

W. A. Scherbaum

Aus der Abteilung Innere Medizin I,
der Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Universität Ulm
(Direktor: Prof. Dr. G. Adler)

Molekulare Grundlagen der Ätiologie und Pathogenese des Typ-I-Diabetes* **

Der Typ I (insulinpflichtige) Diabetes mellitus ist eine chronische, nach dem heutigen Kenntnisstand irreversible Erkrankung, die durch eine selektive Zerstörung der insulinproduzierenden Zellen des endokrinen Pankreas hervorgerufen wird. Obwohl die zugrundeliegende Störung letztlich noch unklar bleibt, muß der Typ-I-Diabetes heute als eine Autoimmunkrankheit mit immungenetischem Hintergrund angesehen werden. Wie weiter unten ausgeführt werden soll, steht diese Annahme auf drei Grundpfeilern, und zwar der Immunhistologie des Pankreas bei Fällen von neu entdecktem Typ-I-Diabetes, dem Nachweis spezifischer Autoantikörper und den spezifischen immungenetischen Befunden.

Die beim Menschen erhobenen Befunde werden durch die an Tiermodellen erhobenen Daten bestätigt und ergänzt. Insbesondere zur Erforschung genetischer Faktoren, zur Aufklärung der Rolle von Effektormechanismen sowie zur Erprobung neuer Therapiemöglichkeiten haben die experimentellen Ansätze bei der spontan diabetischen NOD-(non-obese diabetic-)Maus und der BB-(Bio-breeding-)Ratte wesentlich beigetragen (23, 31, 33, 34, 48). Danach ist unbestritten, daß den betazellspezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten eine Schlüsselrolle als Effektormechanismus zukommt (29). Autoantikörper

Schlüsselwörter

Typ-I-Diabetes, Immungenetik, Immunpathologie, Autoantikörper

Zusammenfassung

Der Typ I (insulinpflichtige) Diabetes mellitus ist eine der am besten studierten Autoimmunerkrankungen des Menschen. Auf dem Boden einer inzwischen gut definierten immungenetischen Prädisposition kommt es durch noch nicht genau bekannte Induktionsprozesse zu einer Autoimmunreaktion gegen Bestandteile der Pankreasinseln und Sekretionsprodukte der Betazellen. Zytoplasmatische Inselzellantikörper, Antikörper gegen das 64KD-Protein (Glutamat-Decarboxylase, GAD) und Insulin-Autoantikörper dienen zur Früherkennung der autoimmunen Insulinitis. Mononukleäre Zellen sind verantwortlich für die Zerstörung der Betazellen, die zum Typ-I-Diabetes führt.

Key words

Type-I diabetes, immunogenetics, immunopathology, autoantibodies

Summary

Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus is one of the best studied autoimmune diseases of man. The autoimmune reaction towards components of pancreatic islets and secretion products of beta cells is based on a now well-defined immunogenetic predisposition with an as yet unknown induction process. Cytoplasmic islets cell antibodies, antibodies to the 64KD protein (Glutamate-Decarboxylase, GAD) and insulin autoantibodies allow early detection of autoimmune insulinitis. Mononuclear cells are responsible for the beta cell destruction leading to Type I diabetes.

sind als Insulitismarker von großer Bedeutung, sie spielen aber beim destruierenden Prozeß eine untergeordnete Rolle.

Das Risiko eines eineiigen Geschwisters eines Typ-I-Diabetikers, die Krankheit ebenfalls zu erwerben, beträgt 30–50% (6). Daraus läßt sich schon ableiten, daß sowohl exogene als auch endogene Faktoren bei der Entstehung des Typ-I-Diabetes beteiligt sind. Während die Vorstellung von einer direkten Zerstörung der Betazellen durch Viren heute weitgehend verlassen worden ist, spielen Viren mit hoher Wahrscheinlichkeit eine wichtige Rolle bei der primären Induktion der chronischen Insulinitis.

Molekulare Grundlagen der Immunreaktion und Autoimmunität beim Typ-I-Diabetes

In den letzten zwei Jahren sind entscheidende Einblicke in die molekulare Beziehung zwischen den Komponenten der Immunantwort und der Entwicklung des Typ-I-Diabetes gewonnen worden (53). **Drei Hauptkomponenten** sind für die primäre Immuninteraktion entscheidend:

- Antigen-präsentierende Zellen (z. B. Makrophagen) mit ihren HLA-Klasse-II-Molekülen an der Oberfläche.

* Vortrag anlässlich der 85. Fortbildungstagung für Ärzte in Regensburg.

** Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und den Landesmittelforschungsschwerpunkt Baden-Württemberg.

- Die Polypeptidstruktur des prozessierten Antigens bzw. des diabetes-spezifischen Autoantigens.
- T-Lymphozyten mit ihren Alpha-beta-Rezeptoren.

HLA-Moleküle können als Zelloberflächenrezeptoren für das Immunsystem angesehen werden. Der am meisten exponierte Teil des HLA-Moleküls besitzt eine Gruppe, in der Polypeptide prozessierter («verdauter») Antigene ihren richtigen Platz finden. Gebundene und in geeigneter Form an der Oberfläche präsentierte Antigene sind in der Lage, T-Helferzellen zu aktivieren, die mit ihren Alpha-beta-Rezeptoren den HLA/Polypeptidkomplex erkennen können. Die Aktivierung von T-Helferzellen führt dann zur Antigen-spezifischen Stimulation zytotoxischer T-Lymphozyten und zur B-Zell-Stimulation mit Differenzierung zu Plasmazellen und Produktion antigenspezifischer Anti-

körper (Abb. 1). Das T-Zell-Repertoire wird vom Thymus kontrolliert. Von den Millionen täglich produzierter T-Lymphozyten läßt er nur diejenigen passieren, die eine begrenzte Affinität für die körpereigenen HLA-Moleküle und die prozessierten Autoantigene besitzen. Warum diese Immuntoleranz beim Typ-I-Diabetes durchbrochen wird und hier autoreaktive Lymphozyten zirkulieren, ist letztlich noch unklar.

