

Orizzonte aperto in celiachia

Reggio Emilia, 19 maggio 2018

Il test genetico nella malattia celiaca

Vilma Mantovani

Centro Ricerca Biomedica Applicata - CRBA
Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna

La celiachia è una malattia complessa multifattoriale



**Fattori
genetici**



**Fattori
ambientali**

**Malattie complesse
multifattoriali**

**Malattie Mendeliane
monofattoriali**

**Malattie
non genetiche**

La celiachia mostra aggregazione familiare

Concordanza della malattia



| | |
|--------------------------|-----|
| Gemelli monozigotici | 80% |
| Fratelli | 16% |
| Consanguinei di 1° grado | 8% |

Rischio relativo di ricorrenza

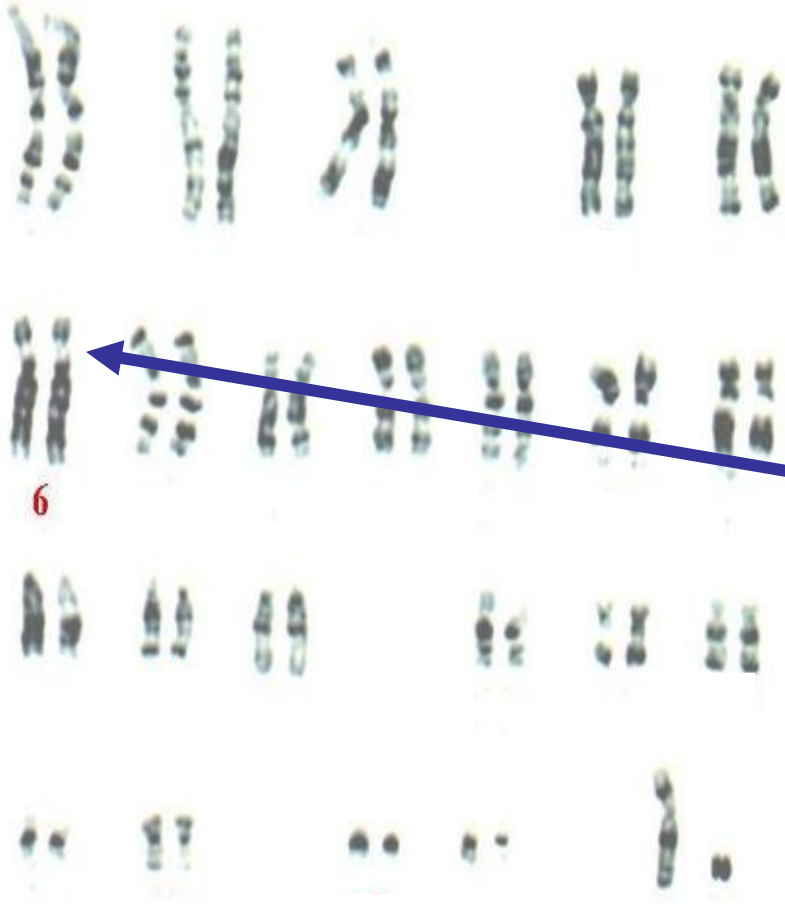
$$\lambda_S = \frac{\text{prevalenza della malattia nei fratelli}}{\text{prevalenza della malattia nella popolazione}}$$

$$\lambda_S \text{ malattia celiaca} = 20 - 60$$

$$\lambda_S \text{ diabete tipo 1} = 10 - 15$$

$$\lambda_S \text{ artrite reumatoide} = 2 - 8$$

Rischio genetico di celiachia



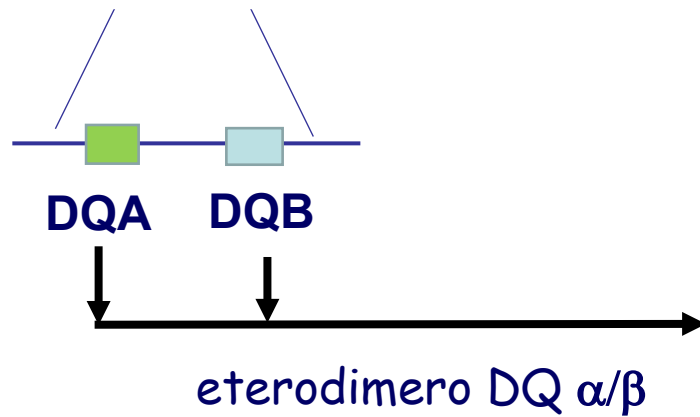
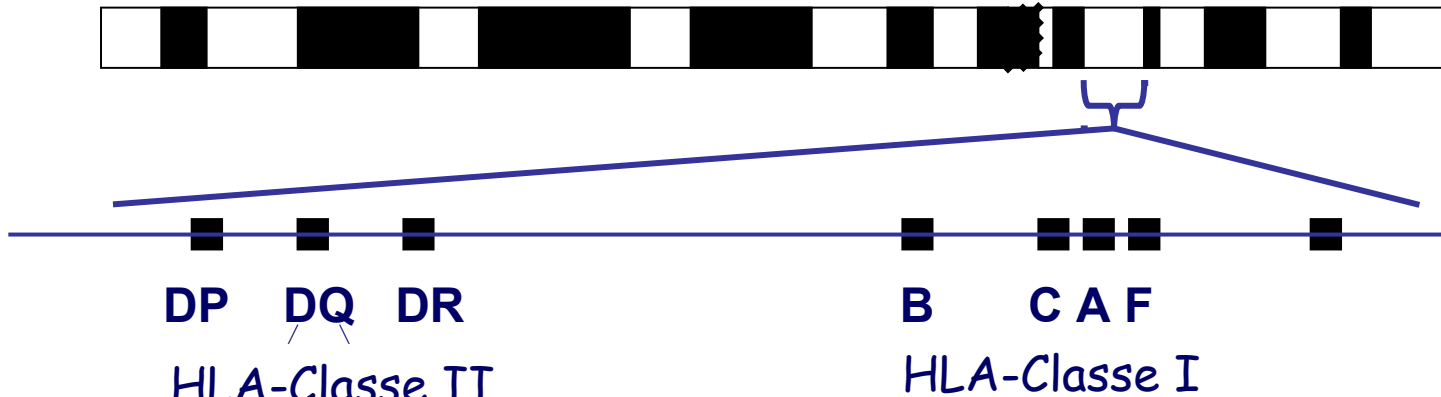
40% geni HLA

