

MAŁGORZATA JUNGERMAN
Zakład Genetyki Człowieka PAN
Strzeszyńska 32, 60–479 Poznań

CUKRZYCA INSULINOZALEŻNA — SKOMPLIKOWANY PRZYKŁAD CHOROBY UWARUNKOWANEJ WIELOCZYNNIKOWO

WPROWADZENIE

Cukrzyca typu I (insulinozależna) jest chorobą autoimmunologiczną, w której organizm chorego nie wydziela insuliny na skutek całkowitego lub prawie całkowitego wyniszczenia komórek β wysp Langerhansa trzustki. Uważa się, iż autodestrukcyjny proces immunologiczny jest inicjowany przez określone czynniki środowiska u osób charakteryzujących się szczególną, uwarunkowaną genetycznie podatnością (LESLIE i współaut. 1989). Proces chorobowy przebiega powoli, pewne zmiany immunologiczne i metaboliczne występują wiele miesięcy a nawet lat przed klinicznym ujawnieniem się cukrzycy. W chwili rozpoznania choroby około 80% wysp Langerhansa jest pozbawionych komórek β , obserwuje się także silne naciekanie wysp przez limfocyty (FOULIS i współaut. 1987). W połowie lat 70-tych odkryto zwiększoną częstość pewnych antygenów HLA (ang. human leukocyte antigens — antygeny zgodności tkankowej) wśród niespokrewnionych ze sobą chorych na cukrzycę typu I w porównaniu z populacją osób zdrowych oraz zwiększoną częstość występowania identycznych haplotypów HLA u chorego rodzeństwa. Pozwoliło to wyodrębnić podstawową różnicę pomiędzy cukrzycą insulinozależną (IDDM — insulin-dependent diabetes mellitus) a insulinoniezależną (NIDDM — non-insulin-dependent diabetes mellitus), w której geny HLA nie odgrywają istotnej roli oraz zidentyfikować region HLA w krótkim ramieniu chromosomu 6 (6p) jako miejsce lokalizacji genów warunkujących podatność na cukrzycę typu I. Tak więc już około dwudziestu lat temu genetykom udało się ujawnić jeden z podstawowych faktów dotyczących dziedziczenia jednej z najczęstszych chorób wieloczynnikowych występujących u ludzi. Od tego wszakże czasu jesteśmy świadkami niesłychanie trudnego i powolnego wydzierania naturze tajemnic dotyczących genetyki tej choroby. W oczywisty sposób nasuwają się pytania: które spośród genów leżących w regionie HLA faktycznie warunkują podatność na cukrzycę, ile ich jest i w jaki sposób się dziedziczą (recesywnie? dominująco)? Czy istnieją także geny podatności poza układem HLA; jeśli tak, to jakie, ile ich jest, gdzie są zlokalizowane, jak się dziedziczą i jakie są zależności między nimi a genami HLA? Jakie czynniki niegenetyczne (środowiskowe) predysponują do zachorowania na cukrzycę

i w jaki sposób oddziałują one z czynnikami genetycznymi? Jak dotąd odpowiedzi na te pytania pozostają bardzo niejasne.

METODY BADAWCZE STOSOWANE W GENETYCE CHORÓB WIELOCZYNNIKOWYCH

Podstawową metodą stosowaną w genetyce chorób uwarunkowanych wielogenowo jest poszukiwanie asocjacji w populacjach. Polega ono na identyfikowaniu genów polimorficznych i porównywaniu ich częstości w populacjach pacjentów i osób zdrowych (analiza asocjacji — association analysis). Stwierdzenie statystycznie istotnej asocjacji z występowaniem choroby dowodzi bezpośrednio zaangażowania przyczynowego danego genu, bądź też sprzężenia allelu markerowego z innym, leżącym w bezpośredniej bliskości, locus warunkującym podatność na daną chorobę. Niezwykle jest ważne dokładne dobranie populacji kontrolnej zgodnej etnicznie z badaną populacją osób chorych. Występowanie ukrytego rozwarstwienia populacji może spowodować fałszywe wykrycie asocjacji, jeśli częstość alleli markerowych lub częstość zachorowań w poszczególnych warstwach populacji jest różna.