Immungenetik des Typ-I-Diabetes

Unsere Kenntnisse von der Genetik des Typ-I-Diabetes basieren ursprünglich auf Familienuntersuchungen. 10–15% der Typ-I-Diabetiker haben einen erstgradig Verwandten mit dieser Krankheit. Heute wissen wir, daß

das Risiko für den Typ-I-Diabetes ganz überwiegend mit den HLA-Klasse-II-Antigenen (HLA-DR, -DP, -DQ) verbunden ist (9). Über 90% der Typ-I-Diabetiker haben die Merkmale DR4 und/oder DR3 (7). Der Vererbungsmodus ist weder einfach rezessiv noch dominant, sondern komplexer Natur. Mit der konventionellen HLA-DR-Typisierung kann im Rahmen von Familienuntersuchungen das Risiko für einen Typ-I-Diabetes abhängig vom Verwandtschaftsgrad errechnet werden (Tab. 1).

Tab. 1 Genetische Risikoabschätzung für einen Typ-I-Diabetes bei Verwandten von Typ-I-Diabetikern

Verwandschaftsbeziehung	Risiko für Typ-I-Diabetes
Kinder	
diabetischer Mütter	2–4%
diabetischer Väter	5–7%
diabetischer Eltern	20–40%
Geschwister	
eineiige Zwillinge	30–50%
sonstige Geschwister	5–7%
HLA-identisch: DR3, DR4	30%
DR3 oder DR4	20%
HLA-haploidentisch	8–12%
HLA-different	1%

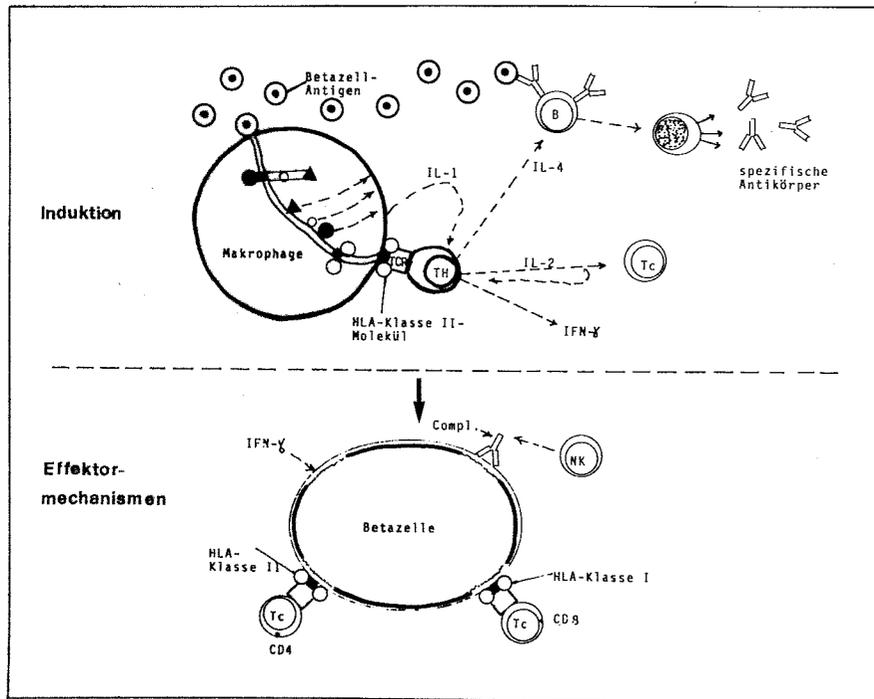


Abb. 1 Auslösung der Autoimmunreaktion gegen Betazellen. Hypothetische Sequenz der Ereignisse bei der Auslösung einer Autoimmunreaktion gegen Betazellen des Pankreas (nach Trucco & Dorman 1989). Das Antigen wird von Makrophagen aufgenommen, in Polypeptidbruchstücke gespalten (prozessiert), und zusammen mit HLA-Klasse-II-Molekülen den T-Helferzellen über T-Zell-Rezeptor präsentiert. Die aktivierte, CD4-Antigen-positive T-Helferzelle ist durch das von Makrophagen sezernierte Interleukin 1 (IL-1) stimulierbar. Unabhängig davon werden die spezifischen B-Lymphozyten durch Kontakt mit dem nativen Antigen aktiviert. Aktivierte T-Helferzellen sezernieren verschiedene Lymphokine (z. B. IL-1, IL-2, IL-4 etc.), die in der Lage sind, aktivierte zytotoxische T-Lymphozyten zur Proliferation anzuregen und aktivierte B-Lymphozyten zur Antikörperproduktion zu stimulieren.

Stärker noch, als mit DR-Genen ist der Typ-I-Diabetes mit den DQ-Genen assoziiert. Die Struktur der Antigenbindungsstelle, also der Grube in einem HLA-Molekül, z. B. zwischen der Alpha- und der Beta-Kette des HLA-DQ, wird durch kritische Aminosäuresequenzen bestimmt. Damit ist die Fähigkeit zur Bindung und Präsentation eines bestimmten Antigens verbunden. Beim Typ-I-Diabetes ist die Region um die Aminosäure in Position 57 der HLA-DQ β -Kette entscheidend. Das Vorhandensein einer Asparaginsäure an dieser Stelle (Asp-57) limitiert die Präsentation des Diabetes-spezifischen Autoantigens und damit die Empfänglichkeit für den Typ-I-Diabetes (4, 35, 51).