60% altri fattori genetici

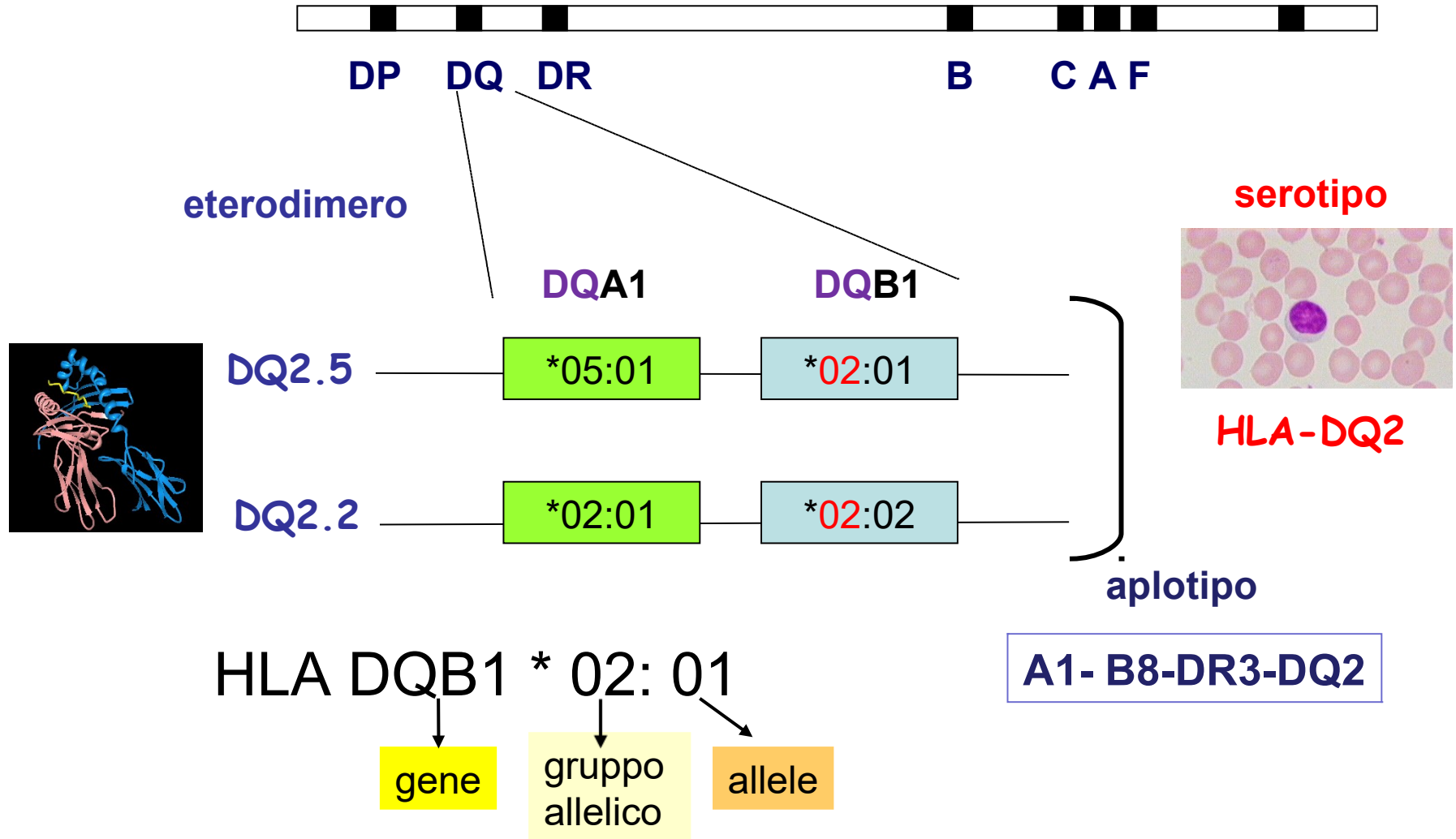
Il complesso HLA

Cromosoma 6

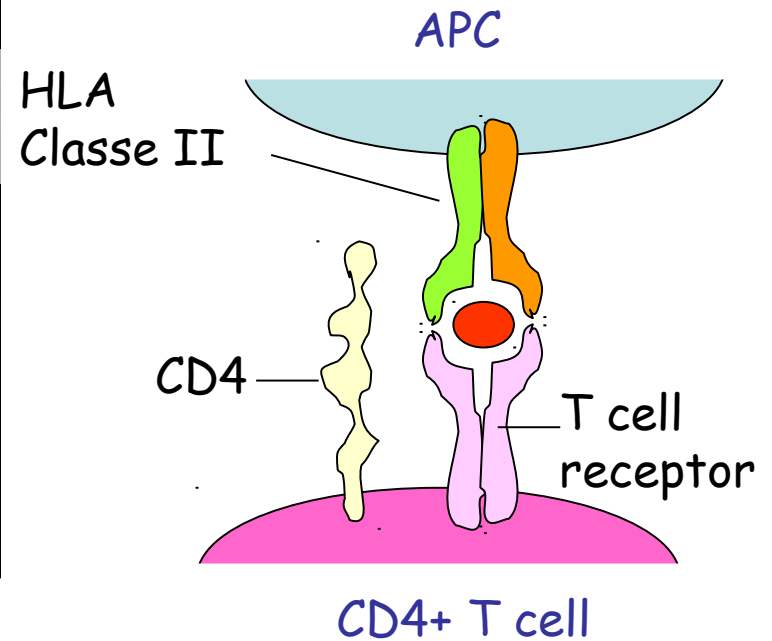
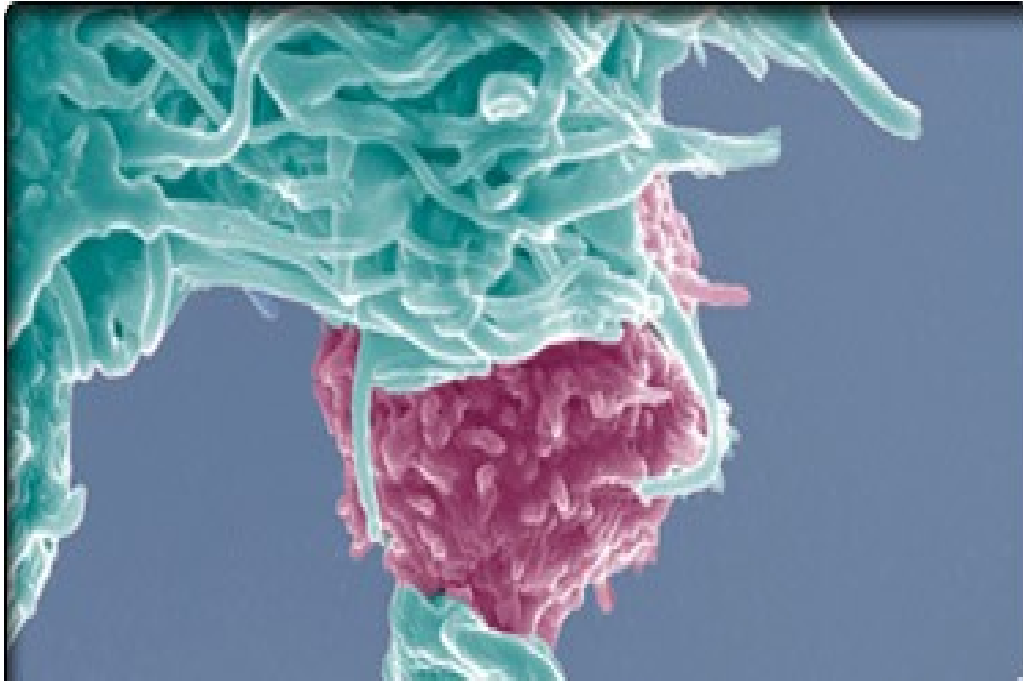
6p21.31



