

Diabète insulino-dépendant et HLA-DQ : un modèle moléculaire de susceptibilité

Un modèle moléculaire est proposé pour le diabète insulino-dépendant (DID). Il fait jouer un rôle important à deux régions diamétralement opposées, aux deux extrémités de la cavité engendrée par les chaînes α et β de la molécule HLA-DQ. Les différentes combinaisons moléculaires sont fondées sur la présence ou l'absence de deux marqueurs : l'un susceptible (Arg 52 DQ α), nouvellement décrit, l'autre protecteur (Asp 57 DQ β), précédemment connu. Ainsi la susceptibilité à la maladie n'est pas régie par une loi du « tout ou rien » mais par une gamme de degrés de risque suivant la densité de ces molécules, la présence d'Arg 52 DQ α et l'absence d'Asp 57 DQ β conférant la susceptibilité.

Iman Khalil
Virginia Lepage
Laurent Degos
Francis Galibert
Ingeborg Deschamps
Jacques Hors

ADRESSES

I. Khalil : chargé de recherche, Inserm U.93.
V. Lepage : praticien hospitalier. L. Degos : professeur à l'université Paris VII, directeur de l'U.93 de l'Inserm. J. Hors : professeur à l'université Paris VII. F. Galibert : directeur, Cnrs UPR 41. Hôpital Saint-Louis, 1 av. C.-Vellefaux, 75010 Paris, France. I. Deschamps : chargée de recherche, Inserm U.30. Hôpital des Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75010 Paris, France.

m/s n° 3, vol. 7, mars 91

Parmi les différents gènes du système HLA situés sur le bras court du chromosome 6, ceux qui codent pour les molécules de classe II (DR, DQ, DP) jouent un rôle crucial dans la présentation du peptide, étape initiale de la réponse immunitaire. Ces molécules sont particulièrement polymorphes. Elles joueraient un rôle important dans la susceptibilité aux maladies auto-immunes.

Dans le groupe des maladies associées ou liées au système HLA [1], le diabète insulino-dépendant (DID) présente deux particularités : le risque maximal correspond à la coexistence de deux allèles différents HLA de classe II DR3/DR4 (susceptibilité) alors qu'au contraire un autre allèle, DRw15, semble avoir un effet protecteur puisqu'il est pratiquement absent chez les malades.

Les marqueurs de la susceptibilité

HLA-DR. Les études des dix dernières années ont montré que 90 à

95 % des malades diabétiques (DID de type 1) sont HLA-DR3 et/ou DR4. Le risque relatif de DID est assez faible pour les sujets possédant soit HLA-DR3 soit DR4, comme pour ceux qui possèdent ces mêmes antigènes à l'état homozygote (DR3/DR3 ou DR4/DR4). En revanche, les sujets possédant les deux marqueurs à l'état hétérozygote (DR3/DR4) ont un risque très augmenté (risque relatif ou RR = 47). Ainsi 30 % des malades atteints de DID possèdent cette combinaison contre 1 % dans la population normale [2]. Cette observation suggère que la susceptibilité est le résultat non pas d'un seul, mais de deux facteurs génétiques agissant de manière complémentaire.

HLA-DQ. L'avènement des techniques de biologie moléculaire a permis une définition plus fine des spécificités en cause et a démontré l'importance prépondérante des allèles DQ dont les loci (DQA et DQB) codant pour les chaînes α et β des molécules DQ) sont voisins des loci DR et en très fort déséquilibre de liaison avec eux.