Asp-57 kann als hervorragender Marker für immungenetische epidemiologische Studien zum Typ-I-Diabetes angesehen werden. In Tabelle 2 sind die Daten einer solchen Studie bei Patienten und ihren erstgradig Verwandten wiedergegeben. Das Vorhandensein von zwei Non-Asp-

Tab. 2 HLA-DR und DQ-Phänotypen bei Typ-I-Diabetikern und ihren nichtdiabetischen erstgradig Verwandten*

Phänotypen	positiv	positiv	p-Wert	relatives Risiko
DR				
DR3/DR4	9	7	0,002	8,2
DR3/DR3	2	1	NS	9,8
DR3/DRX	2	17	NS	0,05
DQ				
Non-A/Non-A	26	24	0,00003	107,25
Non-A/Asp	1	57	0,0003	0,04
Asp/Asp	0	42	0,0027	0

* nach: Trucco & Dorman (1989), mit Genehmigung von CRC Press

Allelen ist bei der kaukasischen Rasse mit dem bei weitem höchsten Diabetesrisiko verbunden. Die unterschiedliche Inzidenz des Typ-I-Diabetes in verschiedenen Populationen kann zum Teil durch Unterschiede in der Verteilung der Non-Asp-57-Allele in verschiedenen Rassen erklärt werden (15). Die molekularbiologische HLA-Analyse bietet erstmals auch die Möglichkeit einer Genotypisierung auf individueller Basis, d.h. ohne Hinzuziehung der ganzen Familie. In einem solchen Ansatz konnten wir jetzt zeigen, daß auch auf Populationsebene ICA-positive Nichtdiabetiker die Risikogene der HLA-DQB-Allele besitzen (10).

Pathologie und Immunpathologie des Pankreas beim Typ-I-Diabetes

Die Pankreasinseln des Typ-I-Diabetikers sind schon mit Beginn der Krankheit dramatisch verarmt an Betazellen, während die übrige endokrine Zellmasse der Inseln nicht reduziert ist (18, 21). Als Ausdruck der nahezu kompletten Betazell-Destruktion versiegt die residuale Sekretion des C-Peptids in der Regel innerhalb von 2 Jahren. Einige wenige Betazellen können jedoch auch nach längerer Diabetesdauer übrigbleiben. In den ersten 6 Monaten nach Beginn der Krankheit kann man im allgemeinen eine Insulinitis nachweisen, die bei Patienten im Alter von unter 15 Jahren besonders ausgeprägt ist. Bei der zellulären Infiltration handelt es sich um ein buntes Bild mononukleärer Zellen mit Überwiegen von T-Lymphozyten

(11). Das exokrine Pankreas ist von dem entzündlichen Prozeß nicht betroffen; es 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 des endokrinen Pankreas

Inselzellen von Patienten mit frisch manifestiertem Typ-I-Diabetes exprimieren HLA-DR-Moleküle an ihrer Oberfläche (11, 38). Diese Eigenschaft ist normalerweise auf antigenpräsentierende Zellen, wie Makrophagen, dendritische Zellen und Langerhanssche Zellen beschränkt; sie kann jedoch auch auf aktivierten

Tab. 3 Evidenz für eine Rolle exogener Faktoren bei der Entstehung des Typ-I-Diabetes

- Monozygote Zwillinge: nur 30-50% Konkordanz für Typ-I-DM
- Isolierung eines Virus aus dem Pankreas eines Kindes mit frisch manifestiertem Typ-I-DM und positiver Übertragungsversuch
- Betazellschädigung bei Kindern, die an schweren systemischen Virusinfekten sterben
- Fallberichte über Virusinfekte und späteren Typ-I-DM
- Virusantikörper vom IgM-Typ bei Kindern mit frisch manifestiertem Typ-I-Diabetes
- Inselzellantikörper, Insulin-Autoantikörper und Diabetes sehr häufig nach kongenitaler Rötelninfektion
- Tiermodelle mit diabetogenen Viren oder Toxinen

Endothelien vorkommen und ist inzwischen auf den entsprechenden Organzellen bei anderen organspezifischen Autoimmunerkrankungen beobachtet worden. Es ist bemerkenswert, daß die Expression von HLA-DR-Molekülen beim Typ-I-Diabetes auf Betazellen beschränkt ist, während Glucagon- und Somatostatin produzierende Zellen nicht beeinflusst werden. Die Ursache für die aberrante Expression von HLA-Klasse-II-Antigenen bleibt unklar.

In vitro konnte durch Inkubation mit Interferon gamma + Tumornekrosefaktor alpha eine HLA-DR-Expression auf Inselzellen induziert werden (39). Die in vivo nachweisbare Betazellektivität wurde dadurch aber nicht erreicht. Eine Rolle der aberranten HLA-Klasse-II-Expression als Initialtrigger des Typ-I-Diabetes ist unwahrscheinlich, jedoch kann man damit möglicherweise auf eine chronische Auseinandersetzung der Betazellen mit einem Virus, am ehesten einem Retrovirus schließen. Tatsächlich kann eine aberrante HLA-DR-Expression auf Organzellen durch eine Virusinfektion induziert werden.

Die Rolle von Virusinfekten

Virusinfekte, insbesondere Coxsackie-B-, Mumps-, Zytomegalie- und Rötelnviren, sind mit der Auslösung eines Typ-I-Diabetes in Verbindung gebracht worden. Die meisten Hinweise für diese Annahme sind jedoch indirekt. Tabelle 3 zeigt eine Liste der Punkte, die auf eine solche Rolle von Virusinfekten hinweisen. Auf Grund histologischer Untersuchungen und von Tierexperimenten muß man annehmen, daß beim Typ-I-Diabetes des Menschen in der Regel eine chronische oder repetitive akute Schädigung der Betazellen abläuft, während die direkte Betazelldestruktion durch einen Virusinfekt die seltene Ausnahme darstellt (18, 20, 52).