Nomenclatura HLA

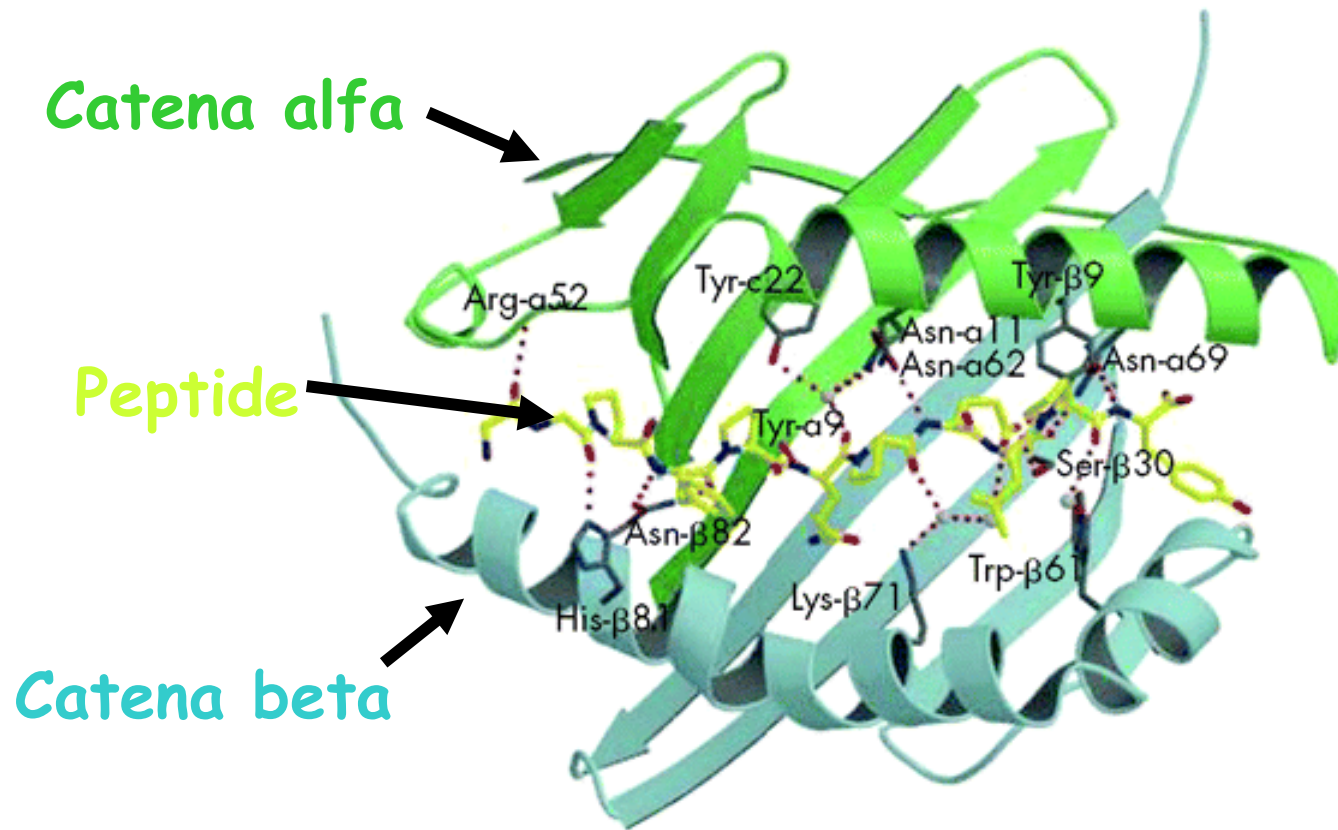


HLA: riconoscimento del "self-non self"



Cell Picture Show, 2011

Sito di binding HLA Classe II



Kim et al. PNAS 2004,101:4175

La selezione dell'HLA più adatto



La celiachia è associata ad un eterodimero HLA-DQ

- Serotipo HLA-B8 *Falchuk, 1972*
- Serotipo HLA-DQ2 *Tosi, 1983*
- Aplotipo HLA DR3-DQ2.5 *Sollid, 1989*

- Eterodimero HLA **DQ α 1*05**, **DQ β 1*02**
codificato dai geni

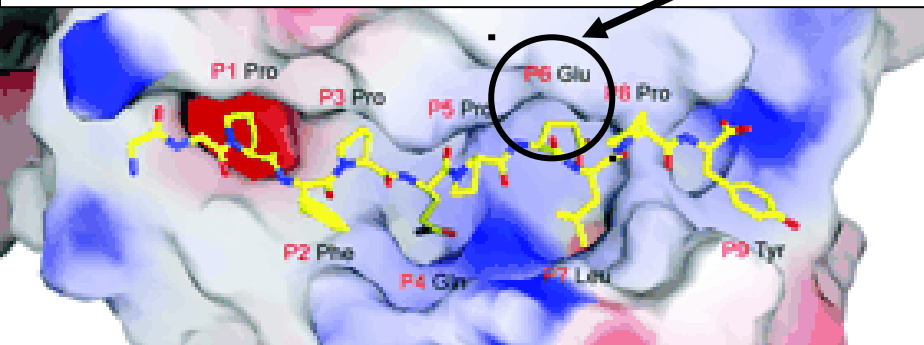
