

Autoimmunität beim Typ I-Diabetes

W. A. SCHERBAUM

Summary

Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus is brought about by a chronic autoimmune process directed towards the islets of Langerhans, finally leading to a specific destruction of the beta cells. It has been shown that there exists a genetic susceptibility which is mainly linked with genes of the major histocompatibility complex, namely HLA-DR3, -DR4, and combinations of these HLA specificities, and that distinct DQB chain alleles confer protection from the disease. The initiating event leading to the autoimmune process still remains unclear. Infiltration of the islets with mononuclear cells is seen in the early stages of the disease and aberrant expression of HLA class II antigens as well as gamma-interferon immunostaining can be exclusively demonstrated on beta cells.

While T cells probably play the key role in the pathogenesis of beta cell destruction, islet cell specific autoantibodies are the most useful markers of autoimmunity in type I diabetes. Cytoplasmic islet cell antibodies (ICA) and/or autoantibodies to the 64-kDa islet cell antigen are positive in 80% – 100% of newly diagnosed cases. ICA are directed towards a glycolipid component of all endocrine islet cells whereas antibodies to the 64-kDa antigen as well as ICA detected by an ELISA recognize a protein. Autoantibodies to insulin (IAA) and/or proinsulin may also be detected in 40–60% of cases before the initiation of insulin therapy.

The above mentioned antibodies may be detected months or years before the abrupt onset of clinical symptoms. This notion has enabled prospective studies of the natural course of the disease in predisposed 1st degree relatives of type I diabetic patients and in epidemiological screening programmes. In otherwise healthy relatives high levels of ICA, the presence of complement-fixing ICA, and the detection of IAA by radioimmunoassays indicate a high risk for future development of type I diabetes. A blunted first-phase insulin response to i.v. glucose appears to be the most sensitive marker for an irreversible metabolic deterioration. By a better understanding of the natural course of the disease and the associated immune process it will be possible to proceed with early immune intervention trials aiming at interruption of the autoimmune beta cell destruction.

Einleitung

Der Typ I-Diabetes wird durch einen Prozeß hervorgerufen, der zu einer Destruktion der insulinproduzierenden Betazellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas führt. Im folgenden soll gezeigt werden, daß es sich dabei um einen spezifischen chronischen Autoimmunprozeß handelt, der sich auf einer genetischen Grundlage entwickelt und bei dessen Entstehung äußere Faktoren eine Rolle spielen dürften. Die Analyse der dabei auftretenden Autoimmunphänomene läßt Aussagen über den Krankheitsverlauf zu und ermöglicht neue Einsichten in pathogenetische Zusammenhänge, die unter anderem für therapeutische Interventionen von Bedeutung sind [36]. Einige Fakten, die auf die Rolle autoimmuner Reaktionen bei der Entstehung des Typ I-Diabetes hinweisen, sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Immungenetik des Typ I-Diabetes

Zwillingsuntersuchungen bieten eine gute Möglichkeit, den Einfluß der genetischen und der Umweltkomponenten für die Entwicklung des Typ I-Diabetes abzuschätzen. Von eineiigen Zwillingen, bei denen einer an einem Typ I-Diabetes erkrankt ist, entwickeln 35% ihrer zunächst nichtdiabetischen Geschwister die Erkrankung in einem Beobachtungszeitraum von 30 Jahren [3]. Heute ist bekannt, daß dieses genetische Risiko überwiegend an HLA-Gene gekoppelt ist. Am engsten ist die Beziehung zu bestimmten HLA-Klasse II (DR, DP, DQ)-Allelen. Über 90% der Typ I-Diabetiker tragen das HLA-Merkmal DR3 und/oder DR4. Charakteristisch ist ein heterozygoter DR3/DR4-Genotyp, während DR2, DR5 und DR7 negativ mit dem Typ I-Diabetes assoziiert sind [4].