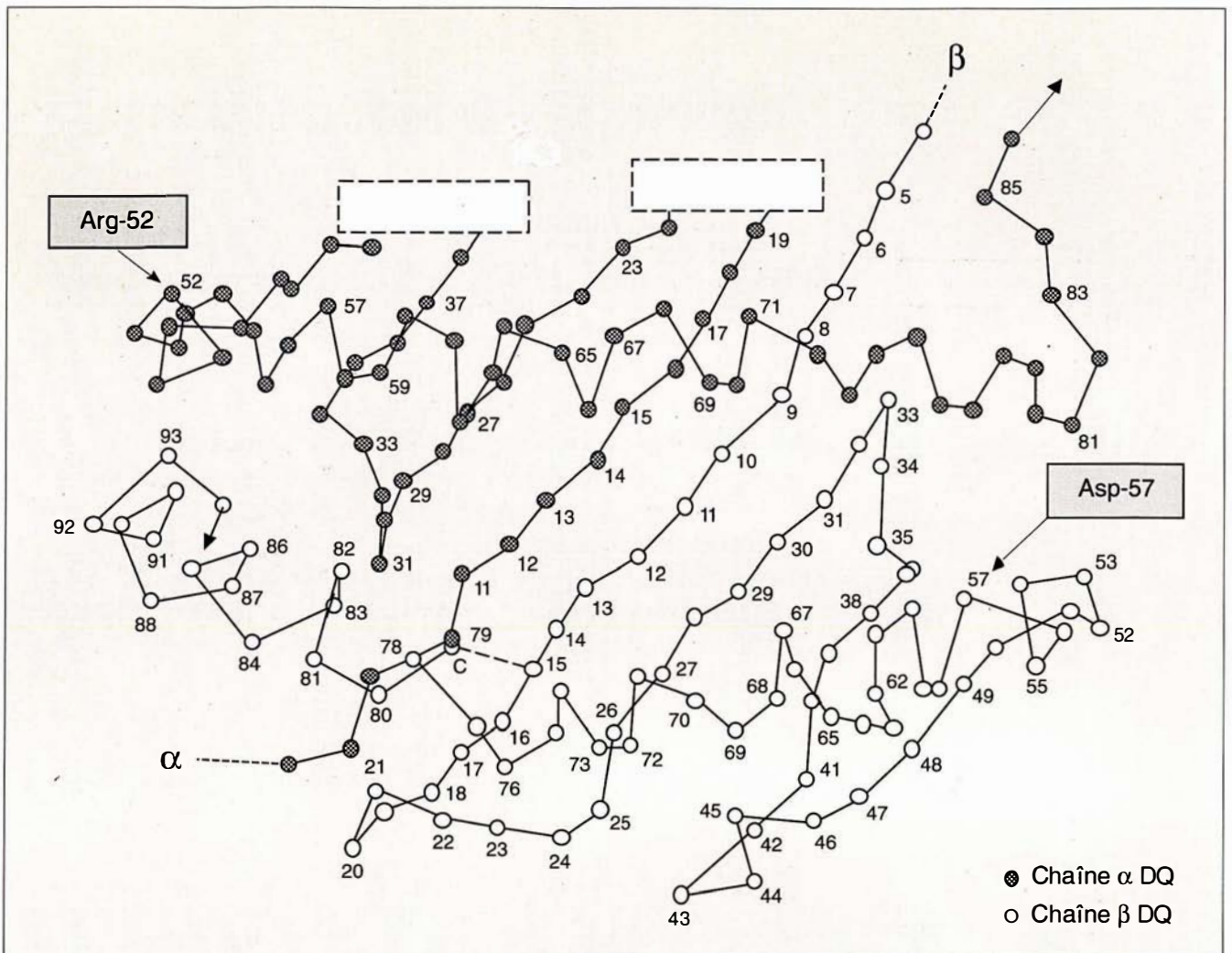


Figure 1. **Structure tridimensionnelle postulée de la molécule HLA-DQ (d'après [7]).** Les flèches indiquent la localisation des deux résidus Arg-52 (DQ α) et Asp-57 (DQ β).

La technique de fragments de restrictions polymorphes (*restriction fragment length polymorphisms, m/s supplément au n° 7, vol 3, p. 4*) a permis de distinguer, parmi les spécificités DQ classiques et définies par un typage sérologique (*m/s supplément au n° 1, vol 5, p. 22*), plusieurs sous-types dont certains seulement semblent conférer une susceptibilité à la maladie. Par exemple, DR4 peut s'associer aux allèles DQw4, w7 ou w8 ; mais l'haplotype DR4-DQw8 est retrouvé chez la quasi-totalité (plus de 90 %) des malades diabétiques DR4 positifs alors qu'il n'est présent que chez 60 à 65 % de la population générale.

La détermination des séquences nucléotidiques a permis à Todd *et al.* [3] de démontrer que la susceptibilité au DID est corrélée à l'absence de l'acide aspartique en position 57 de la chaîne HLA-DQ β . Cependant, tous les haplotypes DQB Asp 57 négatifs ne confèrent pas la susceptibilité. Par exemple, les haplotypes HLA-DR3 et HLA-DR7 sont tous deux en déséquilibre de liaison avec la spécificité HLA-DQw2 qui est HLA-DQ β Asp 57 négatif. Or, HLA-DR3-DQw2 est fortement associé au DID alors que HLA-DR7-DQw2 ne l'est pas.

De plus, l'analyse de séquences des

allèles HLA-DQ associés à HLA-DR7, et DRw9 chez les malades diabétiques d'ethnies noires, a révélé qu'ils possèdent la même chaîne DQ α que celle des malades caucasiens porteurs de HLA-DR4-DQw8. Cela suggère que d'autres gènes que DQB — et notamment HLA-DQA — pourraient être impliqués dans la susceptibilité.

