

Diabetes bei polyendokrinen Autoimmunerkrankungen*

W. A. Scherbaum

1 Klinische Beobachtungen

Das assoziierte Vorkommen eines Diabetes mellitus mit dem Schmidt Syndrom (1) gab den ersten Hinweis für eine autoimmune Genese des insulinpflichtigen Diabetes. Beaven und Mitarbeiter (2) berichteten schon im Jahre 1959 über acht eigene Patienten mit Morbus Addison und Diabetes mellitus und weitere 55 Fälle in der Literatur. Diese Beobachtungen sind von Carpenter's Gruppe (3) erweitert worden, die den Zusammenhang zwischen Morbus Addison und autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen und/oder dem Diabetes mellitus herstellte. Nach der Einteilung von Neufeld et al. (4) wird diese um den Morbus Addison herum gruppierte Konstellation heute als autoimmunes polyglanduläres Syndrom Typ II bezeichnet.

1.1 Typ-I-Diabetes bei Morbus Addison

Systematische Untersuchungen haben ergeben, daß ein insulinpflichtiger Diabetes bei etwa 10% der Patienten mit einem idiopathischen Morbus Addison zu beobachten ist (5, 6, 7). Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen wurden bei Patienten mit Morbus Addison sogar in 15–20% der Fälle beschrieben. Da eine der Krankheiten den anderen in der Regel vorausgeht, werden manche dieser Patienten erstmals die Schilddrüsensprechstunde, andere zuerst eine Diabetesklinik aufsuchen (8). Solche Individuen können durch serologische Screening-Untersuchungen identifiziert werden (9, 10, 11).

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft Scl 225/3-2

2 Autoantikörper bei endokrinologischen Autoimmunerkrankungen

2.1 Häufigkeit assoziierter Autoimmunerkrankungen und Autoantikörper beim Typ-I-Diabetes

Unter 318 untersuchten Erwachsenen mit einem Typ-I-Diabetes fanden wir drei mit Morbus Addison, 11 mit autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen und einen mit perniziöser Anämie (Tab. 1). Betterle (12) kam an 239 Patienten zu ähnlichen Ergebnissen. Assoziierte Autoantikörper ohne eine manifeste Erkrankung der entsprechenden endokrinen Organe können bei Typ-I-Diabetikern häufiger nachgewiesen werden. Schilddrüsenantikörper sind bei diesen Patienten in etwa 30 % der Fälle nachzuweisen, Parietalzellantikörper kommen in 5–8 % vor (12, 13, 14, 15, 16).

Tab. 1. Organspezifische Autoimmunerkrankungen bei 318 Erwachsenen mit Typ-I-Diabetes

	Zahl	Prozent
Basedow-Hyperthyreose	6	1,9
Hashimoto-Thyreoiditis	4 11	1,3 3,5
Primäres Myxödem	1	0,3
Morbus Addison	3	0,9
Perniziöse Anämie	1	0,3
ITP	1	0,3
Sjögren-Syndrom	2	0,6
Vitiligo	11	3,5
polyendokrine Patienten	18	5,7 %

2.2 Bedeutung eines zufällig festgestellten positiven Autoantikörperbefundes

Inselzellantikörper wurden erstmals bei der systematischen Untersuchung der Seren von Patienten mit polyendokrinen Autoimmunerkrankungen nachgewiesen. Solche Patienten sollten als Risikogruppen bevorzugt auf ICA untersucht werden (17, 18).

Bei einem Patienten mit zugehöriger Krankheit kann der Nachweis der spezifischen Autoantikörper als Bestätigung der autoimmunen Genese gewertet werden. Dagegen besitzt ein zufällig festgestellter positiver Antikörpertest oft nur eine eingeschränkte klinische Relevanz (19). Beim alleinigen Nachweis von Schilddrüsenantikörpern im Serum ist das Risiko für die Entwicklung einer

Hypothyreose auch bei Patienten mit Typ-I-Diabetes nicht signifikant erhöht. Erst wenn gleichzeitig ein erhöhter TSH-Wert festzustellen ist, beträgt das Hypothyreoserisiko pro Jahr 5 % (20). Weitere häufig nachweisbare Antikörper sind die Parietalzellantikörper, deren Prävalenz mit zunehmendem Alter der untersuchten „Normalpersonen“ auf bis zu 25 % ansteigt. Mit subtilen Funktionstests kann bei solchen Individuen gehäuft eine Hypochlorhydrie und eine Erniedrigung des Vitamin-B12-Spiegels festgestellt werden (21).

Die Nebennierenrindenantikörper (22, 23) oder die ICA (24, 25) sind insbesondere dann mit einem hohen Krankheitsrisiko verbunden, wenn die Titer hoch sind und die Komplementbindung positiv ist. Der Nachweis fluktuierender ICA scheint nicht so krankheitsassoziiert zu sein (26). Systematische Untersuchungen haben ergeben, daß ein guter Teil dieser ICA-positiven Nicht-Diabetiker eine eingeschränkte Insulinreserve und schließlich einen manifesten Typ-I-Diabetes entwickelt (27).