Die konnatale Rötelninfektion weist die engste Beziehung zwischen einer Virusinfektion und einem nachfolgenden Diabetes auf. Bis zu 40% der Kinder von Müttern, die in der Schwangerschaft eine klinisch manife-

ste Rötelninfektion durchgemacht haben, entwickeln im Laufe der ersten 25 Jahre ihres Lebens einen Diabetes (32). In verschiedenen Populationen ist dabei ein unterschiedliches Diabetesrisiko registriert worden. Es hat sich nun gezeigt, daß ebenso wie bei anderen Fällen von insulinpflichtigem Diabetes überwiegend Individuen mit den HLA-Typen DR3 und eventuell DR4 gefährdet sind (43).

Andere Virusinfekte sind in einem direkten zeitlichen Zusammenhang mit der Diabetesmanifestation untersucht worden. Dabei ist die Evidenz für eine Rolle von Coxsackie-B-Virus-Infektionen am stärksten, während die klinisch-epidemiologischen Daten zu einem möglichen Zusammenhang mit CMV- oder Mumpsviren äußerst schwach sind. In einzelnen Studien ist in Fällen von neu manifestiertem Typ-I-Diabetes eine erhöhte Inzidenz von Anti-Coxsackie-B-IgM-Antikörpern gefunden worden (5, 28). In anderen Studien konnte das allerdings nicht bestätigt werden (27, 47, 55). Wichtig ist aber festzuhalten, daß drei Fälle beschrieben sind, in denen bei einem neu manifestierten Typ-I-Diabetes Coxsackie-B-Viren aus dem Pankreas der verstorbenen Patienten isoliert werden konnten. In einem dieser Fälle ist es gelungen, mit diesen isolierten Stämmen durch Inokulation bei Mäusen einen Diabetes mit Insulinitis und Betazellnekrose zu erzeugen (57).

Es gibt mehrere **tierexperimentell gesicherte Mechanismen**, die zur Auslösung eines Diabetes durch Viren führen können (41):

- Direkte Zellyse.
 - Induktion einer Autoimmunreaktion durch Insertion von Neoantigenen in die Zellmembran.
- Solch ein Autoimmunprozeß könnte die Zelle auch vulnerabel machen gegenüber weiteren Virusinfekten.
- Persistierende Infektion der Betazellen mit Reduktion der Wachstumsrate und verkürzter Lebenszeit.
 - Biochemische Läsionen durch Veränderungen der Zellmembran und damit assoziierter Schlüsselenzyme (z. B. cAMP).

In jedem Fall muß ein solches Virus zunächst in der Lage sein, sich an

spezifische Rezeptoren auf der humanen Betazelle zu binden, bevor es in die Zelle penetrieren kann. Eine solche Bindung ist für Coxsackie-B-, Mumps-, CMV- und Rötelnviren nachgewiesen worden (25). Es ist bemerkenswert, daß das durch Viren induzierbare Alpha-Interferon in den Betazellen von frisch manifestierten Typ-I-Diabetikern nachgewiesen werden konnte (19). IFN-gamma wird als Antwort auf Infektionen produziert und ist bei der Immunstimulation beteiligt. Nun konnte auch nachgewiesen werden, daß die Expression von IFN-gamma auf Betazellen zu einem Verlust der Immuntoleranz gegen Inseln führt, der letztlich die Autoimmunreaktion erlaubt (44).

Humorale Autoimmunreaktionen beim Typ-I-Diabetes

Eine ganze Reihe von Autoantikörpern können beim Typ-I-Diabetes nachgewiesen werden (16). Dabei ist zu unterscheiden zwischen den inselzellspezifischen Autoantikörpern und den assoziiert auftretenden Antikörpern. Letztere sollen hier nicht besprochen werden, da ihr Auftreten nicht diabetesspezifisch ist, sondern wahrscheinlich mit einer allgemeinen Störung der Immuntoleranz zusammenhängt.

Im folgenden sollen die **wichtigsten streng Diabetes-assoziierten Autoantikörper** beschrieben werden.

Dazu gehören auch Autoantikörper gegen Nebennierenmark-Zellen, deren Auftreten man sich am ehesten durch Ähnlichkeiten zwischen Inselzellen und Nebennierenzellen erklären kann (46). Beide Zelltypen enthalten sekretorische Granula mit einer ganz bestimmten Bestückung mit intragranulären Proteinen, die als Autoantigen wirksam sein könnten. Die zweite hochinteressante Antikörperspezifität mit extrapancreatischer Reaktivität sind Antikörper gegen die Glutamat-Decarboxylase. Diese kommen bei dem seltenen Stiff-Man-Syndrom vor und reagieren sowohl mit bestimmten Ganglienzellen des Gehirns als auch mit Inselzellen (49).

Für die Klärung der Ätiologie und Pathogenese des Typ-I-Diabetes sind vier Inselzell-spezifische Autoantikörper von Wichtigkeit. Alle diese Antikörper sind insbesondere im Beginn des Typ-I-Diabetes nachweisbar und verschwinden in der Regel im Lauf der Jahre. Daher kann angenommen werden, daß sie an das Vorhandensein residualer Betazellen mit ihrem spezifischen Antigen gebunden sind.

Zytoplasmatische Inselzellantikörper (ICA)

ICA können initial in 70–90% der Fälle von Typ-I-Diabetes nachgewiesen werden. Nach jahrelanger Diabetesdauer geht ihre Prävalenz auf unter 10% zurück. Bei gesunden Kontrollpersonen sind sie in etwa 1% der Fälle positiv. Diese Zahlen sind regional unterschiedlich und insbesondere auch von der Testmethode abhängig. ICA haben sich in Familienuntersuchungen (50) und in Populationsstudien (47) als hervorragende Marker für die Erkennung der Insulinitis in der prädiabetischen Phase erwiesen (45). ICA reagieren mit allen endokrinen Zellen des Pankreas; sie können also nicht für die selektive Zerstörung der Betazellen verantwortlich sein.