Tabelle 1. Hinweise für eine autoimmune Genese des Typ I-Diabetes

Infiltrat der Pankreasinseln mit mononukleären Zellen (initial)
Nachweis humoraler Autoimmunreaktionen
– Zytoplasmatische Inselzellantikörper (ICA)
– Antikörper gegen das 64 KD-Inselzellprotein
– Inselzelloberflächenantikörper (ICSA)
– Autoantikörper gegen Insulin (IAA)/Proinsulin
Zelluläre Autoimmunreaktionen gegen Inselzellbestandteile
Assoziation mit anderen Autoimmunerkrankungen und Autoantikörpern
Wirksamkeit einer Cyclosporin A-Therapie beim Typ I-Diabetes
Wirksamkeit von Immuninterventionen bei Tiermodellen des insulinpflichtigen Diabetes

Tabelle 2. Ethnische Variationen der HLA-Assoziation des insulinpflichtigen Diabetes

Ethnische Gruppe	Gehäufte HLA-Assoziation		
	DR3	DR4	DRw9
Europäer	+	+	-
Chinesen	+	-	+
Japaner	-	+	+

Neuere Daten weisen darauf hin, daß der Typ I-Diabetes stärker mit DQ- als mit DR-Genen assoziiert ist. Faszinierende Ergebnisse erbrachte die Sequenzanalyse der DQ β -Kette. Bei HLA DR4-positiven Kaukasiern ist die Aminosäure in Position 57 entscheidend: Eine Asparaginsäure in Position 57 „schützt“ vor dem Erwerb eines Typ I-Diabetes [49]. Diese Befunde erlauben nun individuelle DNA-Analysen zur Abschätzung des Diabetesrisikos mit Hilfe von Gensonden [27]. Für die weitere Forschung auf der Suche nach „dem Empfänglichkeitsgen“ für den Typ I-Diabetes ist aber immer noch die Analyse des gesamten HLA-Komplexes wichtig [41]. Neuere Daten weisen darauf hin, daß die Empfänglichkeit für den Typ I-Diabetes durch eine Kombination bestimmter DR- und DQ-Gene signifikant gesteigert wird. Die Untersuchungsergebnisse von HLA-Assoziationen bei Typ I-Diabetikern verschiedener ethnischer Gruppen zeigen, daß wir mit den bisher bekannten Markern nicht die Krankheitsgene definieren, sondern daß man lediglich damit assoziierte Gene erkennt (Tabelle 2).

HLA-Klasse II-Moleküle stellen Zelloberflächenrezeptoren dar, die in der Lage sind, Peptidfragmente fremder oder eigener Proteine zu binden und sie so den T-Lymphozyten zu präsentieren. Die Struktur eines HLA-Klasse II-Allels hat einen wesentlichen Einfluß auf die Bindung eines bestimmten Peptids, was seinerseits die Immunantwort gegen dieses Peptid bestimmen kann [50]. Rezeptoren auf T-Helferzellen erkennen fremde Proteine nur dann, wenn sie an ein körpereigenes HLA-Klasse II-Molekül gebunden sind. Darüber hinaus ist ein bestimmter T-Lymphozyt sowohl peptidspezifisch als auch HLA restringiert und erkennt ein definiertes Peptid nur dann, wenn es an ein ganz bestimmtes HLA-Klasse II-Molekül gebunden ist [25].

Pathologie und Immunpathologie des Typ I-Diabetes

Die Pankreasinseln des Typ I-Diabetikers sind verarmt an Betazellen, während die übrige endokrine Zellmasse der Inseln nicht reduziert ist. Diese ursprünglichen Beobachtungen von Gepts [19] konnten in umfangreichen Untersuchungen von Foulis [15] bestätigt werden. Einige wenige Betazellen können jedoch auch nach

längerer Diabetesdauer übrigbleiben. In den ersten sechs Monaten nach Beginn der Krankheit findet man in der Regel eine Insulitis, die besonders ausgeprägt ist, wenn der Diabetes vor dem 15. Lebensjahr auftritt. Bei den zellulären Insefiltraten handelt es sich um ein buntes Bild mononukleärer Zellen [8] einschließlich Makrophagen [18]. Das exokrine Pankreas ist nicht von dem entzündlichen Prozeß betroffen, zeigt aber eine Verarmung an Zymogengranula periinsulärer Zellen, die wahrscheinlich auf einen fehlenden trophischen Effekt des Insulins zurückzuführen ist.