Pour évaluer le rôle respectif de HLA-DQA et DQB, nous avons effectué un typage exhaustif utilisant la technique d'amplification par la Taq polymérase (PCR) suivie d'une hybridation spécifique [4]. Cela nous a permis d'identifier 8 allèles DQA et

12 allèles DQB. Par l'évaluation des fréquences alléliques de 50 malades et 73 témoins et par la comparaison de séquences correspondantes, il a été mis en évidence un marqueur de susceptibilité localisé sur la chaîne HLA-DQ α . Il s'agit de la présence de l'acide aminé arginine en position 52 [5].

Modèle moléculaire de la susceptibilité

Le modèle que nous proposons est fondé sur les conceptions nouvelles de la structure des molécules de classe II, récepteurs de l'antigène [6]. Ces molécules sont en effet des hétérodimères formés d'une chaîne α et d'une chaîne β dont les domaines extérieurs (deux hélices α) se font face, bordant une profonde cavité, site de liaison du peptide étranger de l'auto-antigène. Les régions qui sont au contact de l'antigène présentent une grande variabilité, et les acides aminés présents en certaines positions de ces régions, ainsi que leur charge (figure 1), pourraient être déterminants pour la sélection du ou des peptides effectivement liés et exposés à la surface des cellules présentatrices de l'antigène [7].

Les positions DQ α 52 et DQ β 57 sont localisées aux deux extrémités de la molécule DQ. Le modèle que nous proposons postule que la susceptibilité au DID est fondée sur la formation d'une molécule DQ composée de chaînes α et β « susceptibles » (SS, figure 2), c'est-à-dire caractérisées par l'absence de résidu aspartique en position DQ β 57 et la présence d'une arginine en position DQ α 52.

A l'inverse, la combinaison d'une chaîne DQ α 52 Arg $^-$ et d'une chaîne DQ β 57 Asp $^+$ engendre une molécule « protectrice » (PP). Les molécules formées d'une chaîne susceptible et d'une chaîne protectrice (SP ou PS, figure 2) sont supposées protectrices.

Il est important de noter ici que les molécules hétérodimères DQ peuvent se former soit en *cis* (les chaînes α et β sont codées par des gènes DQA et DQB situés sur le même chromosome), soit en *trans* (les chaînes α et β sont codées par des gènes de chromosomes différents). Par conséquent, chaque individu a la possibilité théo-

rique d'exprimer quatre molécules DQ différentes, issues des combinaisons en *cis* ou en *trans* des produits codés par les gènes DQA et DQB des deux haplotypes qu'il possède (figure 3). Dans le cas, par exemple, d'un individu possédant sur un haplotype DQ α 52 Arg $^+$ + DQ β 57 Asp $^-$, et sur l'autre DQ α 52 Arg $^-$ DQ β 57 Asp $^+$, on peut donc s'attendre à ce qu'il exprime quatre types différents de molécules DQ : SP et PS en *cis*, SS et PP en *trans* (3^e colonne de la figure 3, p. 238).

Dans l'échantillon que nous avons étudié, tous les malades ont en commun la possibilité de former une molécule « SS » que ce soit en *cis* ou en *trans*. De plus, le degré de susceptibilité à la maladie semble fonction

du nombre de molécules « susceptibles » ou « protectrices » qu'un individu est capable d'exprimer compte tenu des gènes DQA et DQB présents sur ses deux haplotypes. A partir des 4 combinaisons (2 en *cis*, et 2 en *trans*), la proportion des molécules SS, SP ou PS et PP paraît corrélée à la susceptibilité au diabète (figure 3).

Ainsi, 64 % des malades se trouvent dans la situation de pouvoir exprimer uniquement des molécules DQ de type SS. L'absence de sujets normaux dans ce cas est probablement due à un effet d'échantillonnage. On connaît, en effet, au moins une catégorie de sujets « à risque maximal » qui pourtant ne sont pas toujours atteints : il s'agit des frères ou sœurs HLA identiques à des malades