Prospektive Untersuchungen haben gezeigt, daß nur wenige Individuen, bei denen keine ICA nachzuweisen sind, über die nächsten Jahre einen Typ-I-Diabetes entwickeln (18, 28). In einer englischen Familienstudie wurden mehr als 700 Verwandte ersten Grades von Typ-I-Diabetikern aus 198 Familien untersucht. 15 von 54 ICA-positiven und nur zwei von 665 ICA-negativen Individuen entwickelten im Beobachtungszeitraum von maximal 8 Jahren einen Diabetes (25). Tabelle 2 gibt das relative Risiko ICA-positiver Personen für die Entstehung eines Typ-I-Diabetes an. Die prognostische Aussagekraft der komplementbindenden ICA ist sehr hoch. Noch besser ist allerdings der prädiktive Wert wenn man hohe ICA-Titer (≥ 32) für die Kalkulation heranzieht.

Neben den ICA können beim Typ-I-Diabetes auch Insulinautoantikörper (IAA) vor Beginn des Diabetes nachgewiesen werden. Wenn IAA sowie ICA positiv sind, so ist das Risiko für die Entstehung eines Typ-I-Diabetes stark erhöht (29), insbesondere dann, wenn die IAA vom IgG-Typ sind. IgM-IAA können mit dem ELISA-Test nicht selten passager im Rahmen von banalen Virusinfekten nachge-

Tab. 2. ICA-Status und Risiko für Typ-I-Diabetes

	komplement- bindende ICA positiv (n=24)	nur IgG-ICA	
		positiv (n=30)	ICA negativ (n=665)
Typ-I-Diabetes	13 (54 %)	1 (3 %)	2 (0,3 %)
Diabetes „unklarer Typ“	1	—	—
nicht-diabetisch	10 (42 %)	29 (97 %)	663 (99,7 %)
Relatives Risiko gegenüber ICA-negativen	341	14	

nach: Tarn et al.: Lancet 1988

wiesen werden (30). Die meisten der bisher durchgeführten Screeninguntersuchungen betreffen Familienstudien. Etwa 85 % der Fälle von Typ-I-Diabetes treten jedoch sporadisch auf, so daß sie mit solchen Programmen nicht zu erfassen sind.

2.3 Organspezifität von Autoantikörpern bei polyendokrinen Autoimmunerkrankungen

Bei polyendokrinen Autoimmunerkrankungen reagieren wahrscheinlich einzelne Autoantikörperpopulationen spezifisch mit einzelnen endokrinen Organen. In eigenen Experimenten wurden die Seren von Diabetikern untersucht, die sowohl ICA, als auch Nebennierenmark-Ak und C-Zell-Ak enthielten. Die ICA-Reaktivitäten ließen sich zwar durch eine Präinkubation mit Inselzellextrakten, nicht jedoch mit Nebennierenmark- oder C-Zell-Extrakten beseitigen. Dasselbe traf für die NNM-Ak und die C-Zell-Ak zu (31). Ähnliche Ergebnisse haben auch Absorptionsstudien an Seren erbracht, die mikrosomale Schilddrüsenantikörper und ICA enthielten.

2.4 Autoantikörper bei endokrinen Autoimmunerkrankungen sind überwiegend polyklonal

Jeder reife B-Lymphozyt kann nur Antikörper mit einem einzigen Leicht- oder Schwerekettenotyp produzieren. Dean u. Mitarb. (32) haben gefunden, daß die Subklasse IgG3 in ICA-positiven Seren meist fehlt, daß aber in allen diesen Seren mehr als eine IgG-Subklasse repräsentiert ist. In höhertitrigen Seren konnten andere Autoren immer alle vier Subklassen nachweisen (33). Diese heterogene Verteilung von IgG-Subklassen hängt möglicherweise mit einer eingeschränkten Affinität der monoklonalen IgG3- und IgG4-Antikörper im Detektionssystem zusammen. Schatz u. Mitarb. (34) wiesen darüberhinaus nach, daß alle von ihnen untersuchten ICA-positiven Seren sowohl κ - als auch λ -Leichtketten enthielten. Auch bei autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen wurden heterogene B- und T-Zell-Reaktionen gefunden, die auf eine polyklonale Immunreaktion schließen lassen (35, 36). Kaulfersch u. Mitarb. (37) konnten schließlich die Polyklonalität der Immunantwort bei Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse dadurch beweisen, daß sie in peripheren und intrathyreoidalen Lymphozyten heterogene Immunglobulin- und T-Zell-Antigen-Rezeptorgen-Arrangements nachwiesen.

Die obengenannten Befunde schließen die Entstehung der ICA und der Schilddrüsenantikörper durch einen einzelnen aberranten eventuell durch somatische Mutation entstandenen Lymphozytenklon aus. Die polyklonale Natur der organspezifischen Autoantikörper bestärkt vielmehr die Hypothese, daß dem



Typ-I-Diabetes und anderen Autoimmunerkrankungen ein breiter Defekt der Immunregulation zugrundeliegt, der die Expression vorbestehenden autoreaktiver Lymphozytenklone erlaubt (38).

3 Zugrundeliegende Ursachen von Autoimmunerkrankungen

Autoimmunerkrankungen werden durch pathologische zelluläre und humorale Reaktionen gegen Autoantigene hervorgerufen. Die ursprüngliche Annahme, daß zirkulierende Autoantigene oder eine fehlende klonale Deletion autoreaktiver Lymphozyten alleine anzuschuldigen sind, kann heute nicht mehr aufrechterhalten werden. Der Autoimmunreaktion liegen vielmehr Störungen der regulatorischen Kontrollmechanismen zugrunde, die unter physiologischen Bedingungen eine Interaktion von Autoantigenen mit autoreaktiven Lymphozyten supprimieren (39).