Aberrante Expression von HLA-Klasse II-Molekülen auf Betazellen

In einer Serie von Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Inselzellen von Patienten mit frisch manifestiertem Typ I-Diabetes im Gegensatz zu normalen Inselzellen HLA DR-Moleküle exprimieren [8, 16, 30]. Ein weiteres auffälliges Phänomen ist die auf die Betazellen begrenzte immunhistochemische Nachweisbarkeit von alpha-Interferon in Pankreata von Patienten mit frisch manifestiertem Typ I-Diabetes [17]. Diese Befunde weisen auf eine chronische Auseinandersetzung der Betazellen mit einem Virus, am ehesten mit Retroviren hin.

In vitro konnte zwar durch Inkubation mit gamma-Interferon + Tumor-Nekrose-Faktor alpha eine aberrante Expression von HLA DR-Molekülen auf Inselzellen induziert werden; diese ist jedoch nicht auf Betazellen beschränkt [32], so daß die Initiierung des Betazell-spezifischen destruktiven Prozesses nicht alleine auf einen Einfluß dieser Interleukine zurückgeführt werden kann.

Zelluläre Autoimmunreaktionen

In den ersten drei bis sechs Monaten nach Beginn des Typ I-Diabetes ist die Zahl der im peripheren Blut nachweisbaren aktivierten T-Lymphozyten erhöht [1, 21, 26], was auf eine allgemeine Stimulation des Immunsystems hinweist. Des weiteren wurde beim Typ I-Diabetes eine vermehrte zytotoxische Aktivität gegen Inselzellen [9] und eine erhöhte Killerzellaktivität [31] beschrieben.

Die Angaben über Störungen zellvermittelter Immunreaktionen bezüglich der Verteilung zirkulierender T-Suppressorzellen und T-Helferzellen sowie über die Ergebnisse der gemischten Lymphozytenkultur und eine Mitogenstimulation von Lymphozyten sind zum Teil sehr widersprüchlich [13]. Dies hängt unter anderem damit zusammen, daß unterschiedliche Patientengruppen gewählt wurden, die Reagenzien zum Teil nicht standardisiert sind und daß in verschiedenen Tests unterschiedliche immunologische Parameter gemessen werden. Das wesentliche Hindernis für die Gewinnung eines einheitlichen Bildes liegt jedoch in der Nichtverfügbarkeit des Inselzellantigens begründet, das für den in vitro Nachweis einer betazellspezifischen zellulären Autoimmunreaktion unabdingbar ist.

Humorale Autoimmunreaktionen

Ebenso wie die zellulären Immunphänomene, so ist auch die Nachweisbarkeit von Typ I-Diabetes-spezifischen Autoantikörpern eng mit dem Vorhandensein residueller Betazellen verbunden. Beim frisch manifestierten Typ I-Diabetes können die konventionellen Inselzellantikörper (ICA) im indirekten Immunfluoreszenztest in 70 bis 90 % der Fälle gefunden werden. Ihre Prävalenz geht nach einem Jahr Diabetesdauer auf 50 % zurück und bei längerem Bestehen der Krankheit finden sich ICA nur noch in etwa 10 % der Fälle [23]. Bei gesunden Kontrollpersonen sind diese Autoantikörper in weniger als 1 % positiv.