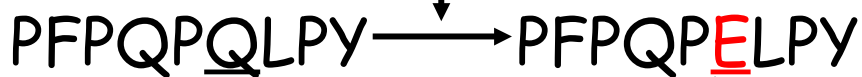
DQA1*05

DQB1*02

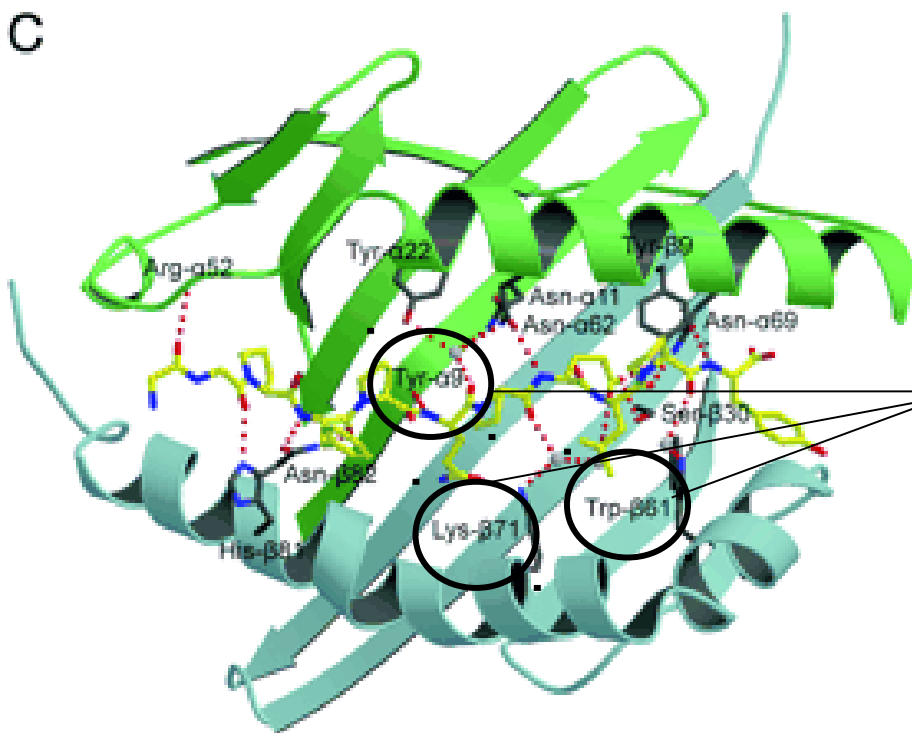
Sollid et al, 1990

Presente in oltre il 90% dei celiaci

Transglutaminasi



C



Presentazione DQ2-mediata di epitopi dell' α -gliadina

- I peptidi ricchi di proline sono resistenti a proteolisi gastrointestinale
- La gliadina deamidata (P6E) ha una affinità di binding 25x quella della gliadina nativa (P6Q)
- Il complesso gliadina-DQ2 è molto più stabile

