

自己免疫性甲状腺疾患患者における 膵島自己免疫に関する臨床的・遺伝的研究

守口将典 能宗伸輔 川畑由美子 山内孝哲 原田剛史
小牧克守 馬場谷成 廣峰義久 伊藤裕進 村田佳織
山片里美 東本貴弘 朴忠勇 大野恭裕 池上博司

近畿大学医学部内科学教室 (内分泌・代謝・糖尿病内科部門)

抄 録

目的：自己免疫性甲状腺疾患 (AITD) 患者における膵島自己免疫の実態を明らかにする。

方法：AITD 患者866人 (バセドウ病患者546人, 橋本病患者320人) と非自己免疫性甲状腺疾患患者221人を対象に GAD 抗体陽性率と抗体価を比較するとともに, 抗体陽性 AITD 患者の臨床的特徴及び *HLA-DRB1*, *DQB1* と *CTLA4* の遺伝子型を陰性者と比較。

成績：GAD 抗体陽性率は AITD 患者で対照者に比し有意に高率 (5.8% vs. 0.6%, $P < 0.001$)。糖尿病有病率は GAD 抗体陽性者において陰性者に比し有意に高率 (40.0% vs. 10.1%, $p < 0.0001$)。陽性者の中では高抗体価群で低抗体価群に比し有意に高率 (64% vs. 16%, $p = 0.001$)。GAD 抗体陽性 AITD 患者は陰性患者に比し, 糖尿病発症年齢が有意に若く, BMI が有意に低く, HbA1c 値, インスリン使用率が有意に高値。 *DRB1*0405-DQB1*0401* ハプロタイプは GAD 抗体陽性 AITD 患者で抗体陰性者, 対照者に比し有意に高頻度。 *CTLA4* の 6230G>A 多型 (rs3087243) は AITD と有意の関連を示したが, GAD 抗体の有無とは関連を認めなかった。

結論：AITD 患者では GAD 抗体が高率に陽性を示し, 抗体陽性者は 1 型糖尿病の臨床的, 遺伝的特徴を有することが示された。

Key words : 自己免疫性甲状腺疾患, バセドウ病, 橋本病, GAD 抗体, 一塩基多型, 遺伝子, *HLA*, *CTLA4*

緒 言

バセドウ病および橋本病を含む自己免疫性甲状腺疾患 (AITD) と 1 型糖尿病はそれぞれ, 甲状腺および膵 β 細胞に対する臓器特異的自己免疫性疾患である。また両者は, 複数の感受性遺伝子から構築される遺伝因子と環境因子の複雑な相互作用により発症する多因子疾患でもある。疾患感受性遺伝子の中では *HLA* と *CTLA4* 多型が 1 型糖尿病と AITD の両者に関連することが報告されている¹⁻⁹。

1 型糖尿病患者はしばしば他の臓器特異的自己免疫疾患を合併し, その中でも, AITD が最も高頻度である¹⁰⁻¹²。1 型糖尿病と AITD の合併のように, 多臓器に自己免疫疾患が認められる病態を多腺性自己免疫症候群 (APS) と呼び, APS-type 1, APS-type 2, その他に分けられている¹³。その内 APS-

type 2 はアジソン病, 1 型糖尿病, AITD, セリアック病を合併する。しかしすべての病態が出現するわけではなく, 変化に富むとされており, 1 型糖尿病と AITD の発症のみを認めるタイプも存在する。AITD 合併 1 型糖尿病患者は非合併者と比較すると, 臨床的および遺伝的背景が異なっていることが報告されている。臨床的には, AITD 合併 1 型糖尿病患者は非合併者に比べ, GAD (Glutamic acid decarboxylase) 抗体価の持続高値が報告されている¹¹。また遺伝的には, AITD 合併 1 型糖尿病患者では, *CTLA4* との関連が強いことが報告されている⁹。これまで 1 型糖尿病患者における甲状腺自己免疫に関しては多くの報告がなされているが, AITD における膵島自己免疫の実態やその臨床的・遺伝的背景に関しては必ずしも明らかでない。そこで今回我々は, 多数例の AITD 患者を対象に膵島自己抗体

