

1 型糖尿病の膵島関連自己抗体

東京女子医科大学医学部内科学（第三）

ミウラジュンノスケ ウチガタ ヤスコ イワモト ヤスヒコ
三浦順之助・内潟 安子・岩本 安彦

（受理 平成22年12月27日）

Islet-specific Autoantibodies Related With Type 1 Diabetes Mellitus

Junnosuke MIURA, Yasuko UCHIGATA and Yasuhiko IWAMOTO

Department of Medicine III, Tokyo Women's Medical University School of Medicine

Type 1 diabetes mellitus is a type of diabetes in which absolute lack of insulin occurs due to the complete destruction of beta cells. It is subdivided in two subtypes, type 1A which is related with autoimmune response and type 1B which is from idiopathic etiology. For clinical diagnosis of type 1A diabetes, major autoantigens such as islet cell antigen, insulin, glutamic acid decarboxylase (GAD) and insulinoma-associated antigen-2 (IA-2), are used for diagnosis. These autoantibodies are also important as predictors before development of type 1 diabetes. IAA is the insulin autoantibody which exists for more than 5 years before onset of type 1 diabetes. GAD autoantibody is for 65 kDa isoform and the positivity of early stage Japanese type 1 diabetes is about 70%. IA-2 was the 106 kDa membrane penetrating protein and its autoantibody was 55-75% positive in the early stage of type 1 diabetes. Recently, a new autoantibody to zinc transporter-8 was discovered and positivity of about 60% of Caucasian type 1 diabetes. We also report that new autoantibodies for VAMP-2 and NPY existed in patients with type 1 diabetes. It is possible that the discovery of novel islet specific autoantibodies may provide valuable diagnostic information on the sub-types of type 1 diabetes.

Key Words: type-1 diabetes, insulin autoantibody, anti-GAD antibody, anti-IA-2 antibody, anti-ZnT-8 antibody

緒 言

日本糖尿病学会の分類（1999年）では、糖尿病の病型を成因により1型糖尿病, 2型糖尿病, その他特定の機序, 疾患によるもの, および妊娠糖尿病の4つに分類している¹⁾. 本年11年ぶりに改訂された新しい診断基準でも同様である²⁾.

1型糖尿病は、膵β細胞の破壊によりインスリンの絶対的欠乏が生じて発症する病型と定義され¹⁾, 自己免疫機序が関与する1A型と、発症機序の明らかでない特発性の1B型に亜分類される。1A型糖尿病の診断には、膵島関連自己抗体の確認が必要である。現在では、islet cell antibody (ICA)をはじめとして、インスリン自己抗体 (insulin autoantibody : IAA), 抗 glutamic acid decarboxylase (GAD) 抗体, および抗 insulinoma-associated antigen-2 (IA-2) 抗体が主要抗体として知られており、後2者が一定の制限

の中で保険適応になり一般臨床で診断に用いられている。

1型糖尿病の発症過程は、human leukocyte antigen (HLA) の遺伝的背景を基礎に何らかの誘因で異常免疫反応が引き起こされ、次第に膵β細胞の破壊が始まり、血中インスリンの絶対的不足が起こり、高血糖が顕在化する³⁾. 膵島関連自己抗体が、病期のどの時点で出現するか明確ではないが、血糖値の上昇前から出現することは明らかにされており、1型糖尿病発症の予知因子としても重要である。本稿では、IAA, 抗 GAD 抗体, 抗 IA-2 抗体の役割を中心として、新規発見された自己抗体も含めて最新の知見を述べる。

1. インスリン自己抗体 (IAA)

インスリン自己抗体 (insulin autoantibody : IAA) は、インスリンの投与を受けていない人の血中に存

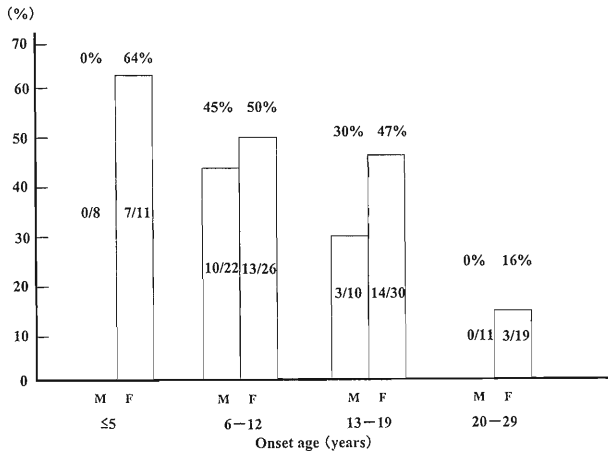


Fig. 1 IAA positivity of Japanese patients with type 1 diabetes whose onset are less than 30 years old
IAA: insulin auto antibody.