Die im indirekten Immunfluoreszenztest nachgewiesenen Inselzellantikörper reagieren wahrscheinlich mit einem Gangliosid [28]. Entsprechend läßt sich die ICA-Reaktivität durch Präinkubation der Seren mit einem Glykolipidextrakt von menschlichem Pankreas blockieren [11]. Während ICA ausschließlich vom IgG-Typ sind, können Inselzelloberflächenantikörper (ICSA) auch der IgM-Klasse angehören. ICSA schließen insbesondere die zytotoxischen ICSA ein, die bisher allerdings nur im Rahmen begrenzter Studien untersucht worden sind [51]. Seren von Patienten mit Typ I-Diabetes enthalten neben den oben genannten Spezifitäten auch Antikörper gegen ein Inselzellprotein. In den bisher durchgeführten Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß diese Antikörper gegen ein 64 KD-Inselzellantigen gerichtet sind und in über 70 % der frisch manifestierten Fälle von Typ I-Diabetes nachzuweisen sind [2]; sie korrelieren aber nicht mit den Ergebnissen der ICA-Bestimmung [10]. Ähnlich korrelieren die mit dem ELISA bestimmten Inselzellantikörper [40] und die Antikörper gegen das sogenannte polare Antigen der RIN m 38-Zellen nicht streng mit den ICA-Befunden. Die biochemischen Eigenschaften dieser Antikörper sind in Tabelle 3 wiedergegeben.

Bei 30 bis 50 % der Typ I-Diabetiker können Insulin-Autoantikörper (IAA) im Serum nachgewiesen werden, auch wenn noch kein exogenes Insulin verabreicht worden ist [29, 53]. Es hat sich gezeigt, daß mit den ELISA's (Festphasentests) und mit Radioimmunoassays (Flüssigphasentests) verschiedene Spezifitäten und Affinitäten gemessen werden [43]. Während der ELISA auch bei

Tabelle 3. Einfluß einer biochemischen Vorbehandlung auf verschiedene Inselzellantikörper-Reaktivitäten

Vorbehandlung	Ergebnis des Antikörpertests		
	ICA-IFL	ICA-ELISA	„Polare“ Ak
Aceton	+	+	+
Neuraminidase-Verdauung	-	+	+
Methanol-Extraktion	-	-	-
Pronase-Verdauung	+	-	-
Glycolipid-Absorption	-	+	+

einem Drittel der gesunden Familienangehörigen und der Fälle mit polyendokrinen Autoimmunerkrankungen oder von zystischer Fibrose ohne Diabetes positiv ausfällt, ist der RIA spezifischer für die Insulinitis des Typ I-Diabetes, insbesondere im Kindesalter.

Neben dem oben beschriebenen inselspezifischen Autoimmunphänomen können beim Typ I-Diabetes vermehrt Autoimmunerkrankungen anderer endokriner Organe, wie z. B. ein Morbus Basedow oder eine Perniziöse Anämie und/oder die dazugehörigen Autoantikörper nachgewiesen werden [5]. Eine interessante neue Spezifität stellen die Autoantikörper gegen Nebennierenmarkzellen dar, die zwar überwiegend bei ICA-positiven Typ I-Diabetikern vorkommen, aber nicht auf eine Kreuzreaktion der ICA zurückzuführen sind [38]. Autoantikörper gegen sympathische Ganglien sind bei Typ I-Diabetikern eventuell für eine Beeinträchtigung der orthostatischen Blutdruckregulation verantwortlich [33].

Wer ist gefährdet?

Als Risikogruppen für den Typ I-Diabetes können zunächst Patienten angesehen werden, bei denen polyendokrine Autoimmunerkrankungen bekannt sind [6, 12]. Insbesondere betrifft dies Patienten mit einem autoimmunen Morbus Addison. Bei diesen kommt in 20% der Fälle ein Typ I-Diabetes assoziiert vor. Die Hintergründe für diese Assoziationen wurden andernorts im Detail besprochen [35]. Weitere Risikogruppen betreffen Frauen, bei denen ein Schwangerschaftsdiabetes diagnostiziert wurde [14]. Die am besten untersuchte Gruppe betrifft erstgradig Verwandte von Typ I-Diabetikern; etwa 10% der Fälle von Typ I-Diabetes haben eine entsprechende Familienanamnese, die restlichen 90% treten sporadisch auf [22]. Diese Tatsache unterstreicht die Bedeutung epidemiologischer Untersuchungen, wenn man das Gros der prädiabetischen Individuen erfassen will. Prospektive Untersuchungen erstgradig Verwandter von Typ I-Diabetikern haben gezeigt, daß schon Jahre vor der klinischen Manifestation des Typ I-Diabetes Inselzellantikörper im Serum nachgewiesen werden können [37]. Auch die immunpräzipitierenden Antikörper gegen das 64 KD-Inselzellprotein sind schon vor Ausbruch der Krankheit vorhanden [2]. Dies weist auf einen längeren subklinischen Verlauf der Insulinitis hin [47].