3 ponti idrogeno con P6E

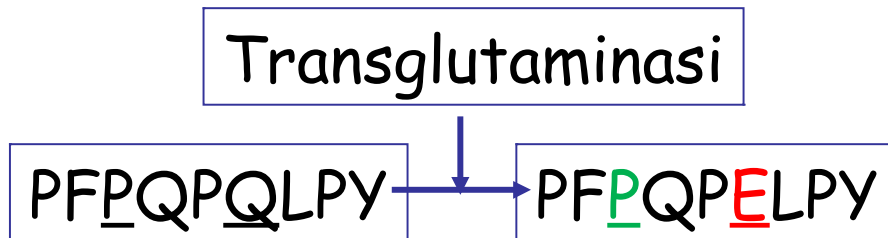
Kim et al. PNAS 2004,101:4175

Rischio differente tra eterodimero DQ2.5 e Q2.2

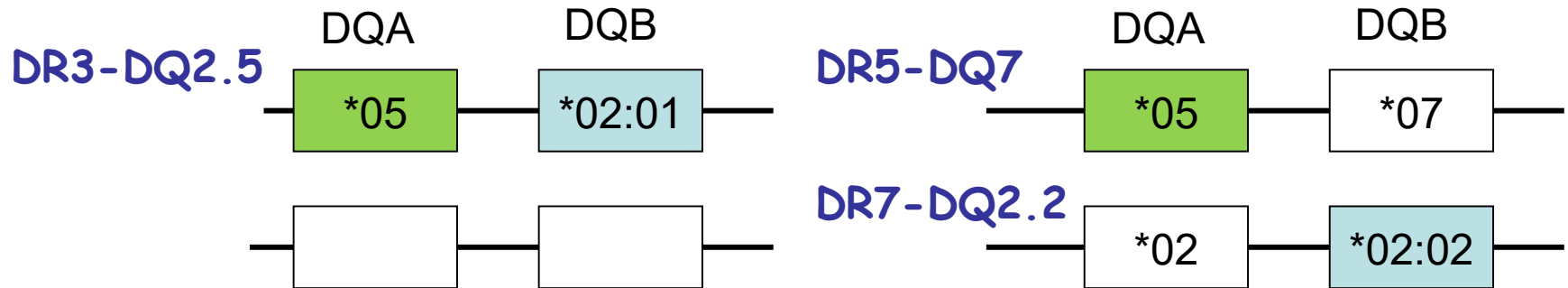


Anche se le molecole hanno *peptide binding motifs* molto simili,

- APC HLA-DQ2.5 lega il P3, mentre HLA-DQ2.2 no
- APC HLA-DQ2.5 ritiene con maggiore stabilità e più a lungo i peptidi nel sito di binding, rispetto a HLA-DQ2.2



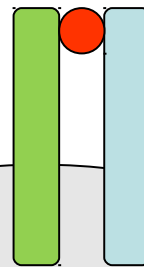
Isoforme dell'eterodimero DQ2.5



isoforma cis



α β



isoforma trans



Eterodimero DQ2.5

DQ α 1*05, DQ β 1*02

Mazzilli et al,
Hum Immunol 1992

Celiaci HLA-DQ2 negativi

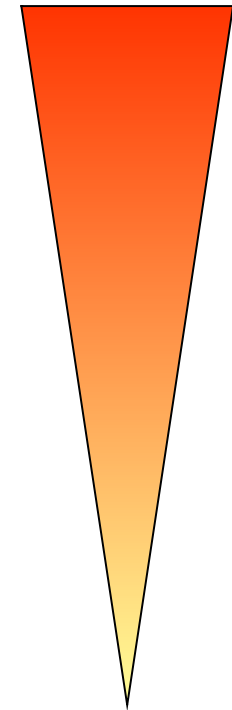
- <10% di tutti i celiaci
- Clinicamente indistinguibili
- Quasi tutti presentano
l'aplotipo DR4, DQ8 e
l'eterodimero $DQ\alpha 1^*03, DQ\beta^*0302$

Spurkland et al. Hum Immunol 1992
Mantovani et al. Clin Exp Immunol 1993

Effetto dosaggio dell'HLA

| DR | DQA | DQB | N. Eterodim |
|-------------|------------------|-----------------|-------------|
| DR3 / DR3 | *05 / *05 | *02 / *02 | 2 |
| DR3 / DR7 | *05 / *----- | *02 / *02 | 2 |
| DR3 / ----- | *05 / *----- | *02 / *----- | 1 |
| DR5 / DR7 | *05 / *----- | *----- / *02 | 1 |
| DR7 / DR7 | *----- / *----- | *02 / * 02 | 1 |
| DR4 / DR4 | *03 / *03 | 0302 / *0302 | 2 |
| DR4 / ----- | *03 / *----- | *0302 / *----- | 1 |
| DR7 / ----- | *----- / *----- | *02 / *----- | 0.5 |
| DR5 / ----- | *05 / *----- | *----- / *----- | 0.5 |
| DR--- / --- | **----- / *----- | *----- / *----- | 0 |