W genetyce chorób wieloczynnikowych stosuje się również badania rodzinne. Tak zwana analiza sprzężeń (ang. linkage analysis) pozwala oszacować odległość genetyczną pomiędzy locus podatności na zachorowanie a locus markerowym na podstawie równoczesnego dziedziczenia choroby i markera w rodzinach. W tym przypadku rekombinacja występuje rzadziej niż w populacji ogólnej, co umożliwia wykrycie sprzężenia bardziej odległych od siebie loci, niż w przypadku analizy asocjacji. Klasyczna analiza sprzężeń wymaga znajomości sposobu dziedziczenia choroby (dziedziczenie dominujące, czy recesywne) i penetracji. Stosowane obecnie programy komputerowe umożliwiają testowanie wielu modeli dziedziczenia równocześnie (HYER i współaut. 1991).

Alternatywą dla klasycznej analizy sprzężeń jest metoda badania chorego rodzeństwa. W tym przypadku porównuje się częstość, z jaką u chorego rodzeństwa występują równocześnie 0, 1 lub 2 loci markerowe lub haplotypy rodzicielskie typu IBD (ang. identical by descent) z częstością, jaka występowałaby w przypadku pełnej niezależności markera i choroby. Wykazanie częstszej niż oczekiwana zgodności genetycznej u chorego rodzeństwa jest uważane za dowód sprzężenia locus podatności na daną chorobę z badanym markerem. Możliwość wykrycia tą metodą znaczących sprzężeń jest uzależniona od kilku czynników. Należą do nich: udział procentowy danego locus podatności w tworzenie ogólnej podatności genetycznej na zachorowanie; dostępność informatywnych markerów genetycznych; występowanie heterogenności genetycznej i fenokopii. Ostatnie dwa problemy rozwiązuje analizowanie odpowiednio dużej liczby rodowodów. Dodatkowa trudność analizowania chorób uwarunkowanych wieloczynnikowo wynika ze stosunkowo rzadkiego występowania rodzin z co najmniej dwójkiem chorych dzieci (ang. multiplex families). Trudność tę pozwala częściowo przezwyciężyć zastosowanie modeli zwierzęcych chorób wieloczynnikowych człowieka, jak na przykład tak zwanej myszy NOD (ang. non-obese diabetic mouse) w przypadku badań nad cukrzycą typu I.

