

한국인 제 1형 당뇨병 환자들의 HLA 유전자형 및 자가면역성 갑상선 질환의 병발 양상

단국대학교 의과대학 소아과학교실, 서울대학교 의과대학 소아과학교실*, 검사의학교실†

강소영 · 신충호* · 양세원* · 박명희† · 유지숙

Human Leukocyte Antigen(HLA) Genotypes and Thyroid Autoimmunity in Korean Patients with Type 1 Diabetes

So Young Kang, M.D., Chung Ho Shin, M.D.*, Sei Won Yang, M.D.*
Myoung Hee Park, M.D.† and Jeesusuk Yu, M.D.

Department of Pediatrics, Dankook University College of Medicine, Cheonan,
Department of Pediatrics*, Department of Laboratory Medicine†,
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose : This study analyzed the expression of HLA-DR and DQ genotypes and anti-thyroid autoantibodies[anti-thyroid peroxidase(TPO) and anti-thyroglobulin(TG) antibodies] in Korean patients with type 1 diabetes(T1DM) to investigate the susceptible HLA alleles to T1DM in Korea and the prevalence of thyroid autoantibodies and their significance for the development of thyroid disorders.

Methods : A total of 59 Korean patients with type 1 diabetes[26 males, median age 13.7 years(range 5.7-29.9 years), diabetes duration 7.6 years(-1.7-22.5 years)] were enrolled in this study, and 200 healthy Koreans without a family history of diabetes were selected as a normal control for the comparison of HLA genotypes. Seventeen patients with anti-TPO or anti-TG were followed [median duration 3.96 years(1 day-10.7 years)] with measurement of anti-TPO, anti-TG, T₃, T₄ or free T₄, TSH levels and physical examinations. HLA-DR and DQ genotyping were done by PCR-SSO, PCR-SSCP, PCR-RFLP and PCR-SSP methods.

Results : HLA analysis showed higher frequencies of HLA-DRB1*0301, *090102 and DQB1*0201, *030302 alleles, DRB1*0301/*090102, *090102/*090102 and DQB1 *0201/*030302, *030302/*030302, *0201/*0302 genotypes in T1DM patients compared to controls($P < 0.05$). Fifteen(25.4 percent) had anti-TPO antibody, 12(20.3 percent) had anti-TG, 17(28.8 percent) had either autoantibody and 10(16.9 percent) had both autoantibodies. No clinical or subclinical hypothyroidism developed during follow-up after the first detection of anti-thyroid autoantibody. There was no significant correlation between thyroid autoimmunity and gender, onset age of T1DM, and diabetes duration, respectively($P > 0.05$).

Conclusion : We thought this unique HLA-DR, DQ allele distribution might be an important factor for the low incidence of T1DM in Korea. And a high prevalence of thyroid autoantibodies in these populations suggests examinations of thyroid antibodies should be performed regularly. Optimal age for the initial screening and the frequency of re-screening for associated thyroid autoimmune diseases in T1DM remains to be determined through prospective follow-up. (Korean J Pediatr 2005; 48:624-633)

Key Words : Type 1 diabetes mellitus(T1DM), HLA, Thyroid autoimmunity

서론

이 연구는 2002학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

접수 : 2005년 2월 23일, 승인 : 2005년 4월 7일

책임저자 : 유지숙, 단국대학교 의과대학 소아과학교실

Correspondence : Jeesusuk Yu, M.D.

Tel : 041)550-3938 Fax : 041)550-3905

E-mail : dryujs@dankook.ac.kr

제 1형 당뇨병은 소아에서 주로 발병하고 여러 유전적 및 환경적 요인이 복합적으로 작용하여 발생한다고 생각되고 있는데, 유전적 감수성이 있는 사람에서 어떤 유발 인자에 의해 T 림프