Der „Pseudo-Typ II“-Diabetes

Die oben genannten serologischen Autoimmunphänomene erlauben zusammen mit der HLA-Typisierung und der DNA-Analyse eine ätiologische Zuordnung zur autoimmunen Form des Diabetes, auch wenn er sich in atypischer Weise im höheren Lebensalter erstmals manifestiert oder wenn der Diabetes zunächst mit

oralen Antidiabetika einstellbar ist [7, 20]. In diesen Fällen kann ein rasches Sekundärversagen prognostiziert werden.

Metabolische Frühzeichen

Insbesondere aus Verlaufsuntersuchungen nichtdiabetischer identischer Zwillinge und Drillinge von Typ I-Diabetikern ist bekannt, daß die Insulinitis und die Entwicklung des Insulinmangels in der Regel einen längeren präklinischen Verlauf nehmen [44]. Dabei können insbesondere bei Kindern das Blutzuckertagesprofil und der orale Glukosetoleranztest (OGTT) bis kurz vor Krankheitsmanifestation normal ausfallen. Dagegen spielt der i.v. GGT bei der Früherkennung einer eingeschränkten Insulinsekretion eine besondere Rolle. Eine Reduktion der ersten Phase der Insulinausschüttung unter die erste Perzentile von Normalpersonen ist mit einem hohen Risiko verbunden, innerhalb der nächsten sechs Monate an einem Typ I-Diabetes zu erkranken. Dies trifft allerdings nur für ICA-positive Individuen zu; auch dem Typ II-Diabetes geht nämlich ein Verlust der frühen Insulinsekretionsphase voraus [52]. Bisher wurde kein Fall beschrieben, in dem sich eine solche frühe, voll ausgeprägte Sekretionsstörung im Spontanverlauf oder unter Therapie wieder normalisiert hätte. Ob sich die erste Phase der Insulinausschüttung kontinuierlich verschlechtert [46] oder einen sprunghaften Verlauf nimmt, ist wegen der starken inter- und intraindividuellen Varianz des Tests [42] und der limitierten Zahl der beobachteten Fälle noch strittig.

Voraussagemöglichkeiten des Typ I-Diabetes

Die ICA spielen für die Erkennung der prädiabetischen Phase eine herausragende Rolle [24]. Hohe ICA-Spiegel scheinen prognostisch ebenso relevant zu sein, wie der Nachweis einer komplementbindenden Eigenschaft der ICA. Alle nichtdiabetischen erstgradig Verwandten von Typ I-Diabetikern, bei denen in den englischen Familienuntersuchungen die ICA-Titer bei 80 JDF-Einheiten oder darüber lagen, entwickelten im Laufe von acht Jahren einen Diabetes. Niedrigere Titer sind mit einem geringeren Risiko verbunden. Schließlich können niedrigtitrige ICA auch nur vorübergehend nachweisbar sein und haben dann weniger Bedeutung [45]. ICA-negative Verwandte hatten in Verlaufsuntersuchungen über fünf bis acht Jahre ein kumulatives Risiko von unter 1% [48].

In jüngster Zeit ist die Wertigkeit der IAA für die Voraussage des Typ I-Diabetes näher untersucht worden. Verwandte, die sowohl ICA- als auch IAA-positiv sind, tragen ein höheres Risiko für den Typ I-Diabetes als solche mit nur einem der Marker. Im Gegensatz zu den in Radioimmunoassays nachgewiesenen IAA sind die mit dem ELISA-Test bestimmten IAA für sich alleine nicht sicher

mit einem erhöhten Diabetesrisiko verbunden. Die Bestimmung von Antikörpern gegen das 64 KD-Inselzellprotein wird für die Voraussage des Typ I-Diabetes insbesondere bei Kindern und Jugendlichen eine größere Bedeutung erlangen [34], sobald vereinfachte Detektionsmethoden für diese Spezifität zur Verfügung stehen [39].