ASOCJACJA CUKRZYCY TYPU I Z GENAMI UKŁADU HLA

Uważa się, że 60% do 70% podatności genetycznej na cukrzycę typu I jest kodowana w obrębie genów układu HLA, a o pozostałych 30% do 40% decydują geny spoza tego układu. Szczególnie istotne w cukrzycy są antygeny HLA klasy II, kodowane przez loci DR, DQ i DP, z których każde jest podzielone dodatkowo na loci A i B. Loci A i B kodują odpowiednio łańcuchy α i β cząsteczek klasy II. Cząsteczki te są obecne na powierzchni komórek prezentujących antygen, takich jak makrofagi, limfocyty B i aktywowane limfocyty T. Wiążą one obcy (lub własny) antygen i prezentują go limfocytom T CD4+, które w przypadku cukrzycy typu I inicjują zniszczenie komórek β trzustki. Geny klasy II charakteryzują się wysokim polimorfizmem, czego wynikiem jest duża zmienność cząsteczek klasy II występujących u różnych osób. Dokładne mapowanie genów podatności na cukrzycę typu I w obrębie układu HLA jest utrudnione przez silne sprzężenia (ang. linkage disequilibrium) występujące pomiędzy poszczególnymi genami tego układu. Wczesne badania serologiczne wykazały pozytywną asocjację antygenów klasy I B8 i B15 z cukrzycą insulinozależną (SIGNAL i BLAJCHMAN 1973, NERUP i współaut. 1974). Silniejszą asocjację stwierdzono później z genami *drb1* kodującymi antygeny klasy II DR3 i DR4 (WOLF i współaut. 1983), które wykazują sprzężenie odpowiednio z B8 i B15. DR3 i DR4 wywierają efekt synergiczny na predyspozycję na zachorowanie w obrębie rasy kaukaskiej (WOLF i współaut. 1983). U 95% osób chorych na cukrzycę typu I występuje antygen DR3 lub DR4, bądź też oba równocześnie. Ponieważ jednak te same antygeny są spotykane również aż u 60% osób zdrowych, nie można uważać ich za pierwotny czynnik decydujący o zachorowaniu. Obecnie uważa się, że podatność na cukrzycę jest raczej zasocjowana z antygenami HLA-DQ. Stwierdzono na przykład, że u 90% chorych na cukrzycę typu I rasy kaukaskiej posiadających antygen DR4, występuje allel DQB1*0302, a u zaledwie 10% — DQB1*0301; podczas gdy oba te allele są w przybliżeniu jednakowo często spotykane u osób zdrowych DR4-pozytywnych (NEPOM i współaut. 1986). Podobną zależność stwierdzono badając populację ludzką w północnych Indiach (FLETCHER i współaut. 1988), natomiast nie odnaleziono jej w populacjach południowych Chin i Japonii (JACOBS i współaut. 1992). Dwa allele DQB1, to znaczy DQB1*0602 i DQB1*0603 są z kolei negatywnie zasocjowane z cukrzycą w obrębie rasy kaukaskiej (KHALIL i współaut. 1990), u czarnych (MIJOVIC i współaut. 1991) oraz w innych badanych do tej pory populacjach i mogą być w związku z tym uważane za kodujące odporność na zachorowanie. Badania sekwencji alleli DQB wykazały, że allele negatywnie zasocjowane z cukrzycą kodują kwas asparaginowy w pozycji 57 (Asp57) łańcucha β cząsteczki HLA-DQ. Na podstawie analizy modeli przestrzennych tej cząsteczki stwierdzono, że wymieniona reszta aminokwasowa wchodzi w skład kieszonki wiążącej antygen, utworzonej przez strukturę czwartorzędową łańcuchów α i β cząsteczki DQ. Sugerowano, że reszta aminokwasowa w pozycji 57 może wywierać bezpośredni wpływ na zachorowanie na cukrzycę poprzez odpowiednią modyfikację usytuowania przestrzennego prezentowanego antygeny (TODD i współaut. 1987), jednakże nie we wszystkich haplotypach HLA-DQ.

zasocjowanych pozytywnie lub negatywnie z podatnością na cukrzycę, reguła Asp57 znajduje swoje odzwierciedlenie. Przypuszcza się więc, że również łańcuch α antygeny DQ może mieć istotne znaczenie. Stwierdzono, że allele DQA1 zasocjowane z cukrzycą kodują w pozycji 52 produktu białkowego argininę. Stąd wynikał postulat, że podatność na zachorowanie jest związana z ekspresją cząsteczki DQ o dwóch cechach: występowania reszty Arg52 w łańcuchu α oraz braku reszty Asp57 w łańcuchu β (KHALIL i współaut. 1990). Znow jednak dane z innych ras niż kaukaska nie potwierdzają tej hipotezy. Podsumowując, najbardziej „stałymi” asocjacjami z podatnością na cukrzycę typu I w większości badanych populacji w obrębie genów HLA są: pozytywna asocjacja z DQA1*0301 oraz negatywna z DQB1*0602 i DQB1*0603. Wciąż nie jesteśmy pewni, czy allele te są bezpośrednio związane z zachorowaniem, czy też pozostają w sprzężeniu z nie poznanymi jeszcze innymi genami podatności.

ASOCJACJA CUKRZYCY TYPU I Z GENAMI SPOZA UKŁADU HLA

Pośród genów spoza układu HLA szczególnie interesujące w cukrzycy insulinozależnej wydają się być: region INS kodujący insulinę, region kodujący podjednostkę β receptora na limfocytach T oraz regiony kodujące łańcuchy lekkie i ciężkie immunoglobulin (odpowiednio Km i Gm).