を測定し、臍島自己免疫の有病率を明らかにするとともに、臍島自己免疫を有する AITD 患者と有さない患者の臨床的、遺伝的特徴について比較検討を行った。

方 法

AITD 患者866人(女性695人, 男性171人)を対象として研究を行った。AITD 患者の内訳はバセドウ病患者546人(女性422人, 男性124人), 橋本病患者320人(女性273人, 男性47人)である。AITD の診断は, 内分泌専門医により臨床所見, 甲状腺ホルモン値異常, TSH レセプター抗体, thyroid peroxidase (TPO) 抗体, thyroglobulin (Tg) 抗体の有無に基づいてなされた。対照群として, 非自己免疫性甲状腺疾患221人(亜急性甲状腺炎や甲状腺腫瘍の甲状腺疾患患者)及び定期健康診断を受けた健常対照者191人を用いた。糖尿病の診断に関しては, 日本糖尿病学会が提唱する糖尿病の診断基準に則って行った。AITD 患者と非自己免疫性甲状腺疾患患者で, GAD 抗体陽性率および抗体価を比較するとともに, GAD 抗体陽性 AITD 患者において, 糖尿病の有無やその他の臨床的特徴及び遺伝的背景を, GAD 抗体陰性患者と比較した。本研究は近畿大学医学部倫理委員会の承認を得, すべての参加者からインフォームドコンセントを得た上でを行った。

GAD 抗体定量

GAD 抗体価は, ^{125}I でラベルされたヒト組換え GAD65 用いた RIA キット (Cosmic, Tokyo, Japan) で測定した¹⁴。GAD 抗体価が1.5 unit/ml 以上を陽性と定義した^{15,16}。

HLA-DR, -DQ と CTLA4 遺伝子型の決定

GAD 抗体陽性 AITD 患者 (n=42) と, 年齢および性別をマッチさせた GAD 抗体陰性の AITD 患者 (n=158) について, HLA-DRB1, DQB1 アリルを決定した。健常対象者 (n=230)⁸ の DRB1 と DQB1 のデータを対照として用いた。DRB1 と

DQB1 は PCR-RFLP 法, PCR-SSO 法, SBT 法によって決定した^{8,17-19}。ハプロタイプは, 日本人で報告されている連鎖不平衡に基づき^{20,21}, 最も確率の高いハプロタイプを推定した。AITD 及び1型糖尿病との関連が報告されている CTLA4 遺伝子の一塩基多型 (SNP) rs3087243 (+6230G>A)^{6,7,9} は, PCR-RFLP 法にて解析を行った⁹。

統計解析

対立遺伝子の分布は χ^2 検定及びフィッシャー直接確率法を用いて有意差検定を行った。統計的有意差は, P 値が0.05未満と定義した。

成 績

AITD 患者における GAD 抗体陽性率と臨床的特徴

AITD 患者の GAD 抗体陽性率は5.8%であり, 本邦で以前に報告された健常対象者の陽性率0.6%に比し, 有意に高かった ($p<0.001$) (表1, 図1)。バセドウ病患者における陽性率は, 橋本病患者にお