在する抗インスリン抗体である。1956年、インスリン使用中の糖尿病患者の血中にインスリン結合免疫グロブリンが存在し、その抗体がインスリン使用数週間後に出現することが報告された³⁾。その後1963年に1型、2型糖尿病患者の約34%の血中にIAAが存在することが報告された⁴⁾。1970年、平田ら⁵⁾によりインスリン注射歴がないにもかかわらず、重症低血糖発作が起きた患者の血中にIAAの存在が確認され、インスリン自己免疫症候群（平田病）という新しい疾患概念が確立された。しかし、欧米での症例報告が稀少であったことから、しばらくは国際的には認められなかった。1983年、Palmerら⁶⁾により未治療1型糖尿病患者のうち18%の症例の血中にIAAが存在すること、翌1984年には他の自己免疫疾患の患者血中にもIAAが存在することが報告⁷⁾され、再び脚光を浴びることとなった。インスリン治療開始後に、免疫系に感作されて産生されるインスリン抗体 (IA) は IAA とは別個に考える必要があるが、両者を分けて測定することは困難である。

1) IAA の測定法

1987年からIAA測定法の標準化が行われ、現在はRIAとELISAがある。IAAのepitopeは様々であり、液相RIAの方がepitopeの認識には適しており、この方法で得られる親和性の高いIAAの方が、1型糖尿病の臨床像との相関がよいとされている。ELISAの利点は簡易であることと、親和性の低いIAAを検出できることである。

2) IAA の臨床的意義

IAAは糖尿病の発症前膵β細胞の破壊に引き続き、インスリンや前駆物質が感作され、Bリンパ球の

特異的クローンから産生されるという説⁸⁾と、インスリン分子と、インスリン分子類似の外来物質によってIAAの産生が引き起こされるという説がある。後者はレトロウイルスタンパク (p73) と IAA の交差反応との報告⁹⁾がある。

IAAは1型糖尿病の発症5年ほど前に血清中に認められる¹⁰⁾。IAA単独陽性であるより、ICAと共に陽性である方が、内因性インスリン分泌能低下が著しく¹¹⁾、1型糖尿病の発症リスクは高く¹²⁾、またIAAの抗体価が高い方が発症までの期間が短い¹³⁾。また、1型糖尿病の発症年齢が若いほど抗体価が高い傾向がある。当科での30歳未満発症の1型糖尿病患者の検討では、発症年齢10歳以下と20歳以上で比較した場合、前者で有意に高値であった¹⁴⁾(Fig. 1)。

IAAとHLAの関係は、まだコンセンサスが得られていない。IAAが検出されるインスリン自己免疫症候群の患者では、多くの患者がHLA-DR4/DQ3を持つことが報告されている¹⁵⁾。最近、α-リポ酸などのサプリメントの内服が同症候群の誘因となる可能性が報告され、IAAの重要性も再認識されている。

2. 抗GAD抗体

1) GADとは

発症早期の1型糖尿病患者の多くの血清が、64kDaの膵島抗原と免疫沈降反応を起こすことが1982年に報告された¹⁶⁾。この抗体は、1型糖尿病の近親者の血清中にも高い頻度で存在し、1型糖尿病の新たな診断マーカーとして期待された。

一方、自己免疫機序でγ-aminobutyric acid (GABA)作動性ニューロンが障害され、筋硬直と有痛性筋 spasms を惹起する Stiff-man 症候群 (SMS) は、1型糖尿病や他の自己免疫疾患を合併しやすい。その事実をもとに、1型糖尿病患者の血清と反応する64kDaの抗原がGADであることが明らかにされた¹⁷⁾。こうして1A型1型糖尿病の診断に抗GAD抗体が用いられるようになった。

ヒトGADはGABAをアミノ酸から合成する酵素であり、65kDaと67kDaの二つのisoformが存在し、それぞれ10番と2番染色体上に存在する。これら二つのisoformのアミノ酸配列には、65%の相同性がある¹⁸⁾。GADはGABA作動性ニューロンの他に甲状腺、副腎皮質、精巣、胃壁、β細胞などに存在する。ヒトβ細胞に主として存在するのはGAD65であり、現在測定されている自己抗体はGAD65に対する抗体である。主要な抗体認識部位は244~585 amino acids (a.a.) である¹⁹⁾(Fig. 2)。GAD65は、コ