3.1 Zirkulierende Autoantigene und autoreaktive Lymphozyten

Alle Komponenten, die für eine Autoimmunreaktion gegen Autoantigene benötigt werden, sind im Körper vorhanden. Die meisten Autoantigene des Körpers sind den zirkulierenden immunkompetenten Zellen zugänglich. Außerdem konnte nachgewiesen werden, daß auch im Blut normaler Individuen autoreaktive B-Lymphozyten zirkulieren, die z.B. Thyreoglobulinantikörper produzieren (40). Ebenso können autoreaktive T-Lymphozyten aus dem Blut normaler Individuen isoliert werden. Es wird geschätzt, daß etwa 10–30 % der B-Lymphozyten normaler Erwachsener Antikörper gegen Autoantigene produzieren können. Cohen and Cooke (41) haben sogar die Hypothese aufgestellt, daß diese Autoantikörper eine physiologische protektive Wirkung ausüben, indem sie sich an Autodeterminanten binden und damit die Entstehung eines destruktiven Autoimmunprozesses verhindern.

3.2 Kreuzreagierende Antigene

Viren können antigene Determinanten besitzen, die auch im Wirtsorganismus vorkommen. Damit kann eine physiologische Immunantwort gegen solche Mikroorganismen zur Kreuzreaktion mit Autodeterminanten führen. Nach Untersuchungen von Srinivasapa (42) kreuzreagieren etwa 4 % Virusantikörper mit Proteinen von nicht infizierten Geweben. Dasselbe trifft für Hormonantikörper zu. Die

Bedeutung dieses „molecular mimicry“ für die Entstehung der Zöliakie und des Reiter Syndroms ist inzwischen gut belegt (43).

3.3 Autoantikörper als anti-idiotypische Antikörper

Nach der Netzwerktheorie von Jerne (44) wird das Immunsystem durch multiple Interaktionen von Antigenen und Antikörpern reguliert. Dabei bewirkt ein Antigen die Produktion von Antikörpern (Ak1) mit idiotypischen Determinanten, die wiederum in der Lage sind, die Produktion von anti-idiotypischen Antikörpern (Ak2) zu induzieren usw. Dieses System wird durch Suppressionsmechanismen kontrolliert und kann durch Antigenexposition aus dem Gleichgewicht gebracht werden (45). Viren können sich spezifisch an Oberflächenrezeptoren anlagern und eine direkte Zellschädigung hervorrufen. Jedoch kann die Immunreaktion auch nach Elimination des Virus fortbestehen, indem die anti-idiotypischen Antikörper dieser Virusantikörper mit den Organrezeptoren reagieren (Abb. 1). Autoantikörper könnten solche anti-idiotypische Antikörper gegen Viren darstellen (46).

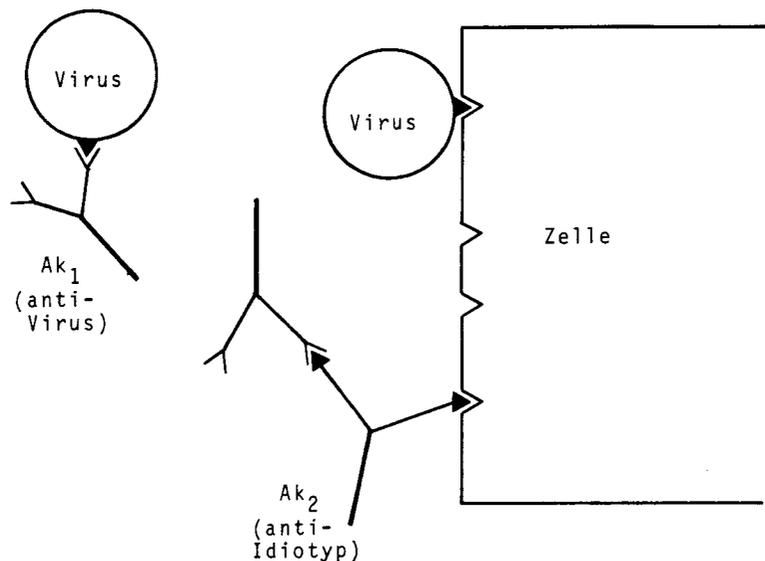


Abb. 1. Viren können sich spezifisch an Oberflächenrezeptoren anlagern und eine direkte Zellschädigung hervorrufen. Jedoch kann die Immunreaktion auch nach Elimination des Virus fortbestehen, indem die anti-idiotypischen Antikörper gegen diese Viren (AK₂) mit den Organrezeptoren reagieren. Autoantikörper könnten solche anti-idiotypischen Antikörper gegen Viren darstellen.

4 Somatische Mutation

Die somatische Mutation von bereits rearrangierten Immunglobulingenen ist ein wichtiger Mechanismus für die Expansion der Antikörpervielfalt bei der normalen Immunantwort (47). Die somatische Mutation ist im allgemeinen ein Charakteristikum der sekundären Immunantwort und sie ist insbesondere bei IgG-Antikörpern nachweisbar. Die in vivo auftretende somatische Mutation kann die Affinität sowie die antigenetische oder idiotypische Spezifität des Antikörpermoleküls beeinflussen (48). Sie ist nicht nur ein wichtiger Prozeß bei der Reifung einer B-Zell-Antwort, sondern sie kann auch zu autoreaktiven Antikörpern führen.