Literatur

1. Alviggi L, Hoskins PJ, Pyke DA, Johnston C, Tee DEH, Leslie RDG, Vergani D (1984) Pathogenesis of insulin-dependent diabetes: a role for activated T lymphocytes. *Lancet* II: 4-6
2. Baekkeskov S, Landin M, Kristensen JK, Srikanta S, Bruining GJ, Mandrup-Poulsen T, de Beaufort C, Soeldner JS, Eisenbarth G, Lindgren F, Sundquist G, Lernmark Å (1987) Antibodies to a 64,000 Mr human islet cell antigen precede the clinical onset of insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 79: 926-934
3. Barnett AH, Eff C, Leslie RDG, Pyke DA (1981) Diabetes in identical twins: a study of 200 pairs. *Diabetologia* 20: 87-93
4. Bertrams J, Baur MP (1984) Disease reports: Insulin-dependent diabetes mellitus. In: Albert ED, Baur MP, Mayr WR (eds) *Histocompatibility Testing*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp 348-358
5. Betterle C, Zanette F, Pedini E, Presotto F, Rapp LB, Monciotti CM, Rigon F (1984) Clinical and subclinical organ-specific autoimmune manifestations in type I (insulin-dependent) diabetic patients and their first-degree relatives. *Diabetologia* 620: 431-436
6. Betterle C, Presotto F, Pedini B, Moro L, Slack RS, Zanette F, Zanchetta R (1987) Islet cell and insulin autoantibodies in organ-specific autoimmune patients. Their behaviour and predictive value for the development of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. A 10-year follow-up study. *Diabetologia* 30: 292-297
7. Böhm BO, Schifferdecker E, Kuchnl P, Scherbaum WA, Schöffling K (1989) Linkage of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and "pseudo type II" diabetes with HLA DRw52 subtype. Molecular heterogeneity of the HLA DRB3 gene in HLA DR3 containing haplotype. *Horm metab Res* (in press)
8. Bottazzo GF, Dean BM, McNally JM, MacKay EH, Swift PGF, Gamble DR (1985) In situ characterization of autoimmune phenomena and expression of HLA molecules in the pancreas in diabetic insulinitis. *N Engl J Med* 313: 353-360
9. Charles MA, Suzuki M, Waldeck N, Dodson LE, Slater L, Ong K, Kershner A, Buckingham B, Golden M (1983) Immun islet killing mechanisms associated with insulin-dependent diabetes: in vitro expression of cellular and antibody-mediated islet cell toxicity in humans. *J Immunol* 130: 1189-1194
10. Christie M, Landin-Olsson M, Sundquist G, Dalquist G, Lernmark Å, Baekkeskov S (1988) Antibodies to a Mr-64,000 islet cell protein in Swedish children with newly diagnosed type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 31: 597-602
11. Colman PG, Nayak RC, Campbell IL, Ramesh C, Jain L, Eisenbarth GS (1988) Binding of cytoplasmic islet cell antibodies is blocked by human pancreatic glycolipid extracts. *Diabetes* 37: 645-652
12. Doniach D, Bottazzo GF (1981) Polyendocrine autoimmunity. In: Franklin EC, Buckley RH, Doniach D, Fahey JL, Parker CW, Rosse WS (eds) *Clinical immunology update*. Elsevier, New York, pp 95-121
13. Drell DW, Notkins AL (1987) Multiple immunological abnormalities in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 30: 132-143
14. Freinkel N, Metzger BE, Phelps RL, Simpson JL, Martin AO, Radvany R, Ober C, Dooley SL, Depp RO, Belton A (1986) Gestational diabetes mellitus: a syndrome with phenotypic and genotypic heterogeneity. *Horm metab Res* 18: 427-430