계에 변화가 일어나 췌장 베타세포가 선택적으로 파괴됨으로써 일어나는 것으로서, 일련의 단계들로 구성되어 있다는 가설이 가장 큰 지지를 받고 있다¹⁾. 유전적 원인으로는 현재 20개 이상의 감수성 인자들이 알려져 있고, 이 중 사람백혈구항원(human leukocyte antigen, HLA)의 DR 및 DQ 유전자와의 연관성이 제일 높은 것으로 알려져 있다²⁾. 제 1형 당뇨병의 발병 빈도는 민족에 따라 달라, 해마다 평균 인구 10만 명당 30-35명이 발병하는 핀란드에 비해 국내의 발생 빈도는 낮은 것으로 알려져 있으며, 1985년에서 1988년 사이 서울지역에서 해마다 15세 미만 아동 10만 명당 0.7명의 발병률을 보였고, 1994년에는 1.41명이었으며, 1995년에서 2000년까지의 연간 발생률도 1.36명(95% 신뢰구간, 1.05-1.66)으로 보고되었다³⁾. HLA 유전자와 제 1형 당뇨병과의 관계는 Singal과 Blajchmann⁴⁾이 혈청 분석법으로 HLA의 1군에 속하는 B8, B18과 B15의 빈도가 제 1형 당뇨병에서 높다고 보고한 이래 활발히 연구되어 왔다. 그 후 유전자 분석이 세분화되면서 1군에 속하는 B 형보다도 2군의 DQ나 DR 형이 제 1형 당뇨병의 감수성과 더욱 의미 있는 상관을 가짐이 보고되었고²⁾, 그 중 DR3과 DR4에서 제 1형 당뇨병의 발병이 높다는 것이 관찰되었다⁵⁾. HLA-DR 및 DQ의 유전자형은 아주 다양하여, 다형성(polymorphism)을 보이는 특징이 있는데, 이들이 항원제시(antigen presentation)의 역할을 한다는 점을 생각할 때, 특정 유전자형에서 자가면역 기전이 잘 유발될 것으로 유추할 수 있다. 근래에는 DNA의 염기 서열 분석 기법이 급격히 발달함으로써 유전자의 다형성과 질병 유전자를 찾아내는 확률이 높아졌다. 그 결과 HLA 분석도 과거에는 혈청학적 분석으로 명명하던 것을 유전자 분석을 통해 세분화시킬 수 있게 되었다. 코카시안을 대상으로 하여 제 1형 당뇨병과 HLA-DR과 -DQ 조합간의 상관성은 이미 보고되어 있으며, 인종별, 국가별로 HLA와의 상관성에 대해 많은 연구가 시행되어 왔다⁶⁻¹²⁾.

한편, 제 1형 당뇨병 환자들에서 다른 자가면역성 질환이 연관되어 발생하는데 Hashimoto 갑상선염, Graves병, Addison병, 백반증, 악성빈혈, 중증 근무력증과 같은 다른 자가면역 질환의 병발이 높은 것으로 알려져 있으며, 가장 흔한 것으로 자가면역성 갑상선 질환을 들 수가 있다¹³⁻¹⁵⁾. 제 1형 당뇨병 환자들 중 임상적으로 갑상선 질환이 없더라도 갑상선 항체 양성률은 국가와 인종에 따라 3-50%에 이른다고 보고되었고, 갑상선에 대한 자가항체 양성군의 절반 정도에서 3-4년 내에 갑상선 질환이 발생한다는 보고도 있다^{15, 16)}. 이는 소아 및 청소년기의 자가면역성 갑상선 질환의 전체 유병률인 0.1-1.2%^{17, 18)}에 비해 훨씬 흔한 것이다. 최근에는 제 1형 당뇨병 환자들에서 자가면역성 갑상선 질환의 유무와 HLA와의 연관성에 대한 연구가 많은데 이에는 이견이 많은 상태이다¹⁹⁻²¹⁾.

본 연구는 16세 이전에 제 1형 당뇨병으로 진단 받고 지속적으로 인슐린 치료를 받고 있는 한국인 제 1형 당뇨병 환자들을 대상으로 HLA 유전자형 분석 및 갑상선 기능검사와 갑상선에 대한 자가항체 양성률을 알아봄으로써, 한국인 제 1형 당뇨병

환자에서 많이 나타나는 HLA 유전자형 및 이들에서의 자가면역성 갑상선 질환의 병발 양상을 알아보고자 하였으며, 갑상선 자가항체 양성을 보인 제 1형 당뇨병 환자들의 임상 특징 및 특정 HLA 유전자형과의 연관성이 있는지를 알고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

16세 이전에 제 1형 당뇨병으로 진단받은 환자들 중 갑상선 기능 검사가 시행된 59명을 환자군으로 하였고, HLA 유전자형의 비교를 위해 제 1형 당뇨병의 가족력이 없는 200명을 정상대조군으로 하였다. 제 1형 당뇨병의 정의는 American Diabetes Association의 당뇨병 진단기준²²⁾에 따른 혈당을 보이면서, 혈액 내 인슐린과 c-peptide의 농도가 낮고, 당뇨병 발병 이후 계속적으로 인슐린 투여가 요구되는 경우로 하였다.