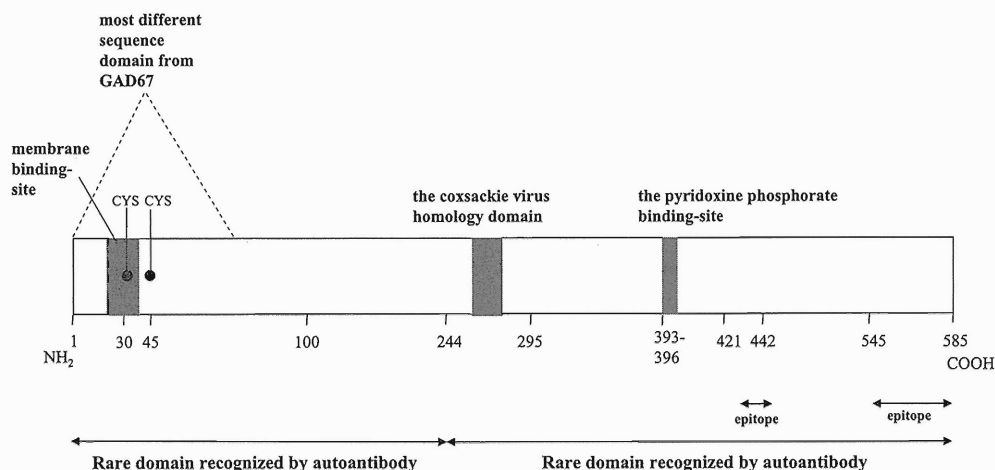


Fig. 2 The structure of GAD 65 protein

クサッキーウイルスのP2-Cタンパクと類似しており、抗GAD抗体の出現の誘因としてウイルス感染の可能性が指摘されている²⁰⁾。また、抗GAD抗体の親和性はHLA-DR3を有する患者の方が高いとの報告がある。

2) 抗GAD抗体の測定

Diabetes Autoantibody Standardization Program (DASP) は、膵島自己抗体の国際標準化の組織である。測定法は、GADのcDNAをin vitroで転写・翻訳させ、³⁵S-Methionineなどで標識したGADタンパクを患者血清と反応後に免疫沈降させる。プロテインA/Gセファロースで免疫複合体を分離後、放射活性を測定して抗体価を定量する方法を用いている研究室が多い。

現在国内臨床の多くは、リコンビナントGAD65を抗原として使用したコスミック社のキットを用いて測定されている。正常値は1.5U/ml未満であり、日本では診断に際し、1型糖尿病が疑われる場合のみに保険適応となる。

3) 抗GAD抗体の臨床的意義

(1) 急性発症1型糖尿病

1型糖尿病発症率の高いフィンランドでの抗GAD抗体陽性率は73%²¹⁾、日本人での発症早期の陽性率は約70%である²²⁾。

抗GAD抗体は1型糖尿病の発症予知マーカーとしても有用である。1型糖尿病の第1度近親者を追跡した研究では、IAA、抗GAD抗体、抗IA-2抗体(後述)が陰性の場合には1型糖尿病の発症者はいないが、これら自己抗体の陽性数が増加するにつれ、1型糖尿病の発症率が上昇し、三つの抗体がすべて陽性であれば5年以内に100%が1型糖尿病を発症す

る²²⁾。抗GAD抗体のみでの予知は、50~70%程度である。

(2) 緩徐進行1型糖尿病 (slowly progressive insulin dependent diabetes mellitus : SPIDDM)

2型糖尿病(旧NIDDM)患者の約5~10%程度に抗GAD抗体陽性者が存在する。陽性者の中には、2型糖尿病類似の病像を呈するが、緩徐にインスリン分泌が低下し、最終的にはインスリン依存状態に至る病型が存在する。この病型を緩徐進行1型糖尿病(SPIDDM)と呼び、小林ら²³⁾により疾患概念が提唱された。中年以降の成人症例が多く、欧米のlatent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA)と類似した概念と考えられる。本邦でのSPIDDMにおける抗GAD抗体は長期間陽性であることが多い。また、SPIDDMでは抗GAD抗体とICAが共に陽性を示す場合や、抗GAD抗体価が高値の場合にインスリン依存状態に陥りやすい。

抗GAD抗体陽性糖尿病患者を対象に、経口血糖降下薬(SU薬)とインスリン治療に割り付け、5年間の内因性インスリン分泌の経過をみた報告では、抗体価10U/ml以上の症例では、早期にインスリン治療で介入した方が、内因性インスリン分泌の低下を予防できた²⁴⁾(Fig. 3)。低抗体価でインスリン分泌能が数年間保たれている症例や、食事療法のみで血糖コントロールが安定している症例では、インスリンを使用せず経過観察することが可能である。