5 Rolle der Lymphozyten bei polyendokrinen Autoimmunerkrankungen

Die hypothetischen Mechanismen, die der Pathogenese polyendokriner Autoimmunerkrankungen zugrundeliegen, wurden von uns bereits andernorts ausführlich diskutiert (49). Sicherlich spielt eine generelle Störung der T-Lymphozyten, insbesondere der T-Suppressorzellen, eine zentrale Rolle (50). Die betroffenen Organe zeigen gemischte Rundzellinfiltrate, bestehend aus Makrophagen, B-Lymphozyten sowie CD4-positiven und CD8-positiven T-Lymphozyten. Bei der polyendokrinen Endokrinopathie Typ II kann keine einheitliche Störung der Verteilung peripherer Blutlymphozyten beobachtet werden.

Beim Menschen gibt es leider keinen einfachen Test, der die Antigenspezifität regulatorischer T-Suppressorzellen anzeigen könnte. Die Vermutung, daß solche Zellpopulationen wesentlich zur Aufrechterhaltung der natürlichen Toleranz beitragen, wird bestärkt durch eine ganze Reihe von Tierexperimenten. Unter anderem kann das Auftreten des Diabetes bei diabetischen Stämmen von BB-Ratten durch Injektion histokompatibler peripherer Lymphozyten von nicht-diabetischen Stämmen verhindert werden (51).

Eine pathologische Aktivierung organspezifischer T-Helferzellen spielt eine große Rolle bei der Amplifizierung der immunologischen Reaktion. Ferner können T-Lymphozyten auch Effektormechanismen auslösen, indem sie z.B. einen direkten zytotoxischen Effekt auf Organzellen ausüben. Dieser Effekt kann in vivo durch eine Zyklosporintherapie supprimiert werden. Des weiteren sind T-Lymphozyten in der Lage, Zytokine auszuschütten, die z.B. in Form von B-Zell-Wachstumsfaktor B-Lymphozyten aktivieren, über Interleukin 1 oder γ -Interferon NK-Zellen stimulieren und damit Organzellen schädigen (52) oder über den Makrophagen-Aktivierungs-Faktor (MAF) wirksam werden.

6 Monoklonale IgM-Antikörper, die mit mehreren Organen reagieren

Mit Reovirus Typ 1 infizierte Mäuse entwickeln eine polyendokrine Autoimmunreaktion. Solche Mäuse haben gehäuft Autoantikörper, die mit Hypophysenvorderlappengewebe, Pankreasinseln, Schilddrüse und Mukosazellen des Magens reagieren. Durch eine Fusion der Milzzellen dieser Mäuse mit Myelomzellen konnte die Gruppe von Notkins Hybridome gewinnen, die monoklonale IgM-Antikörper mit Reaktion gegen mehrere endokrine Organe produzieren (53). Auch mit peripheren Lymphozyten von Patienten mit Typ-I-Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis oder beiden Krankheiten konnten antikörpersezernierende Hybridome erzeugt werden, die z.T. multireaktive IgM-Antikörper gegen Hypophyse, Mukosazellen des Magens, Schilddrüsenzellen und Inselzellen sezernierten (54). Absorptionsstudien ließen hier weitgehend gemeinsame Antigene annehmen.

Die Bedeutung der oben genannten Befunde bleibt unklar, da multi-organreaktive Hybridome auch mit Lymphozyten normaler Mäuse produziert werden können (55). Ebenso wurden durch eine Transformation von peripheren Lymphozyten von Patienten mit Autoimmunerkrankungen als auch aus normalen Individuen überwiegend monoklonale Antikörper der IgM-Klasse gewonnen (56). Der Isotyp der Autoantikörper ist eventuell für die krankmachende Wirkung wichtig. Die meisten natürlichen Autoantikörper gehören der IgM-Klasse an, während die mit Krankheiten assoziierten Autoantikörper vom IgG-Typ sind.

7 Rolle der aberranten HLA-Klasse-II-Expression auf Organzellen

Die Erkennung von Antigenen durch T-Helferzellen steht im Zentrum des Aktivierungsprozesses von Autoimmunreaktionen. T-Helferzellen erkennen Antigene nur dann, wenn letztere zusammen mit HLA-Klasse-II-Antigenen (DR, DP, DQ) präsentiert werden. Diese Genprodukte sind unter physiologischen Bedingungen auf antigenpräsentierenden Zellen wie Makrophagen und dendritischen Zellen sowie auf B-Lymphozyten und aktivierten T-Lymphozyten exprimiert (57). Auf Organzellen wie den Inselzellen des Pankreas sind HLA-DR Antigene normalerweise nicht nachzuweisen (60). Diese Restriktion der Klasse-II-Expression kann jedoch *in vitro* und *in vivo* aufgehoben werden.

Eine aberrante Expression von Klasse-II-Antigenen wurde z.B. auf Thyreozyten beim Morbus Basedow (59) und später auf Inselzellen des Pankreas frisch

manifestierter Diabetiker gefunden (60, 61). Dabei war auffällig, daß die aberrante Klasse-II-Expression auf Betazellen beschränkt war und daß sie auch in solchen Inseln zu beobachten war, die keine lymphozytären Infiltrate aufwiesen. In Inseln, die keine Betazellen mehr enthielten, war weder eine aberrante Klasse-II-Expression noch eine lymphozytäre Infiltration nachweisbar.