Proces autoimmunologiczny prowadzący do wystąpienia objawów cukrzycy typu I dotyczy specyficznie produkujących insulinę komórek trzustki, stąd wszelkie anomalie syntezy i wydzielania insuliny wydają się być jednym z czynników etiologicznych, które mogą spowodować zachorowanie. Co za tym idzie, gen kodujący insulinę (*INS*) jest jednym z potencjalnych kandydatów warunkujących podatność na cukrzycę. W pobliżu genu *INS* w krótkim ramieniu chromosomu 11 (11p15.5), w kierunku 5' od miejsca startu transkrypcji, występuje region polimorficzny złożony z tandem owych powtórzeń kilkunastonukleotydowej jednostki. U przedstawicieli rasy kaukaskiej zmienna liczba powtórzeń w tym regionie umożliwia wyodrębnienie dwóch klas alleli: małych alleli klasy I (około 40 powtórzeń) i dużych alleli klasy III (około 170 powtórzeń). Niemal wszystkie przeprowadzone do tej pory badania populacyjne wykazały zwiększoną częstość alleli klasy I u chorych na cukrzycę w porównaniu ze zdrowymi (TODD 1990). Badania sprzężeń w rodzinach nie potwierdziły jednak tego odkrycia (TUOMILEHTO -WOLF i współaut. 1989). Ta niezgodność rezultatów badania asocjacji i sprzężenia pozostawała długi czas nie wyjaśniona. Może ona być wynikiem wysokiej częstości w populacji ogólnej alleli zasocjowanych z chorobą. Sugeruje się także, iż nieznaczny w porównaniu z genami układu HLA wpływ innych genów na podatność na cukrzycę może być łatwiejszy do wykrycia poprzez badanie asocjacji niż sprzężeń.

Limfocyty T rozpoznają antygen jedynie wtedy, gdy ten występuje w połączeniu z cząsteczką HLA na powierzchni komórki prezentującej antygen. W rozpoznaniu uczestniczy receptor na limfocytach T (TCR — ang. T-cell receptor) — heterodimerska cząsteczka złożona z łańcuchów α i β posiadających zarówno regiony stałe, jak i zmienne. Przypuszcza się, że geny kodujące TCR mogą być związane z podatnością na cukrzycę. Badania polimorficznych markerów stałych

części podjednostki TCR α nie wykazały jednak asocjacji ani sprzężenia tych markerów z cukrzycą. Analogiczne badania części stałej TCR β wykazały znacznie częstszą heterozygotyczność pacjentów, niż osób zdrowych pod względem markerów w tym regionie (MILLWARD i współaut. 1987). Nowsze doświadczenia z zastosowaniem analizy sprzężeń i większych populacji nie potwierdziły jednak tej wcześniejszej obserwacji (FIELD i współaut. 1991).

Wczesne doniesienia na temat zwiększonej częstości allotypu Km(1) u chorych na cukrzycę, posiadających antygen DR4, nie zostały potwierdzone. Również negatywne rezultaty uzyskano badając bezpośrednią asocjację i sprzężenie regionu Gm z cukrzycą (FIELD i współaut. 1984, RICH i współaut. 1986). Niedawno zaproponowano, iż geny kodujące allotypy Gm lub geny sprzężone z nimi mogą przyczyniać się do zachorowania na cukrzycę poprzez oddziaływanie z HLA, TCR β i INS (FIELD i współaut. 1991). Hipoteza ta opiera się o dane pochodzące w większości ze stosunkowo małych populacji. Jej potwierdzenie na podstawie badania większej liczby osób odzwierciedlałoby ogromną złożoność oddziaływania wielu genów odpowiedzialnych za wystąpienie podatności na cukrzycę typu I.

CZYNNIKI NIEGENETYCZNE PREDYSPONUJĄCE DO ZACHOROWANIA NA CUKRZYCĘ INSULINOZALEŻNĄ

U bliźniąt monozygotycznych zgodność zachorowania na cukrzycę typu I wynosi 30%–40%, w przypadku innego typu rodzeństwa — średnio 6%. Liczby te dowodzą istotnego zaangażowania czynników niegenetycznych w zainicjowaniu serii wydarzeń w organizmie doprowadzających do wystąpienia objawów cukrzycy. Niestety, niewiele posiadamy obecnie konkretnych informacji dotyczących precyzyjnej identyfikacji tych czynników i sposobu ich oddziaływania. Zwraca się głównie uwagę na domniemaną rolę infekcji wirusowych i ekspozycji na pewne toksyny. Przypuszcza się, że zewnętrzny czynnik inicjujący proces chorobowy działa na organizm na przestrzeni krótkiego czasu we wczesnym dzieciństwie; chociaż ekspozycja niekoniecznie musi doprowadzić do zachorowania na cukrzycę, nawet w przypadku, gdy pewne zmiany metaboliczne i immunologiczne zostaną zaindukowane. Spośród toksyn udokumentowano znaczenie alloksanu, streptozotocyny i innych związków o podobnej budowie w indukcji cukrzycy u zwierząt eksperymentalnych (WILSON i współaut. 1989). Sposób oddziaływania różnego rodzaju toksyn inicjujących cukrzycę u człowieka i zwierząt doświadczalnych może polegać na:

1. bezpośrednim uszkodzeniu komórek β trzustki poprzez tworzenie wolnych rodników tlenowych;
2. uszkodzeniu DNA i w konsekwencji zwiększeniu aktywności syntetazy poli-ADP rybozy — enzymu zużywającego NAD w komórkach β ;
3. zahamowaniu aktywnego transportu wapnia i działania aktywowanych przez kalmodulinę kinaz białkowych.

Toksyny mogłyby także wywoływać niszczenie komórek β w sposób pośredni, na przykład indukując replikację endogennych wirusów lub reakcję immunologiczną przeciwko transformowanym komórkom. Eksperymentalnie udokumentowano sposób działania alloksanu i streptozotocyny, które po podaniu w dużym

stężeniu zwierzętom doświadczalnym wywoływały objawy cukrzycy poprzez pozbawienie komórek β puli NAD (WILSON i współaut. 1989). Streptozotocyna może przy przedłużonej ekspozycji uszkadzać genomowy DNA i indukować ekspresję retrowirusów w komórkach wysp trzustki (LIKE i ROSSINI 1976, APPEL i współaut. 1978). Cząstki retrowirusów mogą z kolei inicjować odpowiedź immunologiczną, która teoretycznie może doprowadzić do zniszczenia komórek gospodarza (SUENAGA i YOON 1988).

Same infekcje wirusowe wywołują prawdopodobnie zachorowanie na cukrzycę na drodze jednego z trzech mechanizmów:

1. infekcja wirusowa może inicjować odpowiedź immunologiczną lub autoimmunologiczną niszczącą komórki β ;
2. przewlekła infekcja samych komórek β może powodować upośledzenie ich funkcji nie wywołując równoczesnej lizy komórek;
3. następuje gwałtowne zniszczenie komórek β na drodze lizy.

Przykładowo, jest znany udział infekcji wirusem różyczki lub wirusem Coxsackie B w zachorowaniu na cukrzycę.

Precyzyjne określenie, na ile oddziaływanie czynników środowiska jest ważne dla zachorowania na cukrzycę insulinozależną, jest jednak trudne. Niektórzy autorzy przypisują czynnikom zewnętrznym główną rolę, pozostawiając sprawę genetycznego uwarunkowania tej choroby na dalszym planie. Szereg faktów przemawia jednak za tym, iż wpływ obu grup czynników jest co najmniej równocenny i do zachorowania nie dochodzi bez istnienia określonej predyspozycji genetycznej. Dla przykładu, porównanie markerów w układzie HLA w grupie chorych wykazujących obecność przeciwciał przeciwko wirusowi Coxsackie B i w grupie chorych bez tych przeciwciał nie doprowadziło do wykrycia istotnych różnic (FIELD i MCARTHUR 1987). Być może więc wirusy predysponują do zachorowania na cukrzycę w sposób niespecyficzny, może katalizują tylko proces chorobowy nie będąc czynnikiem niezbędnym do zachorowania? Sugeruje się nawet, iż wysoka (60%–80%) niezgodność w zachorowaniu bliźniąt monozygotycznych, która jest głównym argumentem na rzecz istotnej roli czynników środowiska, nie wynika z braku krytycznego czynnika zewnętrznego inicjującego zachorowanie, lecz raczej z przegrupowania genów podczas rozwoju osobniczego, które powoduje, że systemy immunologiczne „identycznych” bliźniąt w rzeczywistości identycznymi nie są (EISENBARTH 1986, TODD i współaut. 1988). Albo też infekcja wirusowa jest mimo wszystko czynnikiem niezbędnym dla wystąpienia cukrzycy, ale zachodzi na tyle wcześnie (np. kilka lat przed pojawieniem się objawów klinicznych), że jej rola jest trudna do udokumentowania. Przy obecnym stanie wiedzy trudno jest jednoznacznie rozwiązać powyższe wątpliwości.