3. 抗IA-2抗体、抗IA-2β(phogrin)抗体

1) IA-2, IA-2βとは

Insulinoma-associated antigen-2 (IA-2)は1994年Lan MおよびNotkins ALらにより、ヒトインスリンノーマの外科切除組織からクローニングされ

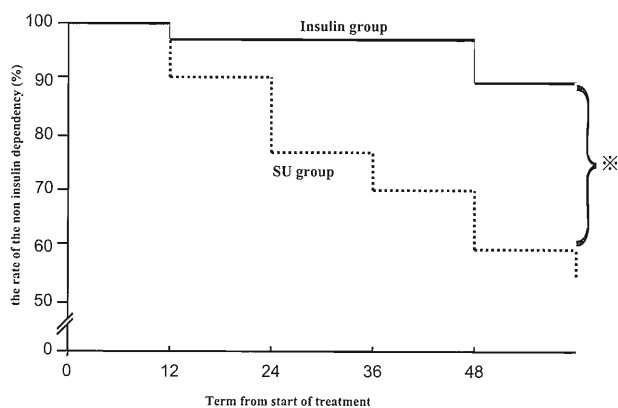


Fig. 3 The time course of frequency of the non insulin dependency between SU and insulin groups
SU: sulfonyleurea. * $p=0.003$ (log-rank test)

た²⁵⁾. この分子は7番染色体q36にあり, 979個のアミノ酸, 約106kDaの膜貫通型タンパクであり, protein tyrosine phosphatase (PTP) ファミリーに属している (Fig. 4). IA-2は中枢および末梢神経分泌細胞, 副腎皮質, 膵 α および β 細胞, 胃壁細胞など多くのホルモン分泌顆粒に存在する.

分子は細胞内, 膜貫通および細胞外の3つのドメインからなる. 細胞外ドメインは, 分子の生成過程で386-387a.a. または448-449a.a. で開裂されるので, 実際に分泌顆粒膜に存在する分子は60~70kDaのタンパクである¹⁹⁾ (Fig. 4).

IA-2発見に先立ち, 1990年頃インスリノーマの抽出物から1型糖尿病患者の血清と反応する64kDaの分子の存在が既に報告されていた. この分子はトリプシン処理により40kDaのタンパクに切断され, 1型糖尿病患者の血清とより高頻度に沈降反応を起こすことが判っていた. のちにこの分子がIA-2であり, 細胞内ドメインが, 653a.a.でトリプシン切断された326個(653~979 a.a.)のアミノ酸分子断片であることが判明した¹⁹⁾. 同時期に発見されたICA512も1型糖尿病患者の血清と反応するが, これはIA-2のN端側388個のアミノ酸と, C端側65個のアミノ酸が欠損した525個のペプチド分子であった.

IA-2のアイソフォームとして同定されたIA-2 β は, 染色体7q36上にある987a.a.のタンパクで, 細胞内ドメインはIA-2と74%の相同性を持ち, 分子構造も類似している.

2) IA-2分子の役割

IA-2分子が細胞内ホルモン分泌顆粒に存在することは先に述べた. IA-2またはIA-2 β 分子のノックアウトマウスの解析では, 膵島のインスリン含有量

の減少およびインスリン分泌の障害を介して耐糖能障害が惹起されることが判っている^{26)~28)}. 我々はシングルノックアウトマウスのグルカゴン分泌も正常マウスと比較して障害されていることを見出している (unpublished data). 分子レベルでは, ホルモン分泌顆粒の安定化に貢献していると考えられているが²⁹⁾, 多くの分泌関連分子との結合も認められるため³⁰⁾, 分泌過程のトラッキングや顆粒の分泌に関わっている可能性が示唆されている.

3) 抗IA-2抗体の測定

DASP 2002参加時の研究室の抗IA-2抗体の測定精度は, 感度68%, 特異度93%であった. IA-2抗原として全アミノ酸配列を用いると, 細胞内ドメインのみを使用した時より測定感度が低下する. 抗IA-2抗体のepitopeは, 細胞内ドメインのみに存在し, 95%以上はC末端(771~779)と反応し, 40%は細胞内ドメインのN端側(604~776a.a.)と反応する (Fig. 4). 全配列を抗原として使用すると, 分子の構造上細胞内ドメイン epitopeが, 十分に抗体に提示されないため測定感度が下がると推測される.

現在国内では, コスミック社のRIAキットを用いて測定されている. 正常値は0.4U/ml未満であり, 日本では2006年から, 1型糖尿病が疑われ抗GAD抗体が陰性で30歳未満の場合のみに保険適応されることになった.