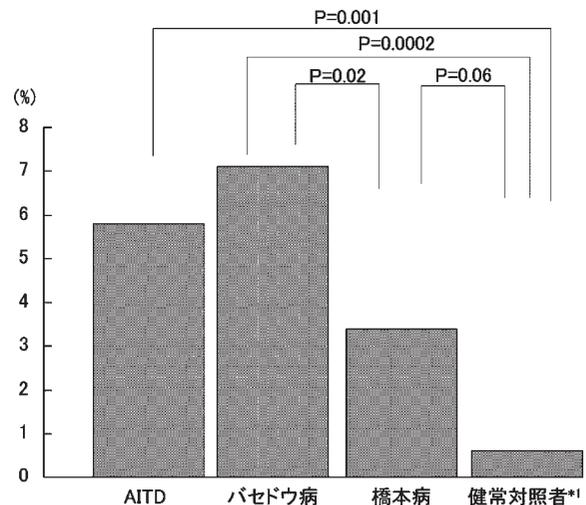


図1 自己免疫性甲状腺疾患 (AITD:バセドウ病, 橋本病) 患者および健常対照者における GAD 抗体陽性率

*1 Data from Takeda H et al. *Diabetes Care* 25: 995-1001, 2002

表1 患者背景と GAD 抗体の陽性率

	AITD			対照者*1
	総数	バセドウ病	橋本病	
n	866	546	320	190
女/男	695/171	422/124	273/47	62/128
年齢 (歳)	50.2±16.3	45.8±15.6	57.6±14.9	49.5±7.7
GAD 抗体陽性者 (%)	50 (5.8%)	39 (7.1%)	11 (3.4%)	1 (0.6%)

*1 Takeda H et al. *Diabetes Care* 25: 995-1001, 2002 より,

*2 平均±SD

ける陽性率に比し有意に高かった (7.1% vs. 3.4%, $p=0.02$) (図1). GAD 抗体の持続陽性を確認する目的で, 42例の GAD 抗体陽性 AITD 患者で, 再度 GAD 抗体の検査を行った. 1 度目の検査で GAD 抗体が陽性であった患者では, 2 例を除く全例において, 2 度目の検査でも GAD 抗体が陽性を示した. 2 度目の検査で GAD 抗体が陰性になった 2 例の患者はいずれも, 1 度目の測定時の GAD 抗体価が低値 (1.5と1.6 U/ml) であった. このことより, GAD 抗体の陽性率を検討する際には, 抗体価を考慮することが重要であることが示された.

AITD 患者群と対照群の GAD 抗体価を比較すると, 非自己免疫性甲状腺患者では10例 (4.5%), 健常対象者では 4 例 (2.1%) において GAD 抗体が陽性であったが, 抗体価は, AITD に比し著明に低値であった. 即ち, 非自己免疫性甲状腺患者と健常対象者においては全例で抗体価が10 U/ml 以下を示したのに対し, AITD 患者では GAD 抗体陽性者50例中23例 (46%) で10 U/ml を超える抗体価を示した ($P=0.017$) (図2)

糖尿病の有病率は, GAD 抗体陽性 AITD 患者の 40.0% (20/50人) であり, GAD 抗体陰性者の10.1% (83/816人) と比し, 有意に高率であった ($p<0.0001$) (表2). GAD 抗体陽性 AITD 患者を GAD 抗体価により, 高抗体価群と低抗体価群の 2 群に各群がほぼ同数になるように分けて比較すると, 糖尿病の有病率は高抗体価群において低抗体価群に比し有意に高率であった (64% vs. 16%, $p=0.001$) (図2A). 糖尿病合併 AITD 患者の臨床的背景を GAD

抗体の有無により比較すると, 抗体陽性者は陰性者に比し糖尿病発症年齢は有意に若く (43.2 ± 10.2 vs. 53.3 ± 14.2 , $P=0.004$), BMI が有意に低値 (20.4 ± 3.8 vs. 24.1 ± 4.8 , $P=0.002$), HbA1c 値が有意に高値 (8.8 ± 2.3 vs. 7.0 ± 1.3 , $P<0.0001$), インスリン使用率が有意に高率 (85.0% vs. 14.4% , $P<0.0001$) であった.