Die aberrante HLA-Klasse-II-Expression auf Inselzellen ist charakteristisch für den Typ-I-Diabetes. Sie ist bei anderen entzündlichen Pankreasprozessen wie der zystischen Fibrose oder der chronischen Pankreatitis nicht nachweisbar (61, 62). Bei der exokrinen Pankreatitis sind dagegen die exokrinen Pankreaszellen HLA-DR-positiv (63). Des weiteren ist eine organspezifische HLA-Klasse-II-Expression auf Darmepithelien bei entzündlichen Darmerkrankungen (64), auf exokrinen Pankreaszellen bei der Pankreatitis (63), auf Melanozyten bei der Alopecia areata (65) und beim Melanom (66) sowie auch auf Karzinomzellen (67) beschrieben worden.

In vitro konnte die aberrante Expression von HLA-Klasse-II-Antigenen auf Thyreozyten mit Mitogenen oder γ -Interferon induziert werden (68, 69). Bei Inselzellen des Pankreas bedarf es jedoch der zusätzlichen Inkubation mit Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) oder Lymphotoxin, also weiterer Zytokine, die von infiltrierenden mononukleären Zellen abgegeben werden können (70, 71). TNF wirkt synergistisch mit γ -Interferon im Sinne einer Hemmung der Virusreplikation (72). Die Stärke der TNF-Induktion wird von Genen kontrolliert, die im HLA-Komplex lokalisiert sind (73). Diese genetisch determinierte unterschiedliche Zytokinstimulierung könnte zur Induktion der aberranten HLA-Klasse-II-Expression auf Organzellen beitragen.

8 Genetische Prädisposition und Triggermechanismen beim Diabetes und polyendokrinen Autoimmunerkrankungen

Über 90 % der Patienten mit einem Typ-I-Diabetes haben den HLA-Typ DR 3 und/oder DR 4 (74). Diese HLA-Typen sind jedoch auch bei der Hälfte der Normalbevölkerung anzutreffen, so daß die Untersuchung für die Abschätzung des individuellen Risikos wertlos ist. Hier kann aber die molekularbiologische HLA-Genotypisierung weiterhelfen (s.u.). Es gibt bisher keine Hinweise dafür, daß sich die HLA-Typen bei Familien mit mehreren erkrankten Individuen oder solchen mit assoziierten Autoimmunerkrankungen von denen beim einfachen, sporadischen Typ-I-Diabetes unterscheiden (75, 76). In Familienuntersuchungen erlaubt der Vergleich der HLA-Typen von Erkrankten mit denen eines gesunden bzw. ICA-positiven Geschwisters eine bessere Aussage (77). Das Erkrankungsrisi-

ko für HLA-identische Geschwister über maximal 8 Jahre liegt zwischen 10 und 16 (25, 78). Für haploidentische beträgt es nur noch die Hälfte und für nicht HLA-identische ist das Risiko nicht eindeutig erhöht.

8.1 Gibt es Gene, die die Empfänglichkeit für polyendokrine Autoimmunerkrankungen bestimmen?

Die immungenetische Untersuchung der HLA-DQ und -DR Subtypen vermag krankheitsassoziierte Spezifitäten anzuzeigen. Nach unseren Befunden ist der Typ-I-Diabetes assoziiert mit dem HLA-DRw52b-Subtyp (79). Noch enger scheint die Krankheit mit dem DQ-Lokus assoziiert zu sein. Die Gruppe um McDevitt (80) hat Befunde erhoben, die annehmen lassen, daß das Vorhandensein einer bestimmten Aminosäure bei Position 57 auf dem HLA-DQ β -Gen die Empfänglichkeit für den Typ-I-Diabetes entscheidend beeinflusst. Entsprechende aufwendige Untersuchungen liegen für polyendokrine Autoimmunerkrankungen noch nicht vor; sie wären aber für das Verständnis der genetischen Prädisposition von größtem Interesse.

9 Zusammenfassung

Der Diabetes mellitus Typ I kann assoziiert mit anderen endokrinen Autoimmunerkrankungen auftreten. Besonders gefährdet sind Patienten mit einem Morbus Addison, bei denen der insulinpflichtige Diabetes in 10 % der Fälle vorkommt. Noch häufiger können damit assoziierte autoimmune Schilddrüsenerkrankungen beobachtet werden. Da eine der Erkrankungen den anderen meist vorausgeht, kann bei manchen solcher Patienten erstmals ein isolierter Typ-I-Diabetes, ein Morbus Basedow oder eine Hashimoto-Thyreoiditis diagnostiziert werden. Durch gezielte Autoantikörpertests kann die zugrundeliegende polyendokrine Autoimmunerkrankung oft Jahre vor der klinischen Manifestation der übrigen Krankheitserscheinungen diagnostiziert werden. Die immungenetischen Grundlagen und pathogenetischen Mechanismen, die zu einer autoimmunen Entzündung mehrerer endokriner Organe beitragen, sind nur zum Teil bekannt.

Literatur

1. Schmidt MB. Eine biglanduläre Erkrankung (Nebennieren und Schilddrüse) bei Morbus Addisonii. *Verh Dtsch Ges Pathol* 926; 21: 212–214.
2. Beaven DW, Nelson DH, Renold AE, Thorn GW. Diabetes mellitus and Addison's disease: a report on 8 patients and a review of 55 cases in the literature. *N Engl J Med* 959; 261: 443–454.