Autoantikörper gegen die Inselzelloberfläche (ICSA)

ICSA sind mit dem indirekten Immunfluoreszenztest auf isolierten Inselzellen bei Manifestation des Typ-I-Diabetes in etwa der Hälfte der Fälle nachzuweisen (30). Für die Pathogenese des Typ-I-Diabetes dürften die zytotoxischen ICSA von besonderer Wichtigkeit sein. Diese sind bisher allerdings aus methodischen Gründen nur im Rahmen begrenzter Studien untersucht worden (55).

Insulin-Autoantikörper (IAA)

Bei 30–50% der Typ-I-Diabetiker können schon vor der ersten Gabe von exogenem Insulin IAA nachgewiesen werden. Die Häufigkeit der IAA ist altersabhängig. Es hat sich gezeigt, daß mit den ELISAs und mit Radioimmunoassays verschiedene Aktivität

ten gemessen werden. Die mit dem kompetitiven Radioimmunoassay nachgewiesenen IAA sind spezifisch für die Insulinitis des Typ-I-Diabetes und können bei Nichtdiabetikern als Hochrisikomarker für die künftige Entwicklung eines Typ-I-Diabetes angesehen werden (58). Bei Diabetesbeginn unter dem 5. Lebensjahr sind sie in 100% der Fälle gefunden worden, während IAA-RIA nur bei 20% der Individuen nachzuweisen sind, die den Typ-I-Diabetes nach dem 12. Lebensjahr entwickeln (17).

Antikörper gegen das 64-Kilodalton-Inselzellprotein

Diese Antikörper sind bisher nur mit einem aufwendigen Assay mit metabolischer In-vitro-Markierung isolierter Pankreasinseln sowie Immunpräzipitation und Polyakrylamidgel-Elektrophorese verlässlich nachzuweisen. 64KD-Antikörper sind in etwa 70% der Fälle von frisch manifestiertem Typ-I-Diabetes nachzuweisen (2). 64KD-Antikörper sind betazellspezifisch; sie reagieren weder mit Somatostatin- oder Glukagonzellen der Inseln noch mit anderen peripheren Geweben oder Drüsen (14). 64KD-Antikörper können aber als Hochrisikomarker bei Nichtdiabetikern angesehen werden (1).

Suche nach den relevanten Autoantigenen

Auf Grund der bisherigen Kenntnisse muß man im Rahmen der beim Typ-I-Diabetes ablaufenden Autoimmunreaktionen das Vorliegen zahlreicher Antigen-Antikörper-Systeme annehmen. Erst wenn die relevanten Antigene bekannt sind, können Untersuchungen in Richtung auf eine Unterdrückung der betazellspezifischen Immunreaktion erfolgen. Prinzipiell sind zunächst die Antigene zu charakterisieren, die mit den bekannten zirkulierenden inselzellspezifischen Autoantikörpern reagieren.

Das am längsten und am besten bekannte Autoantigen ist das **Insulin**. Es ist absolut betazellspezifisch, und

sein Verlust ist mit dem Typ-I-Diabetes eng assoziiert.

Die Spiegel der mit dem RIA gemessenen Insulin-Autoantikörper korrelieren streng mit dem Diabetesrisiko. Da Insulin auch auf der Oberfläche der Betazellen exprimiert ist, kann angenommen werden, daß die Immunantwort entweder direkt pathogenetisch wirksam ist, oder daß sie die Betazelldestruktion ganz streng reflektiert.

Das zweite, inzwischen definierte, Diabetes-spezifische Autoantigen ist das in den Betazellen angereicherte GABA-synthetisierende Enzym **Glutaminsäure-Dekarboxylase (GAD)**, mit dem die 64KD-Antikörper reagieren (3).

GAD ist auch das wesentliche Autoantigen bei dem seltenen Stiff-Man-Syndrom, bei dem GABA-sezernierende Neurone betroffen sind und bei dem eine hohe Koinzidenz mit dem Typ-I-Diabetes und dem Auftreten betazellspezifischer Inselzellantikörper gefunden worden ist (49). Da nur eine verschwindend geringe Zahl von Typ-I-Diabetikern ein Stiff-Man-Syndrom haben, müssen außer der Autoimmunreaktion gegen GAD (64KD-Antikörper) noch weitere Komponenten für die Krankheitsauslösung verantwortlich sein.

Eine Beteiligung des **Heat-Shock-Proteins (HSP) 65** ist postuliert worden (26). Die Autoren nehmen Strukturhomologien zwischen dem 64KD-Antigen und HSP 65 an. Die Evidenz ist aber indirekt, so daß eine Bestätigung dieser Ergebnisse mit direkten Methoden abgewartet werden muß.

Das mit den zytoplasmatischen ICA reagierende Autoantigen ist bisher nicht identifiziert. Auf Grund biochemischer Untersuchungen und von Blockierungsexperimenten mit Glykolipidextrakten des menschlichen Pankreas war angenommen worden, daß es sich um ein Gangliosid handelt (36). Unsere neuesten Daten an Hand von Immunpräzipitationen des Autoantigens mit humanen monoklonalen ICA von Typ-I-Diabetikern haben jedoch gezeigt, daß ICA im wesentlichen das 64KD-Antigen GAD erkennen (42).