遺伝的背景

*DRB1*0405-DQB1*0401* ハプロタイプ頻度は, GAD 抗体陽性 AITD 患者において, 抗体陰性者および健常対照者に比し, 有意に高頻度であった (図3). GAD 抗体陽性 AITD 患者において, 糖尿病合併の有無で HLA を比較すると, 糖尿病患者では非糖尿病患者に比し, 日本人 1 型糖尿病の疾患感受性ハプロタイプである *DRB1*0405-DQB1*0401* (68.4% vs. 52.2%) 及び *DRB1*0901-DQB1*0303* (47.4% vs. 21.7%) が高頻度の傾向, 疾患抵抗性ハプロタイプである *DRB1*1501-DQB1*0602* (0% vs. 17.4

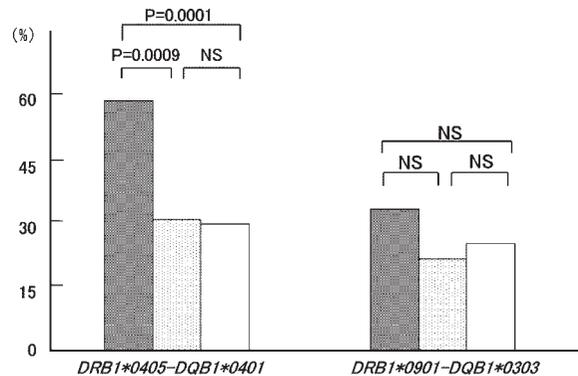


図3 AITD 患者における GAD 抗体の有無と 1 型糖尿病疾患関連 *DRB1-DQB1* ハプロタイプの関連. ■ GAD 抗体陽性者, ▨ GAD 抗体陰性者, □ 対照者

表2 GAD 陽性者と陰性者における糖尿病有病率

	GAD 陽性者 (n=50)	GAD 陰性者 (n=816)	P
糖尿病有病率	40.0%	10.1%	<0.0001

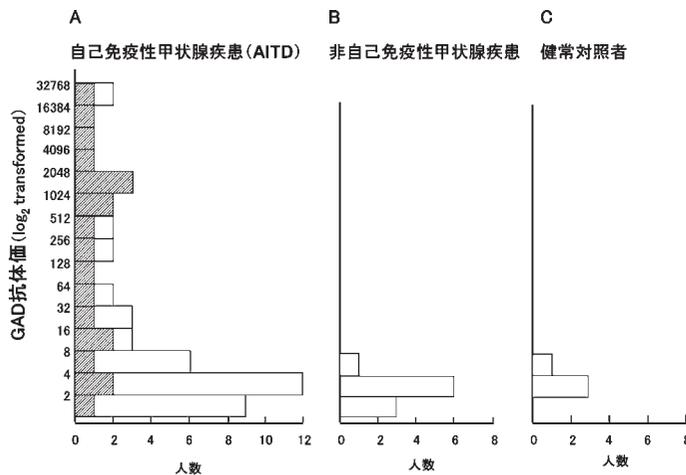


図2 自己免疫性甲状腺疾患 (AITD) (A), 非自己免疫性甲状腺疾患 (B), 健常対照者 (C) における GAD 抗体価のヒストグラム. 斜線部分は糖尿病発症者を示す

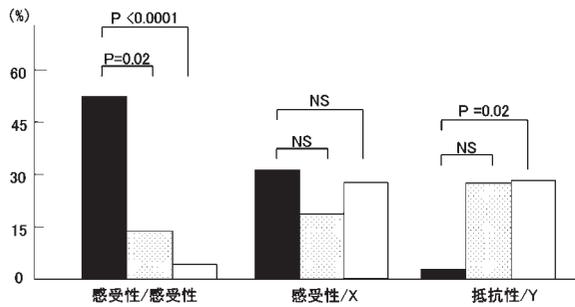


図4 GAD抗体陽性AITD患者における糖尿病の有無とDRB1-DQB1ハプロタイプに関連。
 ■ GAD抗体陽性糖尿病患者, ▨ GAD抗体陽性非糖尿病患者, □ 対照者