2. 방법

1) HLA-DRB1 및 DQB1 유전자형의 분석

대상군에서 혈액을 채취하여 항응고제(EDTA)가 들어있는 용기에 담은 후, 2,500 rpm으로 10분간 원심하여 혈장을 제거하고 백혈구 연층(buffy coat)을 취하여 QIA-AMP DNA extraction kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA를 추출한 후 분광광도계로 정량 하였고, 이후 일정 검체가 모아질 때까지 -70°C에 보관하였다가 HLA 유전자 분석을 시행하였다. HLA-DRB1 유전자형의 분석은 Dynal RELI™ SSO HLA-DRB1 typing kit(Dynal Biotech Inc., Lake Success, NY, USA)를 이용하여 DRB1 exon 2에 대해 중합효소연쇄반응(PCR)을 시행하여 일련의 군으로 나눈 뒤, Bannai 등²³⁾이 시행한 방법을 사용하여 각 군에 따라 특정 primers를 이용하여 PCR을 시행한 후 변형시켜 전기영동(PCR-SSCP)을 함으로써 이루어졌다. HLA-DQB1의 유전자형 분석은 QB1P55(GATTCCCCGACAGAGGATTTTCG)와 DQB1-C(CCACCTGGTAGTTGTGTCTGCA)로 DQB1 exon 2에 해당하는 DNA를 증폭시킨 후 절단효소(*Msp*A1I, *Hae* III)로 잘라 전기영동 시켜 band의 모양에 따라 7개 군으로 나누었다(PCR-RFLP). PCR은 Perkin Elmer thermal cycler(PE9600, PE-Cetus, Norwalk, CA, USA)를 이용하였고, Park 등²⁴⁾이 사용한 방법으로 하였다. 즉, PCR-RFLP 결과에 따라 7군으로 나눈 후, 1, 5, 6, 7군은 QB1P23(GTCGTGCGGAGCTCCAAGT) 및 QB1P55 primer로, 2, 3, 4군은 QB1P53(TCCCGCGGTACGCCACCTC) 및 QB1P55 primer로 다시 DNA를 증폭시켰으며, 얻어진 DNA를 전기영동하여 알고 있는 유전자형의 band와 비교함으로써 결정하였다(PCR-SSCP). 이때 DQB1의 대립유전자가 *02로 나온 경우에는 DQB1*02genF(AGCCCACAGTGACCATCTC)와 DQB1*0202R(CAGCTGTCTCCTCTGGC) primer로 다시 증폭시켰으며, 2% agarose gel에 전기영동을 시켜 band의 유무에 따라 DQB1

*0202와 DQB1*0201로 구분하였다.

2) 갑상선 기능 검사 및 갑상선에 대한 자가항체인 항 thyroid peroxidase(TPO) 항체, 항 thyroglobulin (TG) 항체 및 항 TSH 수용체 자가항체의 측정

59명의 제 1형 당뇨병 환자들의 혈청내 TSH, total T₃, T₄ 또는 free T₄의 농도를 방사면역법으로 측정함으로써 갑상선 기능을 검사하였고, 혈청내 TPO 및 TG에 대한 자가항체가 있는지 방사면역법으로 측정하였다. 혈청내 TSH 수용체에 대한 자가항체 검사는 59명의 환자 중 Graves병을 보인 3명에 대해서만 시행되었다. T₃는 RIA kit(BRAHMS, Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였고, T₄는 RIA-gnostTMT₄(CIS bio international, Cedex, France), free T₄의 농도는 RIA-gnostTMFT₄(CIS bio international, Cedex, France)를 이용하였다. TSH 수용체에 대한 자가항체는 TRAb RIA kit(RSR Ltd., Cardiff, UK)를 이용하였다. TPO 및 TG에 대한 자가항체는 시기에 따라 검사 방법에 차이가 있었으나, 간접 혈구응집법(indirect hemagglutination)으로는 1:100 이상이면 양성, 방사면역법을 이용한 상품화된 kit를 사용한 경우에는 RSR(RSR Ltd., Cardiff, UK)로는 0.3 U/mL 이상 또는 HENNINGtest(HENNINGtest, BRAMS, Germany)로는 100 U/mL 이상일 경우를 양성으로

하였다.