Kürzlich ist es gelungen, Proteine der sekretorischen Granula von Beta-

zellen zu isolieren bzw. hoch anzureichern (24). In diesen Granula vollzieht sich die enzymatische Spaltung von Proinsulin zu Insulin. Isolierte T-Zell-Klone von Typ-I-Diabetikern (42) sowie Lymphozyten von spontan diabetischen NOD-Mäusen (8) sind gegen diese Proteine sensibilisiert. Es ist daher anzunehmen, daß die Proteine insulinsekretorischer Granula beim Typ-I-Diabetes ein wesentliches betazellspezifisches Autoantigen darstellen.

Die Gruppe von Yoon (37) hat mit einem gegen humane Zytomegaloviren gerichteten monoklonalen Antikörper der Maus eine starke Kreuzreaktion mit Inselzellen beobachtet. Diese Antikörper waren in der Lage, ein 38 KD-Protein aus einer löslichen Präparation humaner Pankreasinseln zu erkennen. Dieses ist offenbar für den Menschen und das Pankreas spezifisch und könnte das relevante Zielantigen bei der persistierenden Zytomegalovirus-Infektion darstellen.

Effektormechanismen der Betazelldestruktion

Während viele Daten über die Ätiologie des Typ-I-Diabetes vorliegen, ist das Bild bei dessen Pathogenese noch sehr unklar. Der Nachweis einer mononukleären Infiltration der Inseln zeigt, daß die zellvermittelte Immunantwort beim Typ-I-Diabetes des Menschen eine wesentliche Rolle spielt. Für die weitere Aufklärung der Effektormechanismen müssen In-vitro-Studien und tierexperimentelle Daten bei der BB-Ratte und der NOD-Maus herangezogen werden.

Auf dem Boden der bisherigen Befunde ist den T-Lymphozyten eine vorrangige Rolle bei der Betazelldestruktion zuzuschreiben. Hier handelt es sich um spezifisch sensibilisierte Lymphozyten mit zytotoxischer Aktivität. Dies sind zunächst die antigenspezifischen T-Lymphozyten. Solche inselzellspezifische T-Zelllinien sind inzwischen aus den Inselinfiltraten der NOD-Maus isoliert worden (23). Ferner sind NK- (natürliche Killer) Zellen wirksam. Die NK-Zellaktivität ist beim Typ-I-Diabetes gesteigert. NK-

Zellen vermögen virusinfizierte und neoplastische Zellen auf bisher noch unbekannte Weise zu erkennen und zu lysieren. Jetzt ist ein Protein entdeckt worden, das als Rezeptor fungieren und die NK-Zell-Aktivität selektiv triggern kann (22). Solche Mechanismen dürften auch beim Typ-1-Diabetes eine Rolle spielen.

Alle Immunzellen produzieren eine Vielzahl von Effektormolekülen (z. B. freie Sauerstoffradikale, Tumornekrose-Faktor-alpha, Interleukin-1, Interferon-gamma und Perforin), die die Betazellfunktion dosisabhängig beeinträchtigen (12) und sie in hoher Dosis in vitro zerstören können (40). Die Adhärenz von Lymphozyten wird primär durch eine Interaktion zwischen dem auf der Lymphozytenoberfläche lokalisierten Lymphozytenfunktions-assoziierten Antigen 1 (LFA-1) und dem auf der Oberfläche der Zielzellen lokalisierten interzellulären Adhäsionsmolekül ICAM-1 vermittelt (56). Mit den Zytokinen IFN α oder TNF γ kann die Expression von ICAM-1 auf Inselzellen induziert werden (13). Diese Mechanismen dürften dazu beitragen, den einmal induzierten insulinischen Prozeß zu verstärken, der schließlich zum klinisch manifesten Typ-1-Diabetes führt.