4) 抗IA-2抗体測定の臨床的意義

(1) 急性発症1型糖尿病

1型糖尿病における抗IA-2抗体の陽性率は, 海外で55~75%, 本邦では急性発症の早期では60%程度³¹⁾, 5年以上経過した症例では40%程度である³²⁾. 抗IA-2抗体は小児期, 思春期発症1型糖尿病において陽性率が高いことが知られ, 12歳未満発症60%に対し20歳以上では20%以下との報告がある³³⁾. また抗GAD抗体と比較して, 早期に陰性化しやすい傾向がある. 一般人口での非糖尿病患者での抗IA-2抗体の陽性率は0~2%であり, 1型糖尿病の同胞では1.5~5.3%と抗GAD抗体の6~9%と比較して低い傾向にある¹⁹⁾. また, 抗IA-2抗体はHLA DR4との相関がある.

抗IA-2 β 抗体の陽性率は35~50%程度であり, 抗IA-2抗体より頻度は低い¹⁹⁾. また, 抗IA-2 β 抗体陽性者の95%以上は, 抗IA-2抗体が陽性であり, 抗IA-2抗体に加えて抗IA-2 β 抗体を測定する意義は低い.

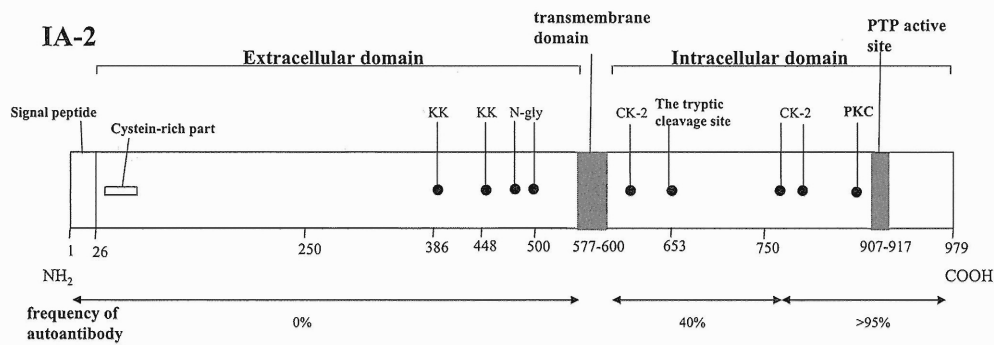


Fig. 4 The structure of IA-2 molecule

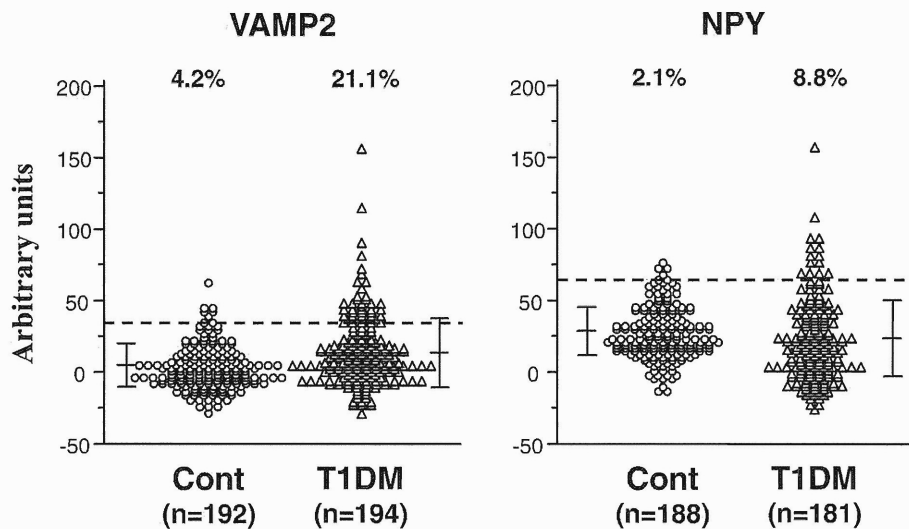


Fig. 5 The frequency of the autoantibody to VAMP2 and NPY in normal control and newly onset type 1 diabetes

Cont: control subjects, T1DM: type 1 diabetes mellitus.

--- 2 SD of normal range.

VAMP-2: vesicle associated membran protein-2, NPY: neuropeptide-Y.