3) 결과 분석

HLA 유전자형의 비교를 위해 χ^2 test(two-tailed)를 이용하였고, HLA 유전자형의 빈도가 5 미만일 때에는 Fisher's exact test를 이용하였다. 대상군간의 제 1형 당뇨병 진단시 연령, 연구시 연령, 연구 시까지 당뇨병의 유병기간, 성별 등을 비교하기 위해 one-way ANOVA를 이용하였다. 모든 통계분석은 SPSS 11.5 및 GraphPad Prism을 이용하였고, 보정된 P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다. P값의 보정(Pc)은 통계 처리한 모든 유전자형의 종류 수를 곱하여 구하였고, odds ratio를 구함에 있어, 비교대상의 수가 0으로 나왔을 때는 Haldane의 변형식을 이용하였다.

결 과

1. 연구 대상 환자들의 특징

제 1형 당뇨병으로 진단받고 인슐린 투여 중인 환자들 중 갑상선 기능 검사가 시행된 59명이 환자군이었고, 남자 26명, 여자 33명으로 남녀비는 1:1.27이었다. 환자군의 제 1형 당뇨병의 진단연령은 7.7세(1.3-15.8세)이었고 갑상선 자가항체 유무로 판정된 시기의 연령은 13.7세(5.7-29.9세)이었으며, 제 1형 당뇨병으로 진단받은 후부터 갑상선 검사까지의 당뇨병 유병기간은 7.6년(-1.7-22.5년)이었다. TPO 또는 TG에 대해 항체를 보인 시기는 중앙값이 12-13세였으며, 모두 8.5세 이후였고, 여자에서 더 많이 나타났으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1, 2).

2. HLA-DRB1과 DQB1 유전자의 분석

59명의 한국인 제 1형 당뇨병 환자들 중에서 HLA-DRB1 유전자 분석은 43명에서만 시행되었고, 59명 모두에서 HLA-DQB1의 유전자 분석을 시행하였으며, 이를 당뇨병의 과거력이나 가족력이 없는 한국인 정상인 200명의 HLA 유전자 결과와 비교하였다(Table 3-5). HLA-DRB1 유전자 분석에서는 제 1형 당뇨병 환자들에서 HLA-DRB1*0301, *090102 대립유전자가 정

Table 1. Number of Korean Patients with Type 1 Diabetes according to the Age of Onset of T1DM* and at Study

Age(years)	Number of patients(male/female)	
	Onset of T1DM	At study
0-5	16(5/11)	0
5-10	25(12/13)	6(1/5)
10-15	17(9/8)	31(12/19)
15-20	1(0/1)	9(6/3)
≥20	0	13(7/6)
Total	59(26/33)	59(26/33)
Mean±SD(median)	7.7±3.3(7.7)	15.4±5.3(13.7)
Range	1.3-15.8	5.7-29.9

*T1DM, Type 1 diabetes mellitus

Table 2. Clinical Characteristics of Patients with T1DM according to the Status of the Thyroid Autoimmunity

	Total	Anti-TPO antibody			Anti-TG antibody			Anti-TPO & Anti-TG antibodies		
		Positive	Negative	P	Positive	Negative	P	Both positive	Both negative	P
No. of cases (male/female)	59 (26/33)	15 (4/11)	44 (22/22)	NS	12 (3/9)	47 (23/24)	NS	10 (2/8)	42 (21/21)	NS
Age at T1DM onset(yrs)	7.7 (1.3-15.8)	8.5 (3.7-12.8)	7.6 (1.3-15.8)	NS	9.3 (3.7-12.8)	7.5 (1.3-15.8)	NS	9.3 (3.7-12.8)	7.4 (1.3-15.8)	NS
Age at study (yrs)	13.7 (5.7-29.9)	12.8 (8.5-18.8)	13.9 (5.7-29.9)	NS	12.3 (8.5-21.2)	14.5 (5.7-29.9)	NS	12.0 (8.5-18.8)	13.8 (5.7-29.9)	NS
Duration of T1DM(yrs)	7.6 (-1.7-22.5)	5.6 (-1.7-12.6)	8.3 (1.4-22.5)	NS	5.3 (-1.7-10.1)	8.3 (1.4-22.5)	NS	3.0 (-1.7-8.7)	8.2 (1.4-22.5)	NS