3. Carpenter CCI, Solomon N, Silverberg SG, Bledsoe T et al. Schmidt's syndrome (thyroid and adrenal insufficiency). A review of the literature and a report of fifteen new cases including ten instances of coexistent diabetes mellitus. *Medicine (Balt.)* 1964; 43: 153–180.
4. Neufeld M, MacLaren N, Blizzard R. Autoimmune polyglandular syndromes. *Pediatr Ann* 1980; 9: 43–53.
5. Anderson JR, Goudie RB, Gray K, Stuart-Smith DA. Immunological features of idiopathic Addison's disease: an antibody to cells producing steroid hormones. *Clin Exp Immunol* 1968; 3: 107–117.
6. Nerup J. Addison's disease – clinical studies. A report of 108 cases. *Acta Endocrinol (Kbh)* 1974; 76: 127–141.
7. Irvine WJ. Autoimmunity against steroid producing organs. In: Menarini Series on Immunopathology. Miescher PA, Bolis L, Gorini S, Lambo TA, Nossal GJV, Torrigiani G (eds) Basel, Stuttgart: Schwabe 1978: 35–49.
8. Doniach D, Bottazzo GF. Polyendocrine Autoimmunity. In: Franklin EC, Buckley RH, Doniach D, Fahey JL, Parker CW, Rosse WS (eds) *Clinical Immunology Update* New York: Elsevier 1981: 95–121.
9. Blizzard RM, Chee D, Davis W. The incidence of adrenal and other antibodies in the sera of patients with idiopathic adrenal insufficiency (Addison's disease). *Clin Exp Immunol* 1967; 2: 19–30.
10. Nerup J. Addison's disease – serological studies. A report of 108 cases. *Acta Endocrinol (Kbh)* 1974; 76: 142–158.
11. Scherbaum WA, Stöckle G, Wichmann J, Berg PA. Immunological and clinical characterization of patients with untreated euthyroid and hypothyroid autoimmune thyroiditis. Antibody spectrum, response to TRH and clinical study. *Acta Endocrinol (Kbh)* 1982; 100: 373–381.
12. Betterle C, Zanette F, Pedini B, Presotto F et al. Clinical and subclinical organ-specific autoimmune manifestations in Type I (insulin-dependent) diabetic patients and their first-degree relatives. *Diabetologia* 1984; 26: 431–436.
13. Riley WJ, MacLaren NK, Lezotte DC, Spillar RP, Rosenbloom AL. Thyroid autoimmunity in insulin dependent diabetes mellitus: the case for routine screening. *J Pediatr* 1981; 99: 350–354.
14. Bright GM, Blizzard RM, Kaiser DL, Clarke WL. Organ-specific autoantibodies in children with common endocrine diseases. *J Pediatr* 1982; 100: 8–14.
15. Dorchy H. Organ-specific antibodies in young diabetics. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72: 131–132.
16. Lorini R, Larizza D, Cammareri V, Martini A et al. Autoimmunity in children with diabetes mellitus and in their relatives. *Eur J Pediatr* 1986; 145: 182–184.
17. Scherbaum WA. Frühdiagnose endokriner Autoimmunerkrankungen. *Internist Prax* 1985; 25: 99–107.
18. Betterle C, Presotto F, Pedini B, Moro L et al. Islet cell and insulin autoantibodies in organ-specific autoimmune patients. Their behaviour and predictive value for the development of Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. A 10-year follow-up study. *Diabetologia* 1987; 30: 292–297.
19. Winter WE, MacLaren NK. To what extent is 'polyendocrine' serology related to the clinical expression of disease? *Balliere's Clin Immunol Allerg* 1987; 1: 109–123.
20. Gray RS, Borse DQ, Irvine WJ, Seth J, Clarke BF. Natural history of thyroid function in diabetics with impaired thyroid reserve: a four year controlled study. *Clin Endocrinol* 1983; 19: 445–451.
21. Riley WJ, Toskes PP, MacLaren NK, Silverstein JH. Predictive value of gastric parietal cell autoantibodies as a marker for gastric and hematologic abnormalities associated with insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1982; 31: 1051–1055.
22. Scherbaum WA, Berg PA. Development of adrenocortical failure in non-addisonian patients with antibodies to adrenal cortex. A clinical follow-up study. *Clin Endocrinol* 1982; 16: 345–352.
23. Betterle C, Zanette F, Zanchetta R, Pedini B et al. Complement-fixing adrenal autoantibodies: a marker for predicting the onset of idiopathic Addison's disease. *Lancet* 1983; 1: 1238–1241.
24. Bergua M, Sole J, Marion G, Perez MC et al. Prevalence of islet cell antibodies, insulin antibodies and hyperglycaemia in 2291 schoolchildren. *Diabetologia* 1987; 30: 724–726.
25. Tarn AC, Thomas JM, Dean BM, Ingram D et al. Predicting insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1988; 1: 845–850.