%)及びDRB1*1502-DQB1*0601 (5.3% vs. 13.0%)が低頻度の傾向であった。非糖尿病患者に比し糖尿病患者は、感受性ハプロタイプ(DRB1*0405-DQB1*0401及びDRB1*0901-DQB1*0303)を2つ有する遺伝子型が、有意に高頻度(52.6% vs. 17.4%, $P=0.02$)。抵抗性ハプロタイプ(DRB1*1501-DQB1*0602及びDRB1*1502-DQB1*0601)を少なくとも1つ有する頻度が、低頻度の傾向(5.3% vs. 30.4%, $P=0.05$)を示し、健常対者に比し有意に低頻度(5.3% vs. 31.3%, $P=0.02$)であった(図4)。

DRB1*0803-DQB1*0601ハプロタイプの頻度は健常対象者よりGAD抗体陰性AITD患者で有意に高頻度であったが(27.8% vs. 13.9%, $P=0.0007$)、抗体陽性AITD患者では認められなかった(16.7% vs. 13.9%, $P=NS$)。

CTLA4のSNP rs3087243 (+6230G>A)の遺伝子型の分布にはAITD患者と健常対象者で有意差($P=0.016$)を認め、Gアレルは、AITD患者において健常対象者に比し有意に高頻度であった(81.0% vs. 75.0%, $p=0.016$)。AITD患者において、GAD抗体陽性者と陰性者の間では有意差を認めなかった(82.4% vs. 80.6%, NS)。

考 察

本研究の結果、AITD患者では、GAD抗体で評価した膵島に対する自己免疫の有病率が健常対照者に比し有意に高率であることが明らかとなった。GAD抗体陽性AITD患者はGAD抗体陰性者に比し、糖尿病合併頻度が有意に高率であり(40% vs. 10%)、この傾向は高抗体価群の糖尿病発症率が64%と、低抗体価群の16%と比較して4倍の高率であることから示されるように高抗体価群でより顕著であった。AITD患者における糖尿病の臨床像は、GAD抗体陽性の有無で異なり、陽性者では陰性者に比し、発症年齢が若く、BMIが低く、HbA1c値が高値であ

り、インスリン治療の割合が高率であるという特徴を有していた。これらから、GAD抗体陽性AITD患者における糖尿病は1型糖尿病の臨床的特徴を有することが示された。

AITD患者におけるGAD抗体の陽性率は5.8%であった。これは、日本人健常対照者で報告されている陽性率に比し、著明に高値であり²²、先行研究で報告されているバセドウ病における陽性率と同程度であった²³⁻²⁵。陽性率だけを比較すると、AITD患者と非自己免疫性甲状腺疾患患者の陽性率は同程度(5.8% vs. 4.5%)であったが、抗体価には著明な違いを認めたことから(図3)、陽性率に加えて、GAD抗体の抗体価を評価することが重要であることが示された。GAD抗体陽性者における糖尿病の発症をみても、非自己免疫性甲状腺疾患患者では糖尿病の発症を全く認めなかったのに対して、AITD患者では40%に糖尿病の発症を認めた。また、GAD抗体陽性AITD患者の中でもGAD抗体価が高値である群においては低値群に比し4倍以上の高率で糖尿病を発症しており、GAD抗体の抗体価と糖尿病発症が関連していた。GAD抗体の高抗体価(>10 U/ml)は、 β 細胞破壊に対する活動性T細胞反応の指標であること¹⁵、成人発症糖尿病患者においてはインスリン依存状態に進行するハイリスク群の指標であること^{26,27}が以前に報告されている。これらの結果から、AITD患者における膵島自己免疫と β 細胞破壊の評価の際には、成人発症糖尿病患者の場合と同様に、GAD抗体の陽性率に加えて、抗体価を考慮することが重要であることが示された。本研究は断面調査であるため、GAD抗体陽性AITD患者が糖尿病を発症し、インスリン欠乏へ進展するか否かをさらに検証するためには、糖尿病未発症のGAD抗体陽性AITD患者を対象に、糖尿病発症の有無や β 細胞機能の低下を追跡調査する前向き研究が必要である。