PODSUMOWANIE

Wyjaśnienie genetyki molekularnej złożonej choroby wieloczynnikowej jest niezmiernie trudne. Cukrzyca typu I jest przykładem takiej choroby. Jej podłoże genetyczne do dziś pozostaje niejasne, mimo zaangażowania wielu sił i środków w laboratoriach na całym świecie w celu rozwikłania zagadek dziedziczenia podatności na tę chorobę. Stosunkowo wcześnie w toku badań nad cukrzycą

udało się ujawnić zaangażowanie genów układu HLA. Aby jednak w pełni potwierdzić rolę określonych alleli, należałoby dokonać identyfikacji produktów białkowych genów i udokumentować ich udział w procesach doprowadzających do zniszczenia komórek β trzustki. To samo dotyczy genów spoza układu HLA, których znaczenie w cukrzycy wydaje się istotne.

Powyższe opracowanie z pewnością nie jest wyczerpującym opisem przedstawionych zagadnień. Celem autorki było przede wszystkim zwrócenie uwagi po pierwsze — na złożoność czynników doprowadzających do zachorowania na cukrzycę insulinozależną, a po drugie — na to, jak wielkie są wciąż luki w naszej wiedzy o nich. Niewątpliwie końcowym celem wszelkich badań dotyczących uwarunkowania podatności na cukrzycę — genetycznego i niegenetycznego — byłoby identyfikowanie w populacji ogólnej osób podatnych na zachorowanie i zapobieganie u nich rozwojowi choroby. I choć możemy obecnie z dużym prawdopodobieństwem przewidzieć, kto wśród bliskich krewnych pacjentów z cukrzycą może sam w przyszłości zachorować, osiągnięcie tego ostatecznego celu wciąż jeszcze wymaga czasu.

INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS — AN EXAMPLE OF A COMPLICATED MULTIFACTORIAL DISORDER

Summary

Although we can now identify some non-diabetic individuals who later will develop clinical insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM), our ability to predict with certainty IDDM is far from perfect. In this paper I discuss the status of knowledge regarding genetic and non-genetic factors predisposing an individual to develop type I diabetes. The role of HLA and non-HLA genes as well as viruses and toxins in initiating the processes leading to autoimmunological destruction of pancreatic β -cells, has been presented. Since the discovery of involvement of HLA genes in susceptibility to the disease, further progress in our understanding of the genetics of this disorder has been surprisingly difficult to achieve. My aim was to reassure the reader that there still remain great gaps in our knowledge of IDDM — I do believe, however, that prediction and prevention of IDDM will become practical reality in the future.

LITERATURA

- APPEL M. C., ROSSINI A. A., WILLIAMS R. M., LIKE A. A., 1978. *Viral studies in streptozotocin-induced pancreatic insulinitis*. Diabetologia, 15, 327-336.
- EISENARTH G. S., 1986. *Type I diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease*. New Engl. J. Med., 314, 1360-1368.
- FIELD L. L., 1991. *Non-HLA region genes in insulin dependent diabetes mellitus*. Bailliere's Clin. Endocrinol. Metab., 5, 413-437.
- FIELD L. L., ANDERSON C. E., NEISWANGER K., HODGE S. E., SPENCE M. A., ROTTER J. I., 1984. *Interaction of HLA and immunoglobulin antigens in type I (insulin-dependent) diabetes*. Diabetologia, 27, 504-508.
- FIELD L. L., MCARTHUR R. G., 1987. *The genetics of susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus — possible new markers*. Clin. Invest. Med., 10, 437-443.
- FIELD L. L., STEPHURE D. K., MCARTHUR R. G., 1991. *Interaction between T cell receptor beta-chain and immunoglobulin heavy chain region genes in susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus*. Am. J. Hum. Genet., 49, 627-34.
- FLETCHER J., ODUGBESAN O., MIJOVIC C., MACKAY E., BRADWELL A. R., BARNETT A. H., 1988. *Class II HLA DNA polymorphisms in type I (insulin-dependent) diabetic patients of North Indian origin*. Diabetologia, 31, 343-350.