26. Spencer KM, Tarn A, Dean BM, Lister J, Bottazzo GF. Fluctuating islet-cell autoimmunity in unaffected relatives of patients with insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1984; 1: 764–766.
27. Scherbaum WA, Boehm BO, Schöffling K, Pfeiffer EF. Diagnostik der autoimmunen Insulinitis vor der klinischen Manifestation des Diabetes mellitus Typ I. *Med Klin* 1987; 82: 443–446.
28. Srikanta S, Ganda OM, Rabizadeh A, Soeldner JS, Eisenbarth GS. First-degree relatives of patients with Type I diabetes mellitus. Islet-cell antibodies and abnormal insulin secretion. *N Engl J Med* 1985; 313: 461–464.
29. Srikanta S, Ricker AT, McCulloch DK et al. Autoimmunity to insulin, beta cell dysfunction, and development of insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1986; 35: 139–142.
30. Bodansky HJ, Grant PJ, Dean BM, McNally J et al. Islet-cell antibodies and insulin autoantibodies in association with common viral infections. *Lancet* 1986; 2: 1351–1353.
31. Scherbaum WA, Mogel H, Boehm BO, Hedderich U et al. Autoantibodies to adrenal medullary and thyroid calcitonin cells in type I diabetes mellitus. A prospective study. *J Autoimmunity* 1988; 1: 219–230.
32. Dean BM, Bottazzo GF, Cudworth AG. IgG subclass distribution in organ-specific autoantibodies. The relationship to complement fixing ability. *Clin Exp Immunol* 1983; 52: 61–66.
33. Bruining GJ, Molenaar J, Tuk CW, Lindeman J et al. Clinical time course and characteristics of islet cell cytoplasmic antibodies in childhood diabetes. *Diabetologia* 1984; 26: 24–29.
34. Schatz DA, Barrett DJ, MacLaren NK, Riley WJ. Polyclonal nature of islet cell antibodies in insulin-dependent diabetes. *Autoimmunity* 1984; 1: 45–50.
35. Weetman AP, Volkman DJ, Burman KD, Margolick JP et al. The production and characterization of thyroid derived T-cell lines in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *Clin Immunol Immunopathol* 1986; 39: 139–150.
36. Weetman AP, Nutman TB, Baker Jr JR, Burman KD. Demonstration by immunoblotting of heterogeneity in the autoantibody response directed against fat cells in Graves' disease. *FEBS Lett* 1987; 211: 69–72.
37. Kaulfersch W, Baker JR Jr, Burman KD, Ahmann AJ, D'Avis JC, Waldmann TA. Immunoglobulin and T cell antigen receptor gene arrangements indicate that the immune response in autoimmune thyroid disease is polyclonal. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 958–963.
38. Adams DD, Adams YJ, Knight JK, McCall J et al. A solution to the genetic and environmental puzzles of insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1984; 1: 420–424.
39. Roitt IM. Prevailing theories in autoimmune disorders. *Triangle* 1984; 23: 67–76.
40. Logtenberg T, Melissen PMB, Kroon A, Gmelig-Meyling FHJ, Ballieux RE. Autoreactive B cells in normal humans. Autoantibody production upon lymphocyte stimulation with autoantigen-xenoantigen conjugates. *J Immunol* 1988; 140: 446–450.
41. Cohen IR, Cooke A. Natural autoantibodies might prevent autoimmune disease. *Immunol Today* 1986; 7: 363–364.
42. Srinivasapa J, Salgusa J, Prabhakar BS, Gentry MK et al. Molecular mimicry: frequency of reactivity of monoclonal antiviral antibodies with normal tissues. *J Virol* 1986; 57: 397–401.
43. Oldstone MBA. Molecular mimicry and autoimmune disease. *Cell* 1987; 50: 819–820.
44. Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol (Paris)* 1974; 125C: 373.
45. Geha RS. Current concepts in immunology. Regulation of the immune response by idiotypic-antiidiotypic interactions. *N Engl J Med* 1981; 305: 25–28.
46. Plotz PH. Autoantibodies are anti-idiotypic antibodies to antiviral antibodies. Hypothesis. *Lancet* 1983; 2: 824–826.
47. Rajewsky K, Förster I, Cumano A. Evolutionary and somatic selection of the antibody repertoire in the mouse. *Science* 1987; 238: 1088–1094.
48. Davidson A, Shefner R, Livneh A, Diamond B. The role of somatic mutation of immunoglobulin genes in autoimmunity. *Ann Rev Immunol* 1987; 5: 85–108.
49. Scherbaum WA, Youinou P, Jouquan J, Pujol-Borrell R et al. Polyendocrinopathies autoimmunes. Hypotheses pathogeniques. *Ann Endocr (Paris)* 1986; 47: 420–428.
50. Bach JF. Mechanisms of autoimmunity in insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin exp Immunol* 1988; 72: 1–8.