GAD抗体陽性AITD患者におけるHLA遺伝子型解析の結果、1型糖尿病感受性ハプロタイプが高頻度、抵抗性ハプロタイプが低頻度であったことから、GAD抗体陽性AITD患者は、1型糖尿病の遺伝的背景を有していることが示された。先述のGAD抗体陽性AITD患者の臨床的特徴が1型糖尿病のそれを示していたことと遺伝解析でHLAが1型糖尿病に特徴的であったことを総合すると、GAD抗体陽性AITD患者は遺伝的にも臨床的にも1型糖尿病の特徴を有していると考えられる。

DRB1*0803-DQB1*0601ハプロタイプは、GAD抗体陰性AITDにおいて健常対象者に比し有意に高頻度であったが、GAD抗体陽性AITDとは関連

を認めなかった。このことから *DRB1*0803-DQB1*0601* ハプロタイプは膵島自己免疫ではなく、甲状腺自己免疫の疾患感受性と関連があることが示された。*DRB1*0803-DQB1*0601* ハプロタイプは日本人^{4,17} や韓国人²⁸ においてバセドウ病と関連を示すことが以前に報告されている。一方、1型糖尿病感受性ハプロタイプである *DRB1*0405-DQB1*0401* と *DRB1*0901-DQB1*0303* は、AITD のうちで GAD 抗体陽性を示すサブグループとのみ関連していたことから、これらの HLA ハプロタイプは AITD 患者における膵島自己免疫の有無と関係していることが示された。*CTLA4* は AITD と 1型糖尿病の両者と関連することが報告されてきた。しかし、我々の最近の研究の結果⁹、*CTLA4* は 1型糖尿病の中でも AITD を合併するサブグループにおいて特に強い関連を示し、1型糖尿病単独との関連は認めないか、あるとしても極めて弱いことが示されている。本研究において、*CTLA4* が AITD 全体とは関連を示すが、GAD 抗体陽性とは関連を認めなかったという結果は *CTLA4* が主として AITD の疾患感受性と関連しており、膵島自己免疫や 1型糖尿病の関与は弱いという先の研究を支持する結果と考えられる。即ち、*DRB1*0405-DQB1*0401* ハプロタイプは膵島に対する自己免疫の疾患感受性を規定するのに対して、*CTLA4* は主として甲状腺に対する自己免疫に関与しており、AITD と 1型糖尿病では、自己免疫の遺伝的基盤が異なっていることが示唆された。

以上をまとめると、本研究の結果、AITD 患者においては GAD 抗体が高率に陽性を示し、陽性者では高率に糖尿病を有していること、GAD 陽性 AITD 患者の糖尿病は臨床的、遺伝的に 1型糖尿病の特徴を有していることが示され、AITD 患者で GAD 抗体が高値の場合には、膵β細胞の自己免疫による破壊が生じ、インスリン治療を必要とする糖尿病へ発展する傾向があることが示唆された。今後、GAD 陽性 AITD 患者の中で糖尿病未発症者を対象とした前向き追跡調査を行って、糖尿病の発症、β細胞破壊およびインスリン欠乏への発展に関与する因子を明らかにすることが重要であると考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、本研究にご協力いただきました近畿大学医学部内分泌・代謝・糖尿病内科教室実験助手の早瀬志枝女史、栄養士の西田紀子女史ならびに高石市立診療センター長山本伸明先生を初めとする皆様方に心より感謝いたします。