15. Foulis AK, Liddle CN, Farquharson MA, Richmond JA, Weir RS (1986 a) The histopathology of the pancreas in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: a 25-year review of deaths in patients under 20 years of age in the United Kingdom. *Diabetologia* 29: 267–274
16. Foulis AK, Farquharson MA (1986 b) Aberrant expression of HLA-DR antigens by insulin-containing β -cells in recent-onset type I diabetes mellitus. *Diabetes* 35: 1215–1224
17. Foulis AK, Farquharson MA, Meager A (1987) Immunoreactive alpha-interferon in insulin-secreting β -cells in type I diabetes mellitus. *Lancet* II: 1423–1427
18. Foulis AK (1988) Does a non-cytopathic viral infection of β -cells initiate the disease process leading up to their autoimmune destruction? Session 4: Viral Mechanisms. The Immunology of Diabetes. IXth International Workshop. Satellite Symposium at Melbourne, Australia
19. Gepts W (1965) Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 14: 619–633
20. Groop L, Miettinen A, Groop PH, Meri S, Koskimies S, Bottazzo GF (1988) Organ-specific autoimmunity and HLA-DR antigens as markers for β -cell destruction in patients with type II diabetes. *Diabetes* 37: 99–103
21. Jackson RA, Morris MA, Haynes BF, Eisenbarth GS (1982) Increased circulating Ia-antigen-bearing T cells in type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* 306: 785–788
22. Jarett L, Soeldner JS, Lernmark A, Rizza R, Santiago J (1986) Panel discussion I: diagnosis, classification, and value of screening for diabetes mellitus. *Clin Chem* 32: B 30–B 36
23. Lendrum R, Walker G, Cudworth AG, Theophanides C, Pyke DA, Bloom A, Gamble DR (1976) Islet-cell antibodies in diabetes mellitus. *Lancet* II: 1273–1276
24. MacLaren NK (1988) How, when, and why to predict IDDM. *Diabetes* 37: 1591–1594
25. Marrack P, Kappler J (1988) T cells can distinguish between allogeneic major histocompatibility complex products on different cell types. *Nature* 332: 840–843
26. Mascart-Lemone F, Delespesse G, Dorchy H, Lemièrre B, Servais G (1982) Characterization of immunoregulatory T lymphocytes in insulin-dependent diabetic children by means of monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 47: 296–300
27. Morel PA, Dorman JS, Todd JA, McDevitt HO, Trucco M (1988) Aspartic acid at position 57 of the HLA-DQ β chain protects against type I diabetes: A family study. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 8111–8115
28. Nayak RC, Omar MAK, Rabizadeh A, Srikanta S, Eisenbarth GS (1985) “Cytoplasmic” islet cell antibodies: evidence that the target antigen is a sialoglycoconjugate. *Diabetes* 34: 617–619
29. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpaty O, Raghu PK, Pacquette TL (1983) Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science* 222: 1337–1339
30. Pipeleers DG, In't Veld PA, Pipeleers-Marichal MA, Gepts W, Van de Winkel M (1987) Presence of pancreatic hormones in islet cells with MHC-class II antigen expression. *Diabetes* 36: 872–876
31. Pozzilli P, Gorsuch A, Sensi M, Bottazzo GF, Cudworth AG (1979) Evidence for raised K-cell levels in type I diabetes. *Lancet* II: 173–175
32. Pujol-Borrell R, Todd I, Doshi M, Bottazzo GF, Sutton R, Gray D, Adolf GR, Feldmann M (1987) HLA class II induction in human islet cells by interferon gamma plus tumour necrosis factor or lymphotoxin. *Nature* 326: 304–306
33. Rabinow SL, Brown FM, Watts M, Kadrofske MM, Vinik AI (1989) Anti-sympathetic ganglia antibodies and postural blood pressure in IDDM subjects of varying duration and patients at high risk of developing IDDM. *Diabetes Care* 12: 1–6
34. Riley W (1988) Epidemiological aspects of immune markers for type I diabetes XIII Congress of the International Diabetes Foundation Sydney Australia, 20–25 November 1988
35. Scherbaum WA, Youinou P, Tater D, Jouquan J, Pujol-Borrell R, Bercovici JP, Bottazzo GF (1986) Polyendocrinopathies autoimmunes. Hypothèses pathogéniques. *Annales d'Endocrinologie (Paris)* 47: 420–428
36. Scherbaum WA (1987) Klinische Aspekte zur Immunpathogenese des Diabetes mellitus Typ I. *Internist* 820: 228–235
37. Scherbaum WA, Böhm BO, Schöffling K, Pfeiffer EF (1987) Diagnostik der Autoimmuninsulinitis vor der klinischen Manifestation des Diabetes mellitus Typ I. *Med Klin* 82: 443–446