NS : not significant, Data as median(range)

상군에서보다 통계적으로 의미있게 높은 빈도로 나타났고, 특히 HLA-DRB1*0301의 경우 9.5배의 odds ratio를 보여주었다. HLA-DRB1*0405 대립유전자도 정상군에서보다 높은 빈도로 나타났고, odds ratio도 2.8(95% 신뢰구간 1.4-5.9)을 보였으나, 통계적으로 의미를 보이지는 못했다. 반면, HLA-DRB1*0803, *1202 대립유전자는 제 1형 당뇨병 환자들에서 정상군에 비해 적게 나타나 방어인자임을 시사하였으나, 통계적으로 유의성을 보이지는 못하였다($P < 0.05$, Table 3). HLA-DQB1의 유전자 분석에서는 HLA-DQB1*0201, *030302 대립유전자가 정상군에 비해 높게 나타났고, 특히 HLA-DQB1*0201의 경우 HLA-DRB1*0301과 연관불균형을 보이면서, 10배의 odds ratio를 보여주었다(Table 4). 또한 통계적으로 유의하지는 않았어도 HLA-DQB1*0401 대립유전자가 당뇨병 환자군에서 높은 빈도로 나타났다. 반면, HLA-DQB1*0503, *0601, *0602, *0301 대립유전자는 당뇨병 환자군에서 적게 나타났으며, 이 중 HLA-DQB1*0601 대립유전자는 통계적으로 유의성을 보여 방어인자임을 보여주었다(Table 4). 이를 HLA-DQ β1 영역에 있는 아미노산

분석과 견주어 보면, 한국인의 제 1형 당뇨병 환자들에서는 β1 영역의 57번째 아미노산이 aspartic acid가 아닐 때 제 1형 당뇨병의 위험도가 높아진다고 단적으로 말할 수는 없음을 보여주었다(Table 4). 한편, 제 1형 당뇨병 환자들에서 DRB1*090102/*090102, *0301/*090102 유전자형과 DQB1*0201/*030302, *030302/*030302, *0201/*0302* 유전자형이 정상군보다 의미있게 높게 나타났다($P < 0.05$, Table 5). 그러나, HLA-DRB1 및 DQB1 유전자형에 따른 제 1형 당뇨병의 발병연령이나 남녀의 차이는 없었다.

3. 갑상선 기능 및 갑상선에 대한 자가항체의 양성률

59명의 환자들에 대해 TPO, TG에 대한 자가항체 검사가 시행되었으며, 갑상선기능항진증을 보인 3명의 환자들에 대해서는 추가로 TSH 수용체에 대한 항체 검사를 시행하였다. 59명의 환자들 중 17명(28.8%; 남 5, 여 12)에서 갑상선에 대한 자가항체가 양성으로 나왔는데, TPO에 대한 자가항체가 양성인 환자들은 15명(25.4%; 남 4, 여 11)이었고, TG에 대한 자가항체가 양

Table 3. HLA-DRB1 Frequencies in the Patients with T1DM according to the Status of the Thyroid Autoimmunity and in Controls