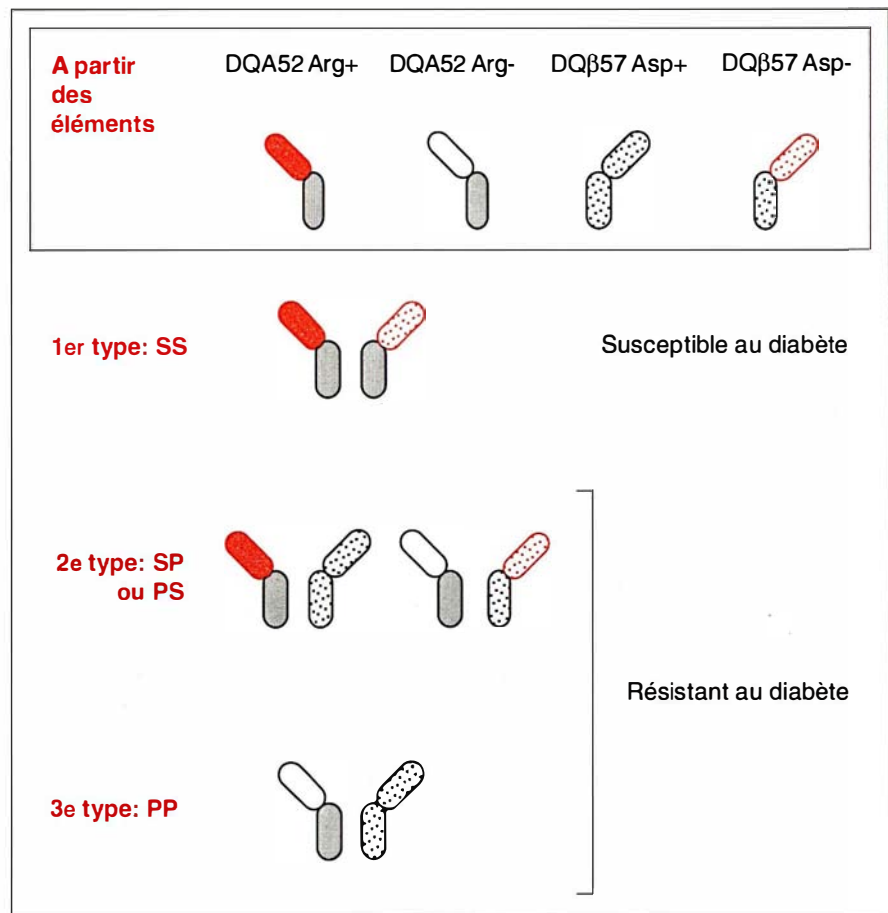


Figure 2. Types de molécules DQ à la surface cellulaire.

| Génotype | DQA DQB | DQA DQB | DQA DQB | DQA DQB | DQA DQB | DQA DQB | DQA DQB | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---------|---------|-----------------------|---------|---------|---------|---|--|
| Molécule à la surface | | | | | | | | | |
| Type SS | 100 % | 50 % | 25 % | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SP ou PS | 0 | 50 % | 50 % | 100 % | 50 % | 0 | 0 | 0 | |
| PP | 0 | 0 | 25 % | 0 | 50 % | 100 % | 0 | 0 | |
| Répartition des malades diabétiques | 64 % | 32 % | 4 % | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Répartition des sujets normaux | 0 | 18 % | 31 % | 21 % | 23 % | 7 % | 0 | 0 | |
| | Susceptibilité au diabète | | | Résistance au diabète | | | | | |
| | Légende: | | | DQA | | | DQB | | |
| | = 52 Arg+ | | | = 57 Asp- | | | | | |
| | = 52 Arg- | | | = 57 Asp+ | | | | | |

Figure 3. **Prédiction du risque en fonction des molécules exprimées à partir du génotype.**

RÉFÉRENCES

- Hors J. In : Dousset J, Pla M, ed. *HLA et maladies. HLA complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme*. Paris : Flammarion, 1989 : 298-316.
- Deschamps I, Lestradet H, Marcelli-Barge A, Poirier JC, Cohen D, Hors J. Facteurs de risque du diabète insulino-dépendant. *Pathol Biol* 1986 ; 34 : 767-72.
- Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ β gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1987 ; 329 : 599-604.
- Khalil I, d'Auriol L, Morin L, et al. Typing for HLA-DQ using oligonucleotide probes. *Nouv Rev Fr Hematol* 1990 ; 32 : 109-12.
- Khalil I, d'Auriol L, Gobet M, et al. A combination of HLA-DQ β Asp 57 negative and HLA-DQ α Arg52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1990 ; 85 : 1315-19.
- Brown JH, Jardetzky MA, Saper B, Samraoui P, Bjorkman PJ, Wiley DC. A hypothetical model of the foreign antigen binding site of class II histocompatibility molecules. *Nature* 1988 ; 332 : 845-50.
- Claverie JM. Immunologie 1989 : la révolution peptidique. *médecine/sciences* 1989 ; 6 : 367-76.
- Todd JA, Fukui Y, Kitagawa T, Sasazuki T. The A3 allele of the HLA-DQA1 locus is associated with susceptibility to type 1 diabetes in Japanese. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1094-98.
- Feutren G, Assan R, Karsenty G, et al. Cyclosporin increases the rate and length of remissions in insulin-dependent diabetes of recent onset. Results of a multicentre double blind trial. *Lancet* 1986 ; ii : 119-24.