Rischio



Louka et al. *Tissue Antigens* 2002

Murray et al. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007

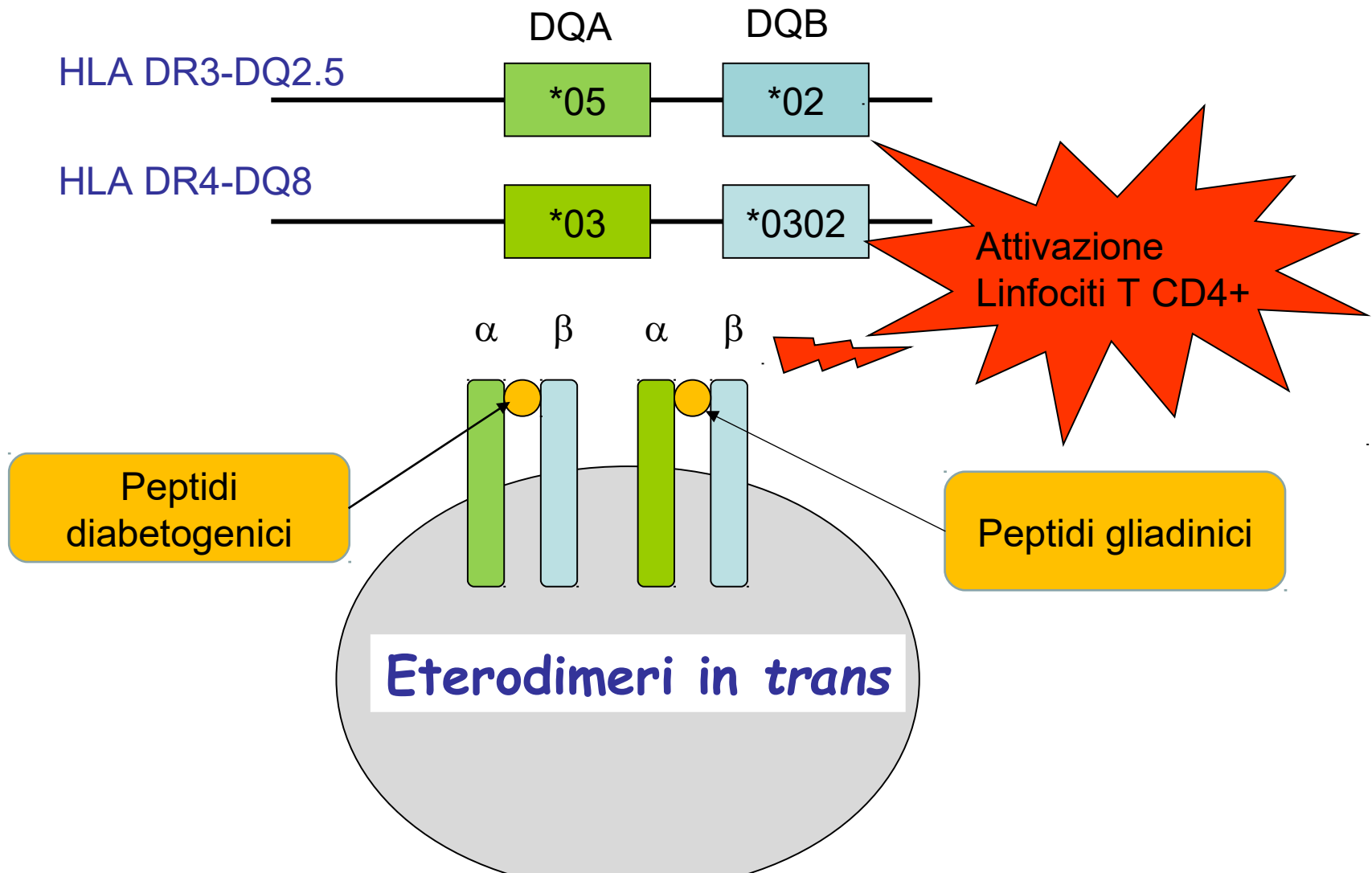
Gradiente di rischio in Italia



| HLA DR-DQ | Pazienti % | Controlli % | Rischio |
|--|---------------|----------------|-------------|
| DR3-DQ2.5 / DR4-DQ8 | 2.5 | 0.2 | 1:7 |
| DR3-DQ2.5 / DR3-DQ2.5 DR3-DQ2.5 / DR7-DQ2.2 | 23.1 | 2.4 | 1:10 |
| DR4-DQ8 / DR7-DQ2.2 | 3.0 | 0.7 | 1:24 |
| DR7-DQ2.2 / DR7-DQ2.2 | 1.4 | 0.4 | 1:26 |
| DR3-DQ2.5 / --- DR5-DQ7.5 / DR7-DQ2.2 | 55.1 | 19.2 | 1:35 |
| DR4-DQ8 / --- | 7.3 | 6.5 | 1:89 |
| DQ2 o DQ8 | 92.4 | 29.4 | 1:32 |



Eterodimeri HLA DQ2.5/DQ8 Predisponenti a DM1 e Celiachia



HLA: conclusioni

- **Oltre il 90%** dei celiaci possiede l'eterodimero HLA DQ2.5 o DQ8
- Solo in casi **rari**, possedere la sola catena β dell'eterodimero DQ è sufficiente allo sviluppo di celiachia
- C'è un **effetto dosaggio** correlato all'allele DQ β 1*02 e DQ8
- Il meccanismo di **presentazione DQ2-mediata** di epitopi dell' α -1 gliadina è stato in gran parte chiarito

HLA typing come test genetico per celiachia

Presenza di HLA DQ2.5/DQ8

Modifica molto il rischio di sviluppare la celiachia, ma **non predice** né l'insorgenza, né la severità della malattia

Solo il 3% dei positivi HLA DQ2.5/DQ8 svilupperà la malattia

Assenza di HLA DQ2.5/DQ8

Rende estremamente improbabile l'insorgenza della malattia, con un valore predittivo negativo vicino al 100%