38. Scherbaum WA, Mogel H, Böhm BO, Hedderich U, Glück M, Scherthner G, Bottazzo GF, Pfeiffer EF (1988 a) Autoantibodies to adrenal medullary and thyroid calcitonin cells in type I diabetes mellitus – a prospective study. *J Autoimmunity* 1: 219–230
39. Scherbaum WA, Böhm BO, Ketzler-Sasse U, Schöffling K, Pfeiffer EF (1988 b) ICA-positive sera as well as single-cell antibodies to somatostatin and glucagon cells bind to a common 64 KD islet cell protein. *Diabetes Research and Clinical Practice. XIIIth Congress of the International Diabetes Federation. Suppl 1, Vol 5: S 51*
40. Scherbaum WA, Reißler J, Hedderich U, Böhm BO, Specker M, Pfeiffer EF (1989) Determination of islet cell antibodies using an ELISA with a preparation of rat insulinoma (RINA2) cells. *Diabetes Research* 10: 97–102
41. Segall M (1988) HLA and genetics of IDDM. Holism vs. reductionism? *Diabetes* 37: 1005–1008
42. Smith CP, Tarn AC, Thomas JM, Overkamp D, Corakci A, Savage MO, Gale EAM (1988) Between and within subject variation of the first phase insulin response to intravenous glucose. *Diabetologia* 31: 123–125
43. Sodoyez-Goffaux F, Koch M, Dozio N, Brandenburg D, Sodoyez J-CI (1988) Advantages and pitfalls of radioimmune and enzyme linked immunosorbent assays of insulin antibodies. *Diabetologia* 31: 694–702
44. Soeldner JS, Srikanta S, Eisenbarth GS, Gleason RE (1986) Pre-hyperglycemic diabetes mellitus. *Clin Chem* 32: B7–B18
45. Spencer KM, Tarn A, Dean BM, Lister J, Bottazzo GF (1984) Fluctuating islet cell autoimmunity in unaffected relatives of patients with insulin-dependent diabetes. *Lancet* I: 764–766
46. Srikanta S, Ganda OP, Gleason RE, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS (1984) Pre-type I diabetes. Linear loss of beta cell response to intravenous glucose. *Diabetes* 33: 717–720
47. Tarn AC, Smith CP, Spencer KM, Bottazzo GF, Gale EAM (1987) Type I (insulin-dependent) diabetes: a disease of slow clinical onset? *Brit Med J* 294: 342–345
48. Tarn AC, Thomas JM, Dean BM, Ingram D, Schwartz G, Bottazzo GF, Gale EAM (1988) Predicting insulin-dependent diabetes. *Lancet* I: 845–850
49. Todd JA, Bell JI, McDevitt HO (1987) HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature (Lond)* 329: 599–604
50. Unanue ER, Allen PM (1987) The basis for the immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells. *Science* 236: 551–557
51. Vardi P, Dibella EE, Pasquarello TJ, Srikanta S (1987) Islet cell autoantibodies: pathobiology and clinical applications. *Diabetes Care* 10: 645–656
52. Vialettes B, Mattei-Zevaco C, Badier C, Ramahandridona G, Lassmann-Vague V, Vague Ph (1988) Low acute insulin response to intravenous glucose. A sensitive but non-specific marker of early stages of type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 31: 592–596
53. Wilkin TJ, Hoskin PJ, Armitage M, Rodier M, Casey C, Dias J-L, Pyke DA, Leslie RDG (1985) Value of insulin autoantibodies as serum markers for insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* I: 480–482