LITERATUR

- Atkinson MA, MacLaren NK, Scharp DW, Lacy PE, Riley WJ. 64,000 Mr autoantibodies as predictors of insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1990; 335: 1357-60.
- Baekkeskov S, Landin M, Kristensen JK, Srikanta S, Bruining GJ, Mandrup-Poulsen T, de Beaufort C, Soeldner JS, Eisenbarth GS, Lindgren F, Sundquist G, Lernmark A. Antibodies to a 64,000 Mr human islet cell antigen precede the clinical onset of insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1987; 79: 926-34.
- Baekkeskov S, Aanstoot H-J, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, Folli F, Richter-Olesen H, De Camilli P. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990; 345: 151-6.
- Baisch JM, Weeks T, Giles R, Hoover M, Stasny P, Capra D. Analysis of HLA-DQ genotypes and susceptibility in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990; 322: 1836-41.
- Banatvala JE, Bryant H, Scherthaner G, Borkenstein M, Schober E, Brown D, De Silva LM, Menser MA, Silink M, Coxsackie B, mumps, rubella, and cytomegalovirus specific IgM responses in patients with juvenile-onset insulin-dependent diabetes mellitus in Britain, Austria, and Australia. *Lancet* 1985/1: 1409-12.
- Barnett AH, Eff C, Leslie RDG, Pyke DA. Diabetes in identical twins: a study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981; 20: 87-93.
- Bertrams J, Baur MP. Disease reports: Insulin-dependent diabetes mellitus. In: *Histocompatibility Testing*. S. 348-358. Albert ED, Baur MP, Mayr WR (eds). Springer, New York 1984.
- Bieg S, Hutton JC, Amann J, Baileys E, McGregor A, Scherbaum WA, Banga P. Spontaneous reactivity of T-lymphocytes from diabetic NOD mice to rat insulinoma subcellular fractions. 14th International Diabetes Federation Congress, Washington, June 23-28, 1991 (Abstract).
- Boehm BO, Scherbaum WA, Pfeiffer EF, Schöffling K. Immungenetik des Typ I (insulinpflichtigen) Diabetes mellitus. *Med Klin* 1987; 82: 439-42.
- Boehm BO, Manfras B, Scißler J, Schöffling K, Glück M, Holzberger G, Seidl S, Kühnl P, Trucco M, Scherbaum WA. Epidemiology and immunogenetic background of islet cell antibody-positive nondiabetic schoolchildren. Ulm-Frankfurt population study. *Diabetes* 1991; 40: 1435-9.
- Bottazzo GF, Dean BM, McNally JM, MacKay EH, Swift PGF, Gamble DR. In situ characterization of autoimmune phenomena and expression of HLA molecules in the pancreas in diabetic insulinitis. *N Engl J Med* 1985; 313: 353-60.
- Campbell IL, Icaro A, Harrison LC. Interferon-g and tumour necrosis factor-alpha cytotoxicity to murine islets of Langerhans. *J Immunol* 1988; 141: 2325-9.
- Campbell IL, Cutri A, Wilkinson D, Bodi AW, Harrison LC. Intracellular adhesion molecule-1 is induced on endocrine islet cells by cytokines but not by reovirus infection. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1989; 86: 4282-6.
- Christie MR, Pipelleers DG, Lernmark A, Baekkeskov S. Cellular and subcellular localization of an Mr 64,000 protein autoantigen in insulin-dependent diabetes. *J Biol Chem* 1990; 265: 376-81.
- Dorman JS, LaPorte RE, Stone RA, Trucco M. World-wide differences in the incidence of type 1 diabetes are associated with amino acid variation at position 57 of the HLA-DQ β chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7370-4.
- Drell DW, Notkins AL. Multiple immunological abnormalities in patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1987; 30: 132-43.
- Eisenbarth GS. Autoimmune serology in type 1 diabetes and in the prediabetic state. In: Scherbaum WA (Guest Editor). *IDF Bulletin* 1990; 40-3.
- Foulis AK, Liddle CN, Farquharson MA, Richmond JA, Weir RS. The histopathology of the pancreas in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a 25-year review of deaths in patients under 20 years of age in the United Kingdom. *Diabetologia* 1986; 29: 267-74.
- Foulis AK, Farquharson MA, Maeger A. Immunoreactive alpha-interferon in insulin-secreting? Cells in recent-onset type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 1987; 2: 1423-7.
- Foulis AK, Francis ND, Farquharson MA, Boylston A. Massive B-cell necrosis causing Type 1 (insulin-dependent) diabetes - a unique histopathological case report. *Diabetologia* 1988; 31: 46-50.
- Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 1965; 14: 619-33.
- Giorda R, Rudert WA, Vavassori C, Chambers WH, Hiscerodt JC, Trucco M. NKR-PI, a novel signal transduction molecule on NK cells. *Science* 1990; 249: 1298-300.
- Haskins K, McDuffie M. Acceleration of diabetes in young NOD mice with a CD4+ islet-specific T-cell clone. *Science* 1990; 249: 1433-6.
- Hutton JC. The insulin secretory granule. *Diabetologia* 1989; 32: 271-81.
- Jenson AB, Rosenberg HS, Notkins AL. Pancreatic islet cell damage in children with fatal viral infections. *Lancet* 1980/2: 354-8.
- Jones DB, Hunter NR, Duff GW. Heat-shock protein 65 as a β cell antigen of insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1990; 336: 583-5.
- Karjalainen J, Knip M, Hyöty H, Leinikki P, Ilonen J, Käär M-L, Akerblom HK. Relationship between serum insulin autoantibodies, islet cell antibodies and Coxsackie B4 and mumps virus-specific antibodies at the clinical manifestation of Type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1988; 31: 146-52.
- King ML, Shaikh A, Bidwell D, Voller A, Banatvala JE. Coxsackie B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1983/1: 1397-9.
- Kolb H. Cellular immunity in type 1 diabetes. In: Scherbaum WA (Guest Editor). *IDF Bulletin* 1990; 37-9.
- Lernmark A, Freedman ZR, Hofman C, Rubenstein AH, Steiner DF, Jackson RL, Winter RJ, Triasman HS. Islet cell surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1978; 299: 375-80.
- Lund T, O'Reilly L, Hutchings P, Kanagawa O, Simpson E, Gravely R, Chandler P, Dyson J, Picard JK, Edwards A, Kiousis D, Cooke A. Prevention of insulin-dependent diabetes mellitus in non-obese diabetic mice by transgenes encoding modified I-A β -chain or normal I-E alpha-chain. *Nature* 1990; 345: 727-9.
- Menser MA, Forrest JM, Honeyman MC, Burgess JA. Diabetes, HLA-antigens, and congenital rubella. *Lancet* 1978/1: 57-60.
- Mijazaki T, Uno M, Uehira M, Kikutani H, Kishimoto T, Kimoto M, Nishimoto H, Miyazaki J, Yamamura K. Direct evidence for the contribution of the unique I-A NOD to the development of insulinitis in non-obese diabetic mice. *Nature* 1990; 345: 722-4.
- Mordes JP, Desemone J, Rossini AA. The BB rat. *Diabetes/Metab Rev* 1987; 3: 725-42.
- Morel PA, Dorman JS, Todd JA, McDevitt HO, Trucco M. Aspartic acid at position