本研究の要旨は第50回日本糖尿病学会年次学術集会（平成19年5月）、第51回日本糖尿病学会年次学術集会（平成20年5

月）、第106回日本内科学会総会（平成21年4月）、第82回日本内分泌学会学術総会（平成21年4月）にて発表した。

文 献

- Vaidya B, Kendall-Taylor P, Pearce SH (2002) The genetics of autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 5385-5397
- Atkinson MA, Eisenbarth GS (2001) Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 358: 221-229
- Yanagawa T, Manglabruks A, DeGroot LJ (1994) Strong association between HLA-DQA1*0501 and Graves' disease in a male Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 227-229
- Katsuren E, Awata T, Matsumoto C, Yamamoto K (1994) HLA class II alleles in Japanese patients with Graves' disease: weak associations of HLA-DR and -DQ. *Endocr J* 41: 599-603
- Heward JM, Allahabadia A, Daykin J, Carr-Smith J, Daly A, Armitage M, Dodson PM, Sheppard MC, Barnett AH, Franklyn JA, Gough SC (1998) Linkage disequilibrium between the human leukocyte antigen class II region of the major histocompatibility complex and Graves' disease: replication using a population case control and family-based study. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 3394-3397
- Yanagawa T, Hidaka Y, Guimaraes V, Soliman M, DeGroot LJ (1995) CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 41-45
- Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, Rainbow DB, Hunter KM, Smith AN, Di Genova G, Herr MH, Dahlman I, Payne F, Smyth D, Lowe C, Twells RC, Howlett S, Healy B, Nutland S, Rance HE, Everett V, Smink LJ, Lam AC, Cordell HJ, Walker NM, Bordin C, Hulme J, Motzo C, Cucca F, Hess JF, Metzker ML, Rogers J, Gregory S, Allahabadia A, Nithiyananthan R, Tuomilehto-Wolf E, Tuomilehto J, Bingley P, Gillespie KM, Undlien DE, Ronningen KS, Guja C, Ionescu-Tirgoviste C, Savage DA, Maxwell AP, Carson DJ, Patterson CC, Franklyn JA, Clayton DG, Peterson LB, Wicker LS, Todd JA, Gough SC (2003) Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 423: 506-511
- Kawabata Y, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Shintani M, Ono M, Nishino M, Uchigata Y, Lee I, Ogihara T (2002) Asian-specific HLA haplotypes reveal heterogeneity of the contribution of HLA-DR and -DQ haplotypes to susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes* 51: 545-551
- Ikegami H, Awata T, Kawasaki E, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, Shimada A, Amemiya S, Kawabata Y, Kurihara S, Tanaka S, Kanazawa Y, Mochizuki M, Ogihara T (2006) The association of CTLA4 polymorphism with type 1 diabetes is concen-