- FOULIS A. K., FARQUHARSON M. A., MEAGER A., 1987. *Immunoreactive alpha-interferon in insulin-secreting beta cells on Type 1 diabetes mellitus*. *Lancet*, ii, 1423-1427.
- HYER R. N., JULIER C., BUCKLEY J. D., 1991. *High resolution linkage mapping for susceptibility genes in human polygenic disease: insulin-dependent diabetes mellitus and chromosome 11q*. *Am. J. Hum. Genet.*, 48, 243-257.
- JACOBS K. H., JENKINS D., MIJOVIC C. H., 1992. *An investigation of Japanese subjects maps susceptibility to type I (insulin-dependent) diabetes mellitus close to the DQA1 gene*. *Hum. Immunol.*, 33, 53-57.
- KHALIL I., D'AURIOL L., GOBET M., 1990. *A combination of HLA-DQB Asp57-negative and HLA-DQ Arg52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus*. *J. Clin. Invest.*, 85, 1315-1319.
- LESLIE R. D. G., LAZARUS N., VERGANI D., 1989. *Events leading to insulin-dependent diabetes*. *Clin. Sci.*, 76, 119-124.
- LIKE A. A., ROSSINI A. A., 1976. *Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus*. *Science*, 193, 415-417.
- MIJOVIC C. H., JENKINS D., JACOBS K. H., PENNY M. A., FLETCHER J., BARNETT A. H., 1991. *HLA-DQA1 and DQB1 alleles associated with genetic susceptibility to IDDM in a black population*. *Diabetes*, 40, 748-753.
- MILLWARD B. A., WELSH K. I., LESLIE R. D. G., PYKE D. A., DEMAINE A. G., 1987. *T cell receptor beta chain polymorphisms are associated with insulin-dependent diabetes*. *Clin. Exp. Immunol.*, 70, 152-157.
- NEPOM B. S., PALMER J., KIM S. J., JANSEN J. A., HOLBECK S. L., NEPOM G. T., 1986. *Specific genomic markers for the HLA-DQ subregion discriminate between DR4+ insulin-dependent diabetes mellitus and DR4+ seropositive juvenile rheumatoid arthritis*. *J. Exp. Med.*, 164, 345-350.
- NERUP J., PLATZ P., ANDERSEN O. O., 1974. *HLA antigens in diabetes mellitus*. *Lancet*, ii, 864-866.
- RICH S. S., WEITKAMP L. R., GULTORSEN S., BARBOSA J., 1986. *Gm, Km and HLA in insulin-dependent type 1 diabetes mellitus. A log-linear analysis of association*. *Diabetes*, 35, 927-932.
- SIGNAL D. P., BLAJCHMAN M. A., 1973. *Histocompatibility (HLA) antigens, lymphocytotoxic antibodies and tissue-specific antibodies in patients with diabetes mellitus*. *Diabetes*, 22, 429-432.
- SUENAGA K., YOON J. W., 1988. *Association of beta cell specific expression of endogenous retrovirus with the development of insulinitis and diabetes in NOD mouse*. *Diabetes*, 37, 1722-1726.
- TODD J. A., 1990. *Genetic control of autoimmunity in type I diabetes*. *Immunol. Today*, 11, 122-129.
- TODD J. A., BELL J. I., McDEVITT H. O., 1987. *HLA-DQB gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus*. *Nature*, 329, 599-604.
- TODD J. A., BELL J. I., McDEVITT H. O., 1988. *A molecular basis for genetic susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus*. *Trends Genet.*, 4, 129-134.
- TUOMILEHTO-WOLF E., TUOMILEHTO J., CEPATIS Z., 1989. *New susceptibility haplotype for type I diabetes*. *Lancet*, ii, 299-302.
- WILSON G. L., HARTIG P. C., PATTON N. J., LEDOUX S. P., 1989. *Mechanisms of nitrosourea-induced beta-cell damage. Activation of poly(ADP-ribose) synthetase and cellular distribution*. *Diabetes*, 37, 213-216.
- WOLF E., SPENCER K. M., CUDWORTH A. G., 1983. *The genetic susceptibility to type I (insulin-dependent) diabetes: analysis of the HLA-DR association*. *Diabetologia*, 24, 224-230.