HLA-DRB1	T1DM total			T1DM with antibody			T1DM without antibody		Controls
	N(%)	P	Odds ratio (95% CI)	N(%)	P	Odds ratio (95% CI)	N(%)	P	N(%)
	43			11			32		200
0101	7(16)	NS		3(27)	NS		4(13)	NS	28(14)
1501	3(7)	NS		2(18)	NS		1(3)	NS	34(17)
1502	0	NS		0	NS		0	NS	9(5)
0301	11(26)	<0.0001*	9.48(3.4-26.3)	3(27)	0.01	10.34(2.3-47.6)	8(25)	NS	7(4)
0401	0	NS		0	NS		0	NS	1(1)
0402	0	NS		0	NS		0	NS	0
0403	3(7)	NS		1(9)	NS		2(6)	NS	10(5)
0404	1(2)	NS		0	NS		1(3)	NS	4(2)
0405	15(35)	0.009	2.81(1.4-5.9)	3(27)	NS		12(38)	NS	32(16)
0406	1(2)	NS		0	NS		1(3)	NS	21(11)
0407	1(2)	NS		1(9)	NS		0	NS	2(1)
0410	0	NS		0	NS		0	NS	4(2)
1101	2(5)	NS		0	NS		2(6)	NS	13(7)
1201	3(7)	NS		0	NS		3(9)	NS	18(9)
1202	0	0.049	0.11(0.01-1.9)	0	NS		0	NS	18(9)
1301	0	NS		0	NS		0	NS	6(3)
1302	2(5)	NS		0	NS		2(6)	NS	31(16)
1401	0	NS		0	NS		0	NS	12(6)
1402	0	NS		0	NS		0	NS	2(1)
1403	0	NS		0	NS		0	NS	5(3)
1405	0	NS		0	NS		0	NS	15(8)
1407	0	NS		0	NS		0	NS	1(1)
0701	6(14)	NS		1(9)	NS		5(16)	NS	27(14)
0802	2(5)	NS		0	NS		2(6)	NS	11(6)
0803	0	0.004	0.06(0.004-1.1)	0	NS		0	NS	30(15)
090102	20(47)	<0.0001*	4.40(2.2-8.9)	4(36)	NS		16(50)	NS	33(17)
1001	2(5)	NS		0	NS		2(6)	NS	9(5)

NS : not significant, P vs. controls, *Pc(corrected probability)<0.05 vs. controls.

Table 4. HLA-DQB1 Frequencies in the Patients with T1DM according to the Status of the Thyroid Autoimmunity and in Controls

HLA-DQB1	T1DM total			T1DM with Ab			T1DM without Ab		Controls
	N(%)	P	Odds ratio (95% CI)	N(%)	P	Odds ratio (95% CI)	N(%)	P	N(%)
	59			17			42		
0501	10(17)	NS		3(18)	NS		7(17)	NS	37(19)
0502	0	NS		0	NS		0	NS	6(3)
0503	0	0.01	0.07(0.004-1.2)	0	NS		0	NS	20(10)
0601	0	0.0003*	0.05(0.003-0.8)	0	NS		0	NS	31(16)
0602	2(3)	0.008	0.18(0.04-0.8)	1(6)	NS		1(2)	NS	33(17)
0603	0	NS		0	NS		0	NS	7(4)
0604	2(3)	NS		0	NS		2(5)	NS	25(13)
0609	0	NS		0	NS		0	NS	8(4)
0201	16(27)	<0.0001*	10.26(4.0-26.5)	3(18)	0.034	5.91(1.4-25.4)	13(31)	NS	7(4)
0202	8(14)	NS		3(18)	NS		5(12)	NS	25(13)
0301	7(12)	0.022	0.37(0.2-0.9)	1(6)	NS		6(14)	NS	53(27)
0302	15(25)	NS		3(18)	NS		12(29)	NS	39(20)
030302	28(47)	0.0001*	3.40(2.41-8.24)	7(42)	NS		21(50)	NS	42(21)
0401	19(32)	0.008	2.58(1.33-5.05)	8(48)	0.004	4.85(1.7-13.5)	11(26)	NS	31(16)
0402	1(2)	NS							
Amino acid residues [†]				0	NS		1(2)	NS	13(7)
Asp-57	49(83)	NS		15(88)	NS		34(81)	NS	160(80)
Non-Asp-57	44(75)	NS		11(65)	NS		33(79)	NS	123(62)
Valine-57	12(20)	NS		3(18)	NS		9(21)	NS	66(33)
Serine-57	0	NS		0	NS		0	NS	6(3)
Alanine-57	32(54)	0.006	2.35(1.3-4.3)	8(47)	NS		24(57)	NS	67(34)

NS : not significant, P vs. controls, *Pc(corrected probability) <0.05 vs. controls
[†]amino acid residues in the HLA DQB1 β1 domain : aspartic acid-57=DQB1*0503, 0601, 0602, 0603, 0301, 03032, 0401, 0402; non-aspartic acid-57=DQB1*0501, 0502, 0604, 0609, 0201, 0202, 0302; valine-57=DQB1*0501, 0604, 0609; serine-57=DQB1*0502; alanine-57=DQB1*0201, 0202, 0302

Table 5. Frequency of Specific HLA-DRB1 or HLA-DQB1 Genotype in the Patients with T1DM according to the Status of the Thyroid Autoimmunity and in Controls