- 57b at the HLA-DQ β chain protects against type I diabetes: a family study. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8111–5.
36. Nayak RC, Omar MAK, Rabizadeh A, Srikanta S, Eisenbarth GS. »Cytoplasmic« islet cell antibodies: evidence that the target antigen is a sialoglycoconjugate. *Diabetes* 1985; 34: 617–9.
 37. Pak CA, Cha CY, Rajotte RV, McArthur RG, Yoon JW. Human pancreatic islet cell specific 38 kilodalton autoantigen identified by cytomegalovirus-induced monoclonal islet cell autoantibody. *Diabetologia* 1990; 33: 569–72.
 38. Pipeleers DG, In't Veld PA, Pipeleers-Marichal MA, Gepts W, van de Winkel M. Presence of pancreatic hormones in islet cells with MHC-class II antigen expression. *Diabetes* 1987; 36: 872–6.
 39. Pujol-Borrell R, Todd I, Doshi M, Bottazzo GF, Sutton R, Gray D, Adolf GR, Feldman M. HLA class II induction in human islet cells by interferon gamma plus tumour necrosis factor of lymphotoxin. *Nature* 1987; 326: 304–6.
 40. Pukel C, Baquerizo H, Rabinovitch A. Destruction of rat islet cell monolayers by cytokines: synergistic interactions of interferon-gamma, tumour necrosis factor, lymphotoxin and interleukin-1. *Diabetes* 1988; 37: 133–6.
 41. Rayfield EJ, Ishimura K. Environmental factors and insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Rev* 1989; 3: 925–57.
 42. Richter W, Endl J, Eiermann TH, Brandt M, Kientsch-Engel R, Thivolet C, Jungfer H, Scherbaum WA. Human monoclonal antibodies from patients with insulin-dependent diabetes mellitus reveal glutamate decarboxylase as the major cytoplasmic islet cell antigen. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, im Druck.
 43. Roep BO, Arden SD, de Vries RRP, Hutton JC. T-cell clones from a type-1 diabetes patient respond to insulin secretory granule proteins. *Nature* 1990; 345: 632–4.
 44. Rubinstein P, Walker ME, Fedun B, Witt ME, Cooper LZ, Ginsberg-Fellner F. The HLA system in congenital rubella patients with and without diabetes. *Diabetes* 1982; 31: 1088–91.
 45. Sarvetnick N, Shizuru J, Liggitt D, Martin L, McIntyre B, Gregory A, Parslow T, Stewart T. Loss of pancreatic islet cell tolerance induced by β -cell expression of interferon-gamma. *Nature* 1990; 346: 844–7.
 46. Scherbaum WA, Boehm BO, Schöffling K, Pfeiffer EF. Diagnostik der Autoimmunität vor der klinischen Manifestation des Diabetes mellitus Typ I. *Med Klin* 1987; 82: 443–6.
 47. Scherbaum WA, Mogel H, Boehm BO, Hedderich U, Glück M, Scherthner G, Bottazzo GF, Pfeiffer EF. Autoantibodies to adrenal medullary and thyroid calcitonin cells in type I diabetes mellitus. A prospective study. *J Autoimmunity* 1988; 1: 219–30.
 48. Scherbaum WA, Hampl W, Muir P, Glück M, Seißler J, Egle H, Hauner H, Boehm BO, Heinze E, Banatvala JE, Pfeiffer EF. No association between islet cell antibodies and coxsackie B, mumps, rubella and cytomegalovirus antibodies in non-diabetic individuals aged 7–19 years. *Diabetologia* 1991; 34: 835–8.
 49. Seißler J, Speck U, Glück M, Yassin N, Trischler G, Graf G, Fetzler A, Bornstein SR, Hauner H, Heinze E, Scherbaum WA. Epidemiologische Untersuchung zur Erkennung der präklinischen Phase des Typ I Diabetes bei Schulkindern. *Dtsch med Wschr* 1990; 115: 689–94.
 50. Slattery RM, Kjer-Nielsen L, Allison J, Charlton B, Mandel TE, Miller JFAP. Prevention of diabetes in non-obese diabetic I-A^k transgenic mice. *Nature* 1990; 345: 724–6.
 51. Solimena M, Folli F, Aparisi R, Pozza G, De Camilli P. Autoantibodies to GABAergic neurons and pancreatic beta cells in stiff-man syndrome. *N Engl J Med* 1990; 322: 1555–60.
 52. Tarn AC, Thomas JM, Dean BM, Ingram D, Schwartz G, Bottazzo GF, Gale EAM. Predicting insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1988; 1: 845–50.
 53. 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.
 54. Toniolo A, Onodera T, Yoon JW, Notkins AL. Induction of diabetes by cumulative environmental insults from viruses and chemicals. *Nature* 1980; 288: 383–5.
 55. Trucco M, Dorman JS. Immunogenetics of insulin-dependent diabetes mellitus in humans. *Crit Rev Immunol* 1989; 9: 201–45.
 56. Tuveco T, Dahlquist G, Frisk G, Blom L, Friman G, Landin-Olsson M, Diderholm H. The Swedish childhood diabetes study III: IgM against coxsackie B viruses in newly diagnosed Type I (insulin-dependent) diabetic children – no evidence of increased antibody frequency. *Diabetologia* 1989; 32: 745–7.
 57. Vardi P, Dibella EE, Pasquarello TJ, Srikanta S. Islet cell autoantibodies: pathobiology and clinical applications. *Diabetes Care* 1987; 10: 645–56.
 58. Warwryk SO, Novotny JR, Wicks IP, Wilkinson D, Mahler D, Salvaris E, Welch K, Fecondo J, Boyd AW. The role of the LFA-1/ICAM-1 interaction in human leukocyte homing and adhesion. *Immunol Rev* 1989; 108: 135–61.
 59. Yassin N, Seißler J, Glück M, Boehm BO, Heinze E, Pfeiffer EF, Scherbaum WA. Insulin autoantibodies as determined by competitive radiobinding assay are positively correlated with impaired beta-cell function. *Klin Wochenschr* 1991; 69: 736–41.
 60. Yoon JW, Austin M, Onodera T, Notkins AL. Virus-induced diabetes mellitus: Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med* 1979; 300: 1173–9.

Anschrift des Verf.:

Prof. Dr. W. A. Scherbaum
Medizinische Klinik und
Poliklinik des Klinikums der Universität
Oberer Eselsberg
Robert-Koch-Straße 8
W-7900 Ulm, FRG