Quasi nessuno dei soggetti privi di HLA DQ2.5/DQ8 svilupperà la malattia

Il test genetico è raccomandato

Per calcolare il rischio di ricorrenza nei parenti di 1° grado di un affetto:

- Nei fratelli si ammala 1:5 se ha l'HLA di rischio
- Nei fratelli il rischio raddoppia se l'HLA è identico all'affetto
- Nei genitori con HLA di rischio 1:20 è affetto

Per escludere la celiachia:

- In soggetti che seguono già una dieta aglutinata
- In bambini non sottoposti a biopsia

Hill et al Pediatr Gastroenterol Nutr, 2005

Megiorni et al, Hum Immunol 2009

Il test genetico è indicato

In pazienti affetti da:

- diabete mellito tipo 1 (DM1)
 - Malattia di Addison
 - Tiroidite autoimmune
-
- 8% dei pazienti con DM1 sviluppa anticorpi anti TG2
 - 33% dei DM1 omozigoti per HLA-DQ2 sviluppa anticorpi anti TG2

Possedere l'eterodimero HLA DQ2 o DQ8 costituisce condizione **necessaria**, ma **non sufficiente** all'insorgenza della celiachia

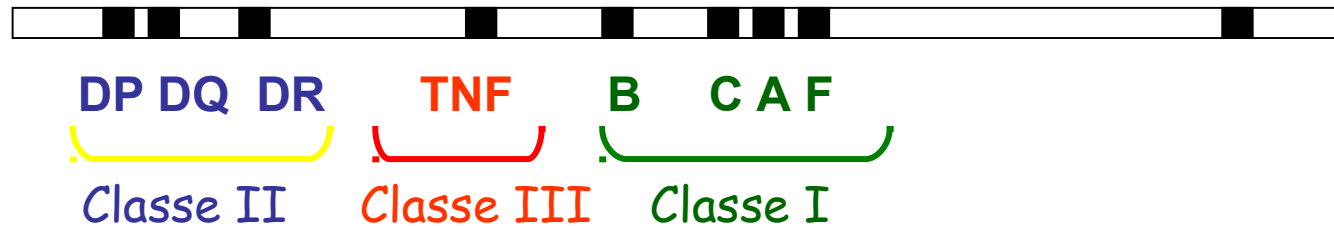
Altri loci HLA?

- DP, DRB4
- MICA, LMP2
- TAP1, TAP2
- DMA, DMB

Loci riportati associati, ma successivamente non confermati.

Associazione dovuta all'elevato linkage disequilibrium della regione HLA

Altri loci HLA



- **TNF α** : polimorfismo funzionale nel promotore di TNF2 (-308A) associato ad aumento di espressione di TNF α

Confermato in 3 studi indipendenti

- **HLA-Classe I**: 5 nuovi fattori di rischio indipendenti dal DQ identificati mediante *fine mapping* del segnale di associazione con MHC

Gutierrez-Achury, Nat Genet 2015; 47:577-8

9 loci non-HLA associati a celiachia

Studi di associazione
genome-wide (GWAS)
mediante polimorfismi
(SNPs)

| Locus | Chr. | Odd Ratio |
|----------|------|-----------|
| RGS1 | 1 | 1.41 |
| IL18RAP | 2 | 1.27 |
| CCR | 3 | 1.21 |
| IL12A | 3 | 1.34 |
| LPP | 3 | 1.21 |
| IL2/IL21 | 4 | 1.41 |
| OLIG3 | 6 | 1.25 |
| TAGAP | 6 | 1.21 |
| SH2B3 | 12 | 1.19 |