(2) 緩徐進行1型糖尿病 (SPIDDM)

日本人 SPIDDM の抗 IA-2 抗体陽性率は 13.6% であり、抗 GAD 抗体と比較して低頻度である³³⁾。抗 GAD 抗体陰性かつ抗 IA-2 抗体陽性の SPIDDM の頻度はさらに低いと予測される。SPIDDM の診断に抗 IA-2 抗体を加えても、抗 GAD 抗体測定のみの方と診断率に変化がなかったという報告³⁴⁾や、抗 GAD 抗体陽性時に抗 IA-2 抗体や IAA の陽性率はインスリン分泌低下に影響しないとの報告もある³⁵⁾。一般的に抗 IA-2 抗体は、抗 GAD 抗体より早期に陰性化しやすいが、抗 IA-2 抗体のみ陽性例では長期間インスリン非依存状態を保つ症例もある³⁶⁾。

抗 IA-2 抗体に関する最近の知見について追加する。抗 IA-2 抗体陽性症例の実態を知るために、我々は日本糖尿病学会会員である全国の内科・小児科医

を対象に調査した。その結果、抗 GAD 抗体陰性かつ抗 IA-2 抗体陽性糖尿病の約 40% が 30 歳以上であった³⁷⁾。1 型糖尿病が疑われる抗 GAD 抗体陰性症例では、30 歳以上の症例でも抗 IA-2 抗体を測定する意義は十分あると考えられる。

4. 抗 Zinc Transporter-8 抗体

Wenzlau ら³⁸⁾は、microarray を用いて自己抗原候補となる分子を抽出し、その中で膵に特異的に発現が多い Zinc transporter-8 (SLC30A8; ZnT8) に対する自己抗体が、1 型糖尿病患者の血清中に高頻度に認められると報告した。この分子は、8 番染色体上に存在し 369 個のアミノ酸からなる。Zinc transporter family に属し、6 回膜貫通する膜タンパクであり、膵 β 細胞において Zn のインスリン分泌顆粒への蓄積を刺激する役割を担っている。全アミノ酸配列 (1~

369 a.a.), N-terminal(1~74 a.a.), C-terminal(264~369 a.a.) それぞれをエピトープとして用いた場合, C-terminal が最も抗原性が強い. C-terminal を用いた場合, 発症早期の白人 1 型糖尿病症例の 60% 程度が陽性であった. 報告例中 IAA, 抗 GAD 抗体, 抗 IA-2 抗体が陰性で, 本抗体のみ陽性の症例は 4%, 4 つの自己抗体がすべて陰性の症例は 2% のみであった. 抗 ZnT8 抗体は, 幼少期発症よりも思春期以降発症の方が陽性率が高く, 前糖尿病状態から他の自己抗体と共に, 抗 ZnT8 抗体が陽性である方が 1 型糖尿病発症率も高くなった.

近年, SLC30A8 の Arg₃₂₅ の第一塩基の C⇒T 遺伝子多型が報告され, 自己抗体の頻度との検討が報告された³⁹⁾. Arg₃₂₅ probe による抗体陽性頻度は CC, CT, TT genotype の順に低下し, Trp₃₂₅ probe を用いると TT, CT, CC の順に陽性頻度が低下した. 本遺伝子多型と 1 型糖尿病発症との関連は認められなかった. 一方, SLC30A8 は GWAS によるスクリーニングで, 2 型糖尿病の発症関連候補遺伝子とも報告されており⁴⁰⁾, 1 型, 2 型糖尿病の発症に関わる遺伝子として大変興味深く, 今後の研究の発展が期待される.

5. 抗 VAMP-2 抗体, 抗 NPY 抗体

著者ら⁴¹⁾は, ホルモン分泌過程に関連した既知のタンパクを無作為に 50 以上選び出した. そして, その分子の DNA の ORF (open reading frame) を増幅する tag をつけた特異的プライマーを作製した. PCR (polymerase chain reaction) で増幅後, in vitro transcription/translation を用い, アイソトープで標識したタンパクを作製した. その標識タンパクを用いて, 健常者と 1 型糖尿病の血清を用いて radioimmunoassay による自己抗体のスクリーニングを行った. 健常者血清の平均 arbitrary unit + 2SD 以上を陽性と定義した. その結果, 白人 1 型糖尿病新規症例では, 21% が VAMP-2 (vesicle associated membrane protein-2) に対する抗体陽性, また 9% が NPY (neuropeptide-Y) に対する抗体陽性であった (Fig. 5). 前者は多くの組織の分泌顆粒に存在する SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) 蛋白の一つであり, 細胞の成熟に関連している. 後者は主として下垂体などの神経細胞に存在する分子であり, 主に摂食を増進させる役割を担っている. どちらも動物レベルでは膵β細胞での発現が認められている. 今のところ, これらの物質に対する自己抗体が何故存在する

のかは不明である. また, 保有する自己抗体の種類によって, 1 型糖尿病の臨床背景にどのような相違が認められるかは大変興味のあるところである.