51. Rossini AA, Faustman D, Woda BA, Like AA et al. Lymphocyte transfusions prevent diabetes in the Bio-Breeding/Worcester rat. *J clin Invest* 1984; 74: 39–46.
52. Rabinovitch A, MacKay P, Baquerizo H, Pukel C. Identification of lymphoid cells cytotoxic to islet cells in diabetic BB/W rats. In: *The Immunology of Diabetes* MA Jaworsky et al. (ed). Amsterdam: Elsevier 1986: 81.
53. Haspel MV, Onodera T, Prabhakar BS, McClintock PR et al. Multiple organ-reactive monoclonal autoantibodies. *Nature* 1983; 304: 73–76.
54. Satoh J, Prabhakar BS, Haspel MV, Ginsberg-Fellner F, Notkins AL. Human monoclonal autoantibodies that react with multiple endocrine organs. *N Engl J Med* 1983; 309: 217–220.
55. Notkins AL, Prabhakar BS. Monoclonal autoantibodies that react with multiple organs. Basis for reactivity. *Ann N Y Acad Sci* 1986; 95: 123–134.
56. Garzelli C, Taub FE, Scharff JE, Prabhakar BS et al. Epstein-Barr virus-transformed lymphocytes produce monoclonal autoantibodies that react with antigens in multiple organs. *J Virol* 1984; 52: 722–725.
57. Kaufman JF, Auffray C, Korman AJ, Shackleford DA, Strominger JL. The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex. *Cell* 1984; 36: 1–13.
58. Baekkeskov S, Kanatsuna T, Klareskog L, Nielsen DA et al. Expression of major histocompatibility antigens on pancreatic islet cells. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78: 6456–6460.
59. Hanafusa T, Pujol-Borrell R, Chiovato L, Russell RCG et al. Aberrant expression of HLA-DR antigen on thyrocytes in Graves' disease: relevance for autoimmunity. *Lancet* 1983; 2: 1111–1113.
60. Bottazzo GF, Dean BM, McNally JM, Mackay EH et al. In situ characterization of autoimmune phenomena and expression of HLA molecules in the pancreas in diabetic insulinitis. *N Engl J Med* 1985; 313: 353–360.
61. Foulis AK, Farquharson MA, Hardman R. Aberrant expression of class II major histocompatibility complex molecules by B cells and hyperexpression of class I major histocompatibility complex molecules by insulin containing islets in Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1987; 30: 333–343.
62. Bovo P, Mirakian R, Medigo F, Angelini G et al. Chronic pancreatitis: is there a role for autoimmunity? A preliminary study. *Pancreas* 1987; 2: 350–356.
63. Pujol-Borrell R, Todd I, Doshi M, Gray D et al. Differential expression and regulation of MHC products in the endocrine and exocrine cells of the human pancreas. *Clin Exp Immunol* 1986; 65: 128–139.
64. Selby WS, Janossy G, Mason DY, Jewell DP. Expression of HLA-DR antigens by colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 1983; 53: 614–618.
65. Messenger AG, Bleehen SS, Slater DN, Rooney N. Expression of HLA-DR in hair follicles in alopecia areata. *Lancet* 1984; 1: 287–288.
66. DuPont G, Alexander MA, Herlyn MF, Zehngbot LM et al. HLA-DR histocompatibility leukocyte antigens permit cultured human melanoma cells from early but not advanced disease to stimulate autologous lymphocytes. *J Clin Invest* 1984; 73: 267–271.
67. Wilson BS, Herzog MA, Lloyd RV. Immunoperoxidase staining for Ia-like antigens in paraffin-embedded tissues from human melanoma and lung carcinoma. *Am J Pathol* 1984; 115: 102–116.
68. Pujol-Borrell R, Hanafusa T, Chiovato L, Bottazzo GF. Lectin-induced expression of DR antigen on human cultured follicular thyroid cells. *Nature* 1983; 303: 71–73.
69. Todd I, Pujol-Borrell R, Hammond LJ, Bottazzo GF, Feldmann M. Interferon gamma induces HLA-DR expression by thyroid epithelium. *Clin Exp Immunol* 1985; 61: 265–273.
70. Campbell IL, Bizilj K, Colman PG, Tuch BE, Harrison LC. Interferon-gamma induces the expression of HLA-A, B, C but not HLA-DR on human pancreatic B-cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1102–1109.
71. Pujol-Borrell R, Todd I, Doshi M, Bottazzo GF et al. HLA Class II induction in human islet cells by interferon-gamma and tumour necrosis factor or lymphotoxin. *Nature* 1987; 326: 304–309.
72. Wong GHW, Goeddel DU. Tumor necrosis factor alpha and beta inhibit virus replication and synergize with interferons. *Nature* 1986; 323: 819–822.

73. Spies T, Morton CC, Nedospasov SA, Fiers W et al. Genes for the tumor necrosis factors alpha and beta are linked to the human major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 8699–8702.
74. Bertrams J, Baur MP. Insulin dependent diabetes mellitus. In: *Histocompatibility Testing 1984* Alpert ED, Baur MP, Mayr WR (ed.) Berlin: Springer 1984: 348.
75. Walker A, Cudworth AG. Type I (insulin-dependent) diabetic multiplex families. Mode of genetic transmission. *Diabetes* 1980; 29: 1036–1039.
76. Anderson CE, Hodge SE, Rubin R, Rotter J et al. A search for heterogeneity in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM): HLA and autoimmune studies in simplex, multiplex and multigenerational families. *Metabolism* 1983; 32: 471–477.
77. Wolf E, Spencer KM, Cudworth AG. The genetic susceptibility to type I (insulin-dependent) diabetes: analysis of the HLA-DR association. *Diabetologia* 1983; 24: 224–230.
78. Cavander DE, Wagener DK, Rabin BS, Becker DJ et al. The Pittsburgh insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) study. HLA antigens and haplotypes as risk factors for the development of IDDM in IDDM patients and their siblings. *J Chron Dis* 1984; 37: 555–568.
79. Boehm BO, Schifferdecker E, Kuehnl P, Scherbaum WA, Schöffling K. Linkage of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and 'pseudo-type II' diabetes mellitus with distinct HLA-DRw52 subtypes – molecular heterogeneity of the HLA-DR β III gene in HLA-DR3 containing haplotypes. Zur Publikation eingereicht 1988.
80. 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.