HLA-DRB1	T1DM total			T1DM with Ab			T1DM without Ab		Controls
	N(%)	P	Odds ratio (95% CI)	N(%)	P	Odds ratio (95% CI)	N(%)	P	N(%)
HLA-DRB1	43			11			32		200
0301/0301	2(5)	0.031	24.16(1.1-512.9)	1(9)	NS		1(3)	NS	0
0301/0405	2(5)	0.031	24.16(1.1-512.9)	0	NS		2(6)	NS	0
0301/090102	4(9)	0.004*	20.41(2.2-187.7)	1(9)	NS		3(9)	NS	1(1)
0405/0405	0	NS		0	NS		0	NS	3(2)
0405/090102	2(5)	NS		0	NS		2(6)	NS	5(3)
090102/090102	5(12)	0.0007*	26.18(3.0-230.6)	3(27)	0.0004*	74.63(7.0-799.5)	2(6)	NS	1(1)
HLA-DQB1	59			17			42		200
0201/0201	2(3)	NS		1(6)	NS		1(2)	NS	0
0201/030302	6(10)	0.0007*	22.53(2.7-191.3)	1(6)	NS		5(10)	NS	1(1)
0401/0401	0	NS		0	NS		0	NS	2(1)
0401/030302	4(7)	NS		2(12)	NS		2(4)	NS	5(3)
030302/030302	7(12)	0.004*	6.60(1.9-23.4)	4(24)	0.002*	15.08(3.4-67.3)	3(6)	NS	4(2)
0201/0302	6(10)	0.002*	11.21(2.2-57.2)	1(6)	NS		5(10)	NS	2(1)
0302/0302	1(2)	NS		0	NS		1(2)	NS	1(1)
0201/0401	1(2)	NS		0	NS		1(2)	NS	0

NS : not significant, P vs. controls, *Pc(corrected probability)<0.05 vs. controls

성인 환자들은 12명(20.3%; 남 3, 여 9), 두 항체 모두 양성인 환자들은 10명(16.9%; 남 2, 여 8)이었다(Table 2, Fig. 1). 갑상선 자가항체가 양성인 17명은 중앙기간 3.96년(1일-10.7년) 동안 진찰 및 anti-TPO, anti-TG, T₃, T₄ 또는 free T₄, TSH 검사를 시행하면서 추적 관찰하였는데, 갑상선기능저하증을 보인 예는 없었고, 3명에서 갑상선기능항진증이 있었으며, 56명의 환자들은 정상소견을 보였다. 갑상선기능항진증을 보인 3명에서만 TSH 수용체에 대한 자가항체를 검사하였다. 이들 3명 모두 TSH 수용체에 대한 항체가 양성이었으며, 3명 모두에서 TPO에 대해, 2명에서는 TG에 대해서 항체를 갖고 있었다. TPO 또는 TG 중 한 가지 이상에 대해 자가항체 양성인 환자군은 자가항체 음성인 환자군과 비교해 볼 때 제 1형 당뇨병 진단연령, 갑상선 검사시 연령, 제 1형 당뇨병으로 진단받은 후부터 갑상

선 검사까지의 당뇨병 유병기간 및 성별에 있어 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P>0.05$, Table 2). 갑상선 항체를 TPO 항체와 TG 항체로 세분하여 비교하였을 때에도 자가항체 유무에 따른 제 1형 당뇨병 진단연령, 갑상선 검사시 연령, 갑상선 검사시의 당뇨병 유병기간에 있어 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P>0.05$, Table 2). 여자에서 자가항체 양성률이 많았으나, 대상군이 적어서인지 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다($P>0.05$).

4. HLA-DR 및 DQ 유전자형에 따른 항 갑상선 자가항체의 양성률

갑상선에 대한 자가항체 양성인 제 1형 당뇨병 환자들에서 특정 HLA 유전자형이 관련되는지를 보고자 항체 유무에 따라 HLA 유전자형을 비교해 보았다. TPO 또는 TG에 대한 자가항체를 보인 당뇨병 환자군을 정상군과 비교하였을 때는 DRB1*0301($P=0.01$, OR 10.3), DQB1*0201($P=0.03$, OR 5.9), DQB1*0401($P=0.004$, OR 4.9), DRB1*090102/*090102($P<0.05$, OR 74.6), DQB1*030302/*030302($P<0.05$, OR 15.1)의 빈도가 높았으나, TPO 또는 TG에 대한 자가항체를 보인 당뇨병 환자군과 이에 대한 항체가 없는 당뇨병 환자군 간에는 HLA 유전자형에 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 3-5).