まとめ

新たな自己抗体が発見されるにつれ, 膵島関連自己抗体陰性と考えられていた糖尿病症例であっても, 未知の自己抗体が存在する可能性が残されており, 新規膵特異的自己抗体の発見は 1 型糖尿病のサブタイプの診断に有用な情報となりうる. しかし, 自己抗体陽性であっても, 1 型糖尿病の臨床像にそぐわない症例も見うけられ, そのような患者をどのような位置づけにするかは, 今後の課題である.

文 献

- 1) 葛谷 健, 中川昌一, 佐藤 譲ほか: 糖尿病の分類と診断基準に関する委員会報告. 糖尿病 42: 385-404, 1999
- 2) 清野 裕, 南條輝志男, 田嶋尚子ほか: 糖尿病の分類と診断基準に関する委員会報告. 糖尿病 53: 450-467, 2010
- 3) Berson SA, Yalow RS, Bauman A et al: Insulin ¹³¹I metabolism in human subjects: determination of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. J Clin Invest 35: 170-190, 1956
- 4) Pav J, Jezkova Z, Skrha F: Insulin autoantibodies. Lancet 2: 221-222, 1963
- 5) 平田幸正, 石津 汪, 大内伸夫ほか: インスリン自己免疫を示した自発性低血糖の 1 例. 糖尿病 13: 312-320, 1970
- 6) Palmer JP, Asplin CM, Clemons P et al: Insulin autoantibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science 222: 1337-1339, 1983
- 7) Wilkin TJ, Nicholson S: Autoantibodies against human insulin. BMJ 288: 349-352, 1984
- 8) Greenbaum CJ, Palmer JP: Insulin antibodies and insulin autoantibodies. Diabetes Med 8: 97-105, 1991
- 9) Serreze DV, Leiter EH, Kuff EL et al: Molecular mimicry between insulin and retroviral antigen p73. Development of cross-reactive autoantibodies in sera of NOD and C57BL/KsJ db/db mice. Diabetes 37: 351-358, 1988
- 10) Soeldner JS, Tuttleman M, Srikanta S et al: Insulin-dependent diabetes mellitus and autoimmunity: islet-cell autoantibodies, insulin autoantibodies, and beta-cell failure. N Engl J Med 313: 893-894, 1985
- 11) Atkinson MA, Maclaren NK, Riley WJ et al: Are insulin autoantibodies markers for insulin-dependent diabetes mellitus? Diabetes 35: 894-898, 1986
- 12) Dean BM, Becker F, McNally JM et al: Insulin autoantibodies in the pre-diabetic period: correlation with islet cell antibodies and development of diabetes. Diabetologia 29: 339-342, 1986
- 13) Ziegler AG, Ziegler R, Vardi P et al: Life-table analysis of progression to diabetes of anti-insulin