DR3/DR4. Cependant, les trois quarts de ceux-là ne seront jamais diabétiques, suggérant l'existence d'autres facteurs génétiques ou environnementaux. Un second groupe de malades (32 %) est constitué de sujets qui ont des chances équivalentes d'exprimer des molécules susceptibles (SS) et résistantes (SP ou PS). Seulement deux malades (4 %) se trouvent dans une situation où la majorité (3 sur 4) des molécules DQ est de type protecteur (SP, PS ou PP) ; dans ce cas, cependant, un quart des hétérodimères reste de type SS. Aucun malade n'a été répertorié dans le groupe des individus n'exprimant pas de molécules SS.

Nous ignorons encore aujourd'hui les mécanismes de l'effet protecteur. Peut-être les molécules DQ α 52

Arg⁺/DQ β 57 Asp⁻ permettent-elles une présentation particulièrement efficace de peptides correspondant à des auto-antigènes des cellules β des îlots de Langerhans, ou bien à des antigènes viraux ? Ce seraient alors les résidus aux positions 52 de la chaîne α et 57 de la chaîne β , ou bien des acides aminés environnants, qui permettraient une telle interaction élective avec certains peptides.

Le modèle que nous proposons doit encore être vérifié dans d'autres ethnies. Il faut noter que le rôle important de la chaîne DQ α est déjà confirmé par des observations récentes [8] portant sur des individus japonais dont beaucoup possèdent le résidu DQ β Asp57 « protecteur » et sont pourtant atteints de diabète.

Médecine prédictive-préventive

Le modèle proposé permet de mieux définir et de dénoncer le risque de diabète suivant une échelle à plusieurs niveaux. Il suggère un mécanisme moléculaire d'affinité pour un peptide encore hypothétique qui serait anormalement présenté aux mécanismes inducteurs de la réponse immune.

Pour la première fois, un risque relatif dépassant la valeur de 100 est proposé pour le DID : 100 % des malades portent la combinaison SS contre 36/73 (49 %) chez les individus normaux. C'est le seuil empiriquement accepté pour l'indication d'un dépistage d'intérêt prédictif.

Il est certain, cependant, que les facteurs génétiques ne déterminent la susceptibilité au DID que pour une part, le risque étant dû, pour moitié, à des facteurs aléatoires environnementaux.

Il est clair aussi que la prédiction doit s'intégrer dans une éthique médicale nullement passive mais bien au contraire étroitement associée à un essai de prévention, comme cela a été réalisé dans le passé [9] ■

Remerciements

Nous tenons à remercier Hélène Bleux pour la préparation du manuscrit. Ce travail est réalisé dans le cadre de GEOD, projet MRT 88 T 0845.

Summary

Insulin dependent diabetes mellitus and HLA-DQ : a molecular model of susceptibility

Many contributions have brought evidence that the highest risk of Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) is associated, at least in caucasians, with the heterozygous combination HLA-DR3/DR4. Todd *et al.* have reported that the susceptibility to the disease correlates with the HLA-DQ β chain which is in linkage disequilibrium with HLA-DR3 and DR4 ; more precisely with the absence of aspartic acid residue at position 57 of the DQ β chain (DQ β Asp 57 negative). However, DS β Asp 57 negative haplotypes do not always confer susceptibility and conversely, some DQ β Asp 57 positive haplotypes seem to be disease-associated. Recently, we have extended this observation and postulated the probable implication of another marker : an arginine residue at position 52 of the DQ α chain. Moreover, a molecular model of susceptibility to IDDM has been proposed, based on the expression at the cell surface, in *cis* and *trans*, of a susceptible HLA-DQ heterodimer composed of a : DQ α Arg 52 positive/HLA DQ β Asp 57 negative. All other DQ α / β heterodimers are considered as protective molecules. Moreover, the degree of risk seemed to depend on the number of such « susceptible » DQ heterodimers that a subject may theoretically be able to express according to his HLA-DQA1 and DQB1 alleles.

NDLR. A propos de cet article, voir aussi le commentaire de J.F. Bach, page 287 de ce numéro.

TIRÉS A PART

I. Khalil.