 et ZnT8 simultanément [10, 12]. Le taux semble plus élevé chez les patients dont le DID a été diagnostiqué plus jeune. Il a été également démontré que la positivité et le taux de certains variants des anticorps anti-ZnT8 (R et Q) sont significativement associés aux taux de peptide C stimulé à 3, 6 et 12 mois, proposant ainsi les anticorps anti-ZnT8 comme un marqueur pronostique de l'insulinosécrétion résiduelle [5].

Les premières données publiées montrent une spécificité élevée avec moins de 2 % de sujets contrôles présentant ces anticorps. Des valeurs de 1,4 à moins de 3 % sont décrites chez des patients atteints de diabète de type 2 [1, 10]. Les anticorps anti-ZnT8 ont été détectés chez 30 % de patients atteints d'autres maladies auto-immunes, souvent associées au DID, comme les maladies d'Addison, les thyroïdites auto-immunes ou la maladie coeliaque [1]; leur association avec des anticorps anti-TPO ou anti-transglutaminase a été rapportée dans 20 et 11 % des cas respectivement [22]. Ainsi, la valeur prédictive des anticorps anti-ZnT8 lors de leur découverte dans ces maladies auto-immunes doit être évaluée.

D'un point de vue pratique, le dosage des anticorps anti-ZnT8 pourrait remplacer la recherche des ICA par immunofluorescence indirecte; en effet, l'interprétation des ICA est devenue plus délicate sur pancréas de primate depuis la suppression de la commercialisation de pancréas humain (données personnelles). Des données sur de plus grandes cohortes sont nécessaires pour conforter ce choix car certains patients atteints de DID présentent uniquement des ICA [23].

5. Conclusion

Les indications du dosage des anticorps anti-ZnT8 sont :

- 1) l'amélioration de la sensibilité diagnostique du DID; il reste à déterminer, sur de plus larges cohortes, le pourcentage de diagnostics de DID qui auraient été méconnus si le dosage n'avait porté que sur les anticorps classiques;
- 2) un nouveau test de prédiction chez les patients à risque accru de développer un DID (apparentés au premier degré, patients présentant une autre pathologie endocrinienne auto-immune);
- 3) l'étude de phénotypes cliniques afin d'évaluer si le dosage doit être proposé à certaines catégories de patients, et si des différences dans l'évolution du diabète sont notables en fonction de la présence des anticorps anti-ZnT8 et de leur taux.

Les anticorps anti-ZnT8 pourraient être ainsi prescrits en complément du bilan initial lorsque les anticorps anti-GAD et anti-IA2 sont négatifs; d'autres données sont nécessaires pour proposer leur prescription en première intention avec les autres marqueurs classiques.

Déclaration d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(43):17040-5.
- [2] Bingley PJ. Clinical applications of diabetes antibody testing. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:25-33.
- [3] Schranz DB, Lernmark A. Immunology in diabetes: an update. *Diabetes Metab Rev* 1998;14:3-29.

- [4] Vaziri-Sani F, Oak S, Radtke J, et al. ZnT8 autoantibody titers in type 1 diabetes patients decline rapidly after clinical onset. *Autoimmunity* 2010;43(8):598-606.
- [5] Andersson C, Larsson K, Vaziri-Sani F, et al. The three ZnT8 autoantibody variants together improve the diagnostic sensitivity of childhood and adolescent type 1 diabetes. *Autoimmunity* 2011;44(5):394-405.
- [6] Wenzlau JM, Hutton JC. Novel diabetes autoantibodies and prediction of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep* 2013;13:608-15.

- [7] Andersen MLM, Vaziri-Sani F, Delli A, et al. Association between autoantibodies to the Arginine variant of the Zinc transporter 8 (ZnT8) and stimulated C-peptide levels in Danish children and adolescents with newly diagnosed type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2012;13:454-62.
- [8] Emdin SO, Dodson GG, Cutfield JM, et al. Role of zinc in insulin biosynthesis. Some possible zinc-insulin interactions in the pancreatic B-cell. *Diabetologia* 1980;19(3):174-82.
- [9] Fu Y, Tian W, Pratt EB, et al. Down-regulation of ZnT8 expression in INS-1 rat pancreatic beta cells reduces insulin content and glucose-inducible insulin secretion. *PLoS One* 2009;4(5):e5679.
- [10] Lampasona V, Petrone A, Tiberti C, et al. Zinc transporter 8 antibodies complement GAD and IA-2 antibodies in the identification and characterization of adult-onset autoimmune diabetes: Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) 4. *Diabetes Care* 2010;33:104-8.
- [11] 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.
- [12] Kawasaki E, Tanaka M, Miwa M, et al. Novel enzyme-linked immunosorbent assay for bivalent ZnT8 autoantibodies. *Acta Diabetol* 2013;DOI:10.1007/s00592-013-0532-4 [Epub ahead of print].
- [13] Kawasaki E. ZnT8 and type 1 diabetes. *Endocr J* 2012;59(7):531-7.
- [14] Wenzlau JM, Moua O, Sarkar SA, et al. SIC30A8 is a major target of humoral autoimmunity in type 1 diabetes and a predictive marker in prediabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1150:256-9.
- [15] Andersson C, Vaziri-Sani F, Delli AJ, et al. Triple specificity of ZnT8 autoantibodies in relation to HLA and other islet autoantibodies in childhood and adolescent type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2013; 14:97-105.
- [16] Wenzlau JM, Walter M, Gardner TJ, et al. Kinetics of the post-onset decline in zinc transporter 8 autoantibodies in type 1 diabetic human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:4712-9.
- [17] Trabucchi A, Faccinetti NI, Guerra LL, et al. Detection and characterization of ZnT8 autoantibodies could help to screen latent autoimmune diabetes in adult-onset patients with type 2 phenotype. *Autoimmunity* 2012;45(2):137-42.
- [18] De Grijse J, Asanghanwa M, Nouthe B, et al. Predictive power of screening for antibodies against insulinoma-associated protein 2 beta (IA-2beta) and zinc transporter-8 to select first-degree relatives of type 1 diabetic patients with risk of rapid progression to clinical onset of the disease: implications for prevention trials. *Diabetologia* 2010;53:517-24.
- [19] Long AE, Gooneratne AT, Rokni S, et al. The role of autoantibodies to zinc transporter 8 in prediction of type 1 diabetes in relatives: lessons from the European nicotinamide diabetes intervention trial (ENDIT) cohort. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:632-7.
- [20] Gorus FK, Balti EV, Vermeulen I, 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.
- [21] Kawasaki E, Nakamura K, Kuriya G, et al. Autoantibodies to insulin, insulinoma-associated antigen-2, and zinc transporter 8 improve the prediction of early insulin requirement in adult-onset autoimmune diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(2):707-13.
- [22] Warncke K, Fröhlich-Reiterer EE, Thon A, et al. DPV Initiative of the German working group for pediatric diabetology and the BMBF competence network for diabetes mellitus. Polyendocrinopathy in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes: a multicenter analysis of 28,671 patients from the German/Austrian DPV-Wiss database. *Diabetes Care* 2010;33:2010-2.
- [23] Andersson C, Kolmodin M, Ivarsson SA, et al. Islet cell antibodies (ICA) identify autoimmunity in children with new onset diabetes mellitus negative for other islet cell antibodies. *Pediatr Diabetes* 2013. doi: 10.1111/vedi.12093 [Epub ahead of print].