- autoantibody-positive relatives of individuals with type I diabetes. *Diabetes* **38**: 1320–1325, 1989
- 14) **Yamada H, Uchigata Y, Kawasaki E et al**: Onset age-dependent variations of three islet specific autoantibodies in Japanese IDDM patients. *Diabetes Res Clin Pract* **39**: 211–217, 1998
 - 15) **Uchigata Y, Kuwata S, Tokunaga K et al**: Strong association of insulin autoimmune syndrome with HLA-DR4. *Lancet* **339**: 393–394, 1992
 - 16) **Baekkeskov S, Nielsen JH, Marnier B et al**: Autoantibodies in newly diagnosed diabetic children immunoprecipitate human pancreatic islet cell proteins. *Nature* **298**: 167–169, 1982
 - 17) **Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S et al**: Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* **347**: 151–156, 1990
 - 18) **Bu DF, Erlander MG, Hitz BC et al**: Two human glutamate decarboxylases, 65-kDa GAD and 67-kDa GAD, are each encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 2115–2119, 1992
 - 19) **Leslie RD, Atkinson MA, Notkins AL**: Autoantigens IA-2 and GAD in Type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* **42**: 3–14, 1999
 - 20) **Tuomilehto J, Zimmet P, Mackay IR et al**: Antibodies to glutamic acid decarboxylase as predictors of insulin-dependent diabetes mellitus before clinical onset of disease. *Lancet* **343**: 1383–1385, 1994
 - 21) **Sabbah E, Savola K, Kulmala P et al**: Diabetes-associated autoantibodies in relation to clinical characteristics and natural course in children with newly diagnosed type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* **84**: 1534–1539, 1999
 - 22) **Verge CF, Gianani R, Yu L et al**: Late progression to diabetes and evidence for chronic beta-cell autoimmunity in identical twins of patients with type I diabetes. *Diabetes* **44**: 1176–1179, 1995
 - 23) **Kobayashi T, Itoh T, Kosaka K et al**: Time course of islet cell antibodies and beta-cell function in non-insulin-dependent stage of type I diabetes. *Diabetes* **36**: 510–517, 1987
 - 24) **Maruyama T, Tanaka S, Shimada A et al**: Insulin intervention in slowly progressive insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* **93**: 2115–2121, 2008
 - 25) **Lan MS, Lu J, Goto Y et al**: Molecular cloning and identification of a receptor-type protein tyrosine phosphatase, IA-2, from human insulinoma. *DNA Cell Biol* **13**: 505–514, 1994
 - 26) **Saeki K, Zhu M, Kubosaki A et al**: Targeted disruption of the protein tyrosine phosphatase-like molecule IA-2 results in alterations in glucose tolerance tests and insulin secretion. *Diabetes* **51**: 1842–1850, 2002
 - 27) **Kubosaki A, Gross S, Miura J et al**: Targeted disruption of the IA-2beta gene causes glucose intolerance and impairs insulin secretion but does not prevent the development of diabetes in NOD mice. *Diabetes* **53**: 1684–1691, 2004
 - 28) **Kubosaki A, Nakamura S, Notkins AL**: Dense core vesicle proteins IA-2 and IA-2beta: metabolic alterations in double knockout mice. *Diabetes* **54** (Suppl2): S46–S51, 2005
 - 29) **Trajkovski M, Mziaut H, Schubert S et al**: Regulation of insulin granule turnover in pancreatic beta-cells by cleaved ICA512. *J Biol Chem* **283**: 33719–33729, 2008
 - 30) **Hu YF, Zhang HL, Cai T et al**: The IA-2 interactome. *Diabetologia* **48**: 2576–2581, 2005
 - 31) **Sera Y, Kawasaki E, Abiru N et al**: 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, 1999
 - 32) **松浦信夫, 内潟安子, 浦上達彦ほか**: 1型糖尿病におけるIA-2抗体の測定およびGAD抗体との組み合わせ解析—多施設における検糖—. *プラクティス* **16**: 567–572, 1999
 - 33) **Nakamoto S, Kasuga A, Maruyama T et al**: Age of onset, not type onset, affects the positivity and evanescence of IA-2 antibody. *Diabetes Res Clin Pract* **50**: 147–152, 2000
 - 34) **Kasuga A, Ozawa Y, Maruyama T et al**: Autoantibody against ICA512 did not improve test sensitivity for slowly progressive IDDM in adults. *Diabetes Care* **20**: 679–680, 1997
 - 35) **Takino H, Yamasaki H, Abiru N et al**: Antibodies to GAD in Japanese patients classified as type 2 diabetes at diagnosis. High titer of GAD Ab as a predictive marker for early insulin treatment-report of west Japan (Kyushu, Yamauchi, Osaka) study for GAD Ab (+) diabetes. *Diabet Med* **19**: 730–734, 2002
 - 36) **Borg H, Gottsater A, Fernlund P et al**: A 12-year prospective study of the relationship between islet antibodies and beta-cell function at and after the diagnosis in patients with adult-onset diabetes. *Diabetes* **51**: 1754–1762, 2002
 - 37) **三浦順之助, 内潟安子, 岩本安彦ほか**: GAD抗体陰性, IA-2抗体陽性糖尿病の臨床像の全国調査(第1報). *糖尿病* **50** (Suppl) 1: S189, 2007
 - 38) **Wenzlau JM, Juhl K, Yu L et al**: The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 17040–17045, 2007
 - 39) **Wenzlau JM, Liu Y, Yu L et al**: A common non-synonymous single nucleotide polymorphism in the Slc30A8 gene determines ZnT8 autoantibody specificity in type 1 diabetes. *Diabetes* **57**: 2693–2697, 2008
 - 40) **Sladek R, Rocheleau G, Rung J et al**: A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* **445**: 881–885, 2007
 - 41) **Hirai H, Miura J, Hu Y et al**: Selective screening of secretory vesicle-associated proteins for autoantigens in type 1 diabetes: VAMP2 and NPY are new minor autoantigens. *Clin Immunol* **127**: 366–374, 2008