- trated in patients complicated with autoimmune thyroid disease: a multicenter collaborative study in Japan. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1087-1092
10. Mimura G, Kida K, Matsuura N, Toyota T, Kitagawa T, Kobayashi T, Hibi I, Ikeda Y, Tsuchida I, Kuzuya H, Aono S, Doi K, Nishimukai H, Jinnouchi T, Murakami K (1990) Immunogenetics of early-onset insulin-dependent diabetes mellitus among the Japanese: HLA, Gm, BF, GLO, and organ-specific autoantibodies - the J. D.S. study. *Diabetes Res Clin Pract* 8: 253-262
 11. Kawasaki E, Takino H, Yano M, Uotani S, Matsumoto K, Takao Y, Yamaguchi Y, Akazawa S, Nagataki S (1994) Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with IDDM and autoimmune thyroid disease. *Diabetes* 43: 80-86
 12. Kordonouri O, Klinghammer A, Lang EB, Gruters-Kieslich A, Grabert M, Holl RW (2002) Thyroid autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes: a multicenter survey. *Diabetes Care* 25: 1346-1350
 13. Eisenbarth GS, Gottlieb PA (2004) Autoimmune polyendocrine syndromes. *N Engl J Med* 350: 2068-2079
 14. Sera Y, Kawasaki E, Abiru N, Ozaki M, Abe T, Takino H, Kondo H, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Akazawa S, Nagataki S, Uchigata Y, Matsuura N, Eguchi K (1999) Autoantibodies to multiple islet autoantigens in patients with abrupt onset type 1 diabetes and diabetes diagnosed with urinary glucose screening. *J Autoimmun* 13: 257-265
 15. Maruyama T, Tanaka S, Shimada A, Funae O, Kasuga A, Kanatsuka A, Takei I, Yamada S, Harii N, Shimura H, Kobayashi T (2008) Insulin intervention in slowly progressive insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 2115-2121
 16. Schmidli RS, Colman PG, Bonifacio E, Bottazzo GF, Harrison LC (1994) High level of concordance between assays for glutamic acid decarboxylase antibodies. The First International Glutamic Acid Decarboxylase Antibody Workshop. *Diabetes* 43: 1005-1009
 17. Awata T, Katsuren E, Matsumoto C, Nagayama I, Uchigata Y, Kuzuya N, Kanazawa Y (1995) Absence of shared HLA class II (DR, DQ)-linked genetic basis between IDDM and autoimmune thyroid disease in Japanese. *Diabetes Care* 18: 582-583
 18. Voorter CE, Rozemuller EH, de Bruyn-Geraets D, van der Zwan AW, Tilanus MG, van den Berg-Loonen EM (1997) Comparison of DRB sequence-based typing using different strategies. *Tissue Antigens* 49: 471-476
 19. Voorter CE, Kik MC, van den Berg-Loonen EM (1998) High-resolution HLA typing for the DQB1 gene by sequence-based typing. *Tissue Antigens* 51: 80-87
 20. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gabori T (1992) Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. In *HLA 1991: Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference*. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T, Eds. Oxford, U.K., Oxford University Press, p. 1065-1220
 21. Saito S, Ota S, Yamada E, Inoko H, Ota M (2000) Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population. *Tissue Antigens* 56: 522-529
 22. Takeda H, Kawasaki E, Shimizu I, Konoue E, Fujiyama M, Mura S, Tanaka K, Mori K, Tarumi Y, Seto I, Fujii Y, Kato K, Kondo S, Takada Y, Kitsuki N, Kaino Y, Kida K, Hashimoto N, Yamane Y, Yamawaki T, Onuma H, Nishimiya T, Osawa H, Saito Y, Makino H (2002) Clinical, autoimmune, and genetic characteristics of adult-onset diabetic patients with GAD autoantibodies in Japan (Ehime study). *Diabetes Care* 25: 995-1001
 23. Kawasaki E, Abiru N, Yano M, Uotani S, Matsumoto K, Matsuo H, Yamasaki H, Yamamoto H, Yamaguchi Y, Akazawa S et al. (1995) Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with autoimmune thyroid disease: relation to competitive insulin autoantibodies. *J Autoimmun* 8: 633-643
 24. Maugendre D, Verite F, Guilhem I, Genetet B, Allanic H, Delamaire M (1997) Anti-pancreatic autoimmunity and Graves' disease: study of a cohort of 600 Caucasian patients. *Eur J Endocrinol* 137: 503-510
 25. Hiromatsu Y, Mukai T, Kaku H, Miyake I, Ichimura M, Fukutani T, Nakayama H, Takata K, Imamura Y, Shoji S, Yamada K, Koda Y, Bednarczuk T (2005) IL18 gene polymorphism confers susceptibility to the development of anti-GAD65 antibody in Graves' disease. *Diabetic Med* 23: 211-215
 26. Kasuga A, Maruyama T, Nakamoto S, Ozawa Y, Suzuki Y, Saruta T (1999) High-titer autoantibodies against glutamic acid decarboxylase plus autoantibodies against insulin and IA-2 predicts insulin requirement in adult diabetic patients. *J Autoimmun* 12: 131-135
 27. Suzuki R, Shimada A, Maruyama T, Funae O, Morimoto J, Kodama K, Oikawa Y, Kasuga A, Matsubara K, Saruta T, Narumi S (2003) T-cell function in anti-GAD65(+) diabetes with residual beta-cell function. *J Autoimmun* 20: 83-90
 28. Park MH, Park YJ, Song EY, Park H, Kim TY, Park DJ, Park KS, Cho BY (2005) Association of HLA-DR and -DQ genes with Graves disease in Koreans. *Hum Immunol* 66: 741-747