Van Heel et al, Nat Genet 2007
Hunt et al, Nat Genet 2008

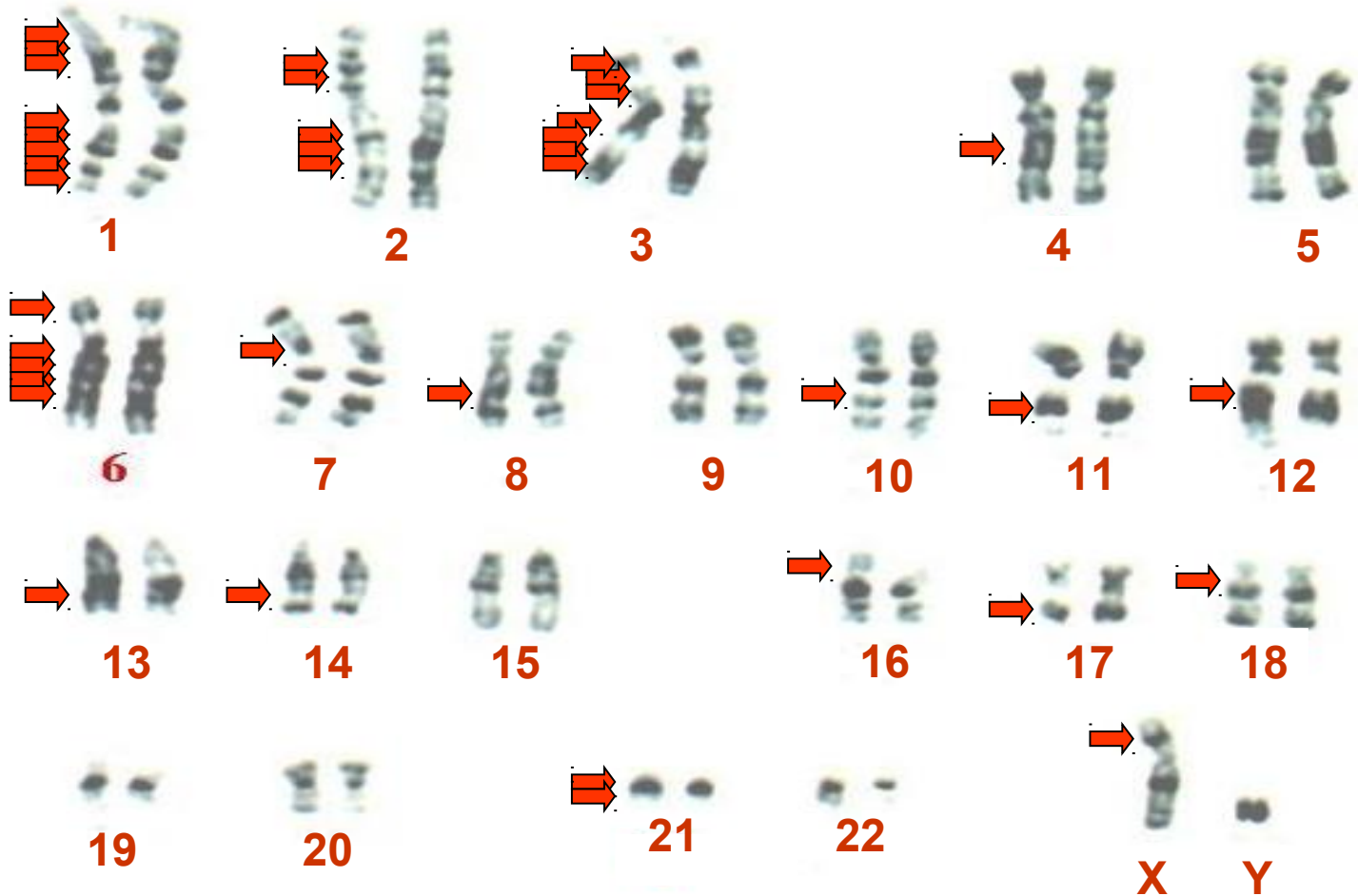
Rischio genetico globale

| Fattori di rischio | rischio |
|--|------------|
| Gemello monozigote affetto | 1:1.25 |
| Fratello HLA identico affetto | 1:3 |
| Parente di 1° affetto | 1:10 |
| HLA-DQ2.5/DQ8 omozigote | 1:10 |
| HLA-DQ2.5/DQ8 eterozigote + 9 loci non-HLA di rischio | 1:28 |
| HLA-DQ2.5/DQ8 eterozigote | 1:35 |
| Popolazione generale | 1:100 |
| HLA-DQ X | 1:800-1220 |



Ulteriori 30 loci non-HLA identificati con GWAS

Su 12.000 pazienti, analizzati con ImmunoChip



39 Loci non-HLA: quale contributo?

57 SNPs indipendenti, di cui:

29 in sequenza codificante di singoli geni:

- Attivazione e reclutamento cellule T
- Differenziamento cellulare
- Infiammazione
- Migrazione

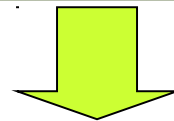
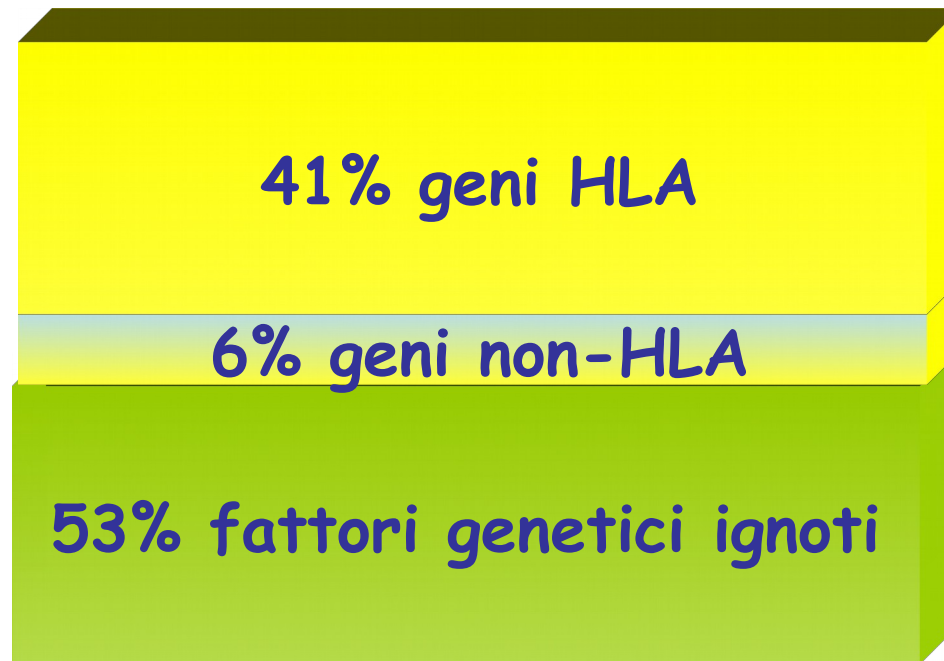
28 in sequenze non codificanti:

- impatto su espressione di geni vicini (e-QTLs)
- long ncRNA
- micro-RNA

Da studio di altre 14 malattie autoimmuni:

- 64% degli SNPs associati è condiviso

Rischio genetico di celiachia



Fattori di rischio singolarmente moderati (varianti comuni), che operano in modo additivo al fattore di rischio primario, costituito dall'HLA

Grazie dell'attenzione