5. 갑상선 항체 종류에 따른 HLA 유전자형의 비교

TPO 항체와 TG 항체로 나누어 각 항체 유무에 따른 HLA 유전자형의 차이를 보았을 때는 TG 항체 양성군에서 TG 항체

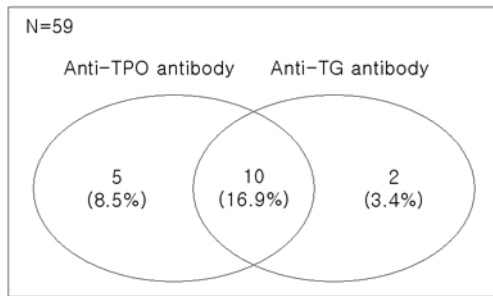


Fig. 1. Distribution of autoantibodies to thyroid peroxidase (TPO) and thyroglobulin(TG) in 59 Korean patients with type 1 diabetes.

Table 6. Frequency of Specific HLA-DRB1 or HLA-DQB1 in the Patients with T1DM according to the Specific Anti-thyroid Autoantibody and in Controls

	Anti-TPO antibody				Anti-TG antibody				Anti-TPO & anti-TG antibodies				Controls
	Positive	<i>P</i> [*] , OR	Negative	<i>P</i> [†] , OR	Positive	<i>P</i> [*] , OR	Negative	<i>P</i> [†] , OR	Both positive	<i>P</i> [*] , OR	Both negative	<i>P</i> [†] , OR	
DRB1	N=10		N=33		N=10		N=33		N=9		N=32		
0301	3	0.008, 11.82	8	NS	3	0.008, 11.82	8	NS	3	0.006, 13.79	8	NS	N=200 7
0405	3	NS	12	NS	3	NS	12	NS	3	NS	12	NS	32
090102	3	NS	17	NS	4	NS	16	NS	3	NS	16	NS	33
DQB1	N=15		N=44		N=12		N=47		N=10		N=42		N=200
0201	3	0.025, 6.89	13	NS	3	0.013, 9.19	13	NS	3	0.008, 11.82	13	NS	7
0401	7	0.007, 4.77	12	NS	4	NS	15	NS	3	NS	11	NS	31
030302	6	NS	22	NS	5	NS	23	NS	4	NS	21	NS	42
DRB													
090102/090102	2	0.006, 49.75	3	NS	3	0.0003, 85.29	2	NS	2	0.005, 56.9	2	NS	1
DQB													
030302/030302	3	0.008, 12.25	4	NS	4	0.0004, 24.5	3	0.026, 7.33	3	0.003, 21	3	NS	4

NS : not significant, **P* vs. controls, [†]*P* vs. T1DM patients without antibody, OR : odds ratio

음성군에 비해 HLA-DQB1*030302/*030302 유전자형의 빈도가 높은 것($P=0.026$, OR 7.33)을 제외하고는 HLA 유전자형에 유의한 차이가 없었다(Table 6). 한편, 각각의 항체 양성군을 정상 대조군과 비교해 볼 때는 각각에 대한 항체 양성군들이 정상군에 비해 DRB1*0301, DQB1*0201, DRB1*090102/*090102, DQB1*030302/*030302의 유전자형을 많이 갖고 있었고, TPO 항체를 지닌 군에서는 이 외에 DQB1*0401도 정상군에서보다 많이 나타났다(Table 6). TSH 수용체에 대한 자가항체는 Graves병을 보인 3명의 환자들에서 시행되었는데, 이들 모두 양성을 보였으며, 3명 모두 여자였고, 2명에서 DQB1*030302/*030302를, 한명에서 DQB1*030302/*0401을 가지고 있었다.

고 찰

제 1형 당뇨병의 자연경과에 대해서는 여러 가설이 있으나 췌장 소도의 베타 세포가 면역학적 기전에 의해 파괴됨으로써 야기되는 만성적 진행성 질환이라는 것이 가장 큰 지지를 받고 있는데, 이는 유전적 감수성 인자를 가진 개체가 특정 유발인자를 만나게 되면 임상적인 당뇨병으로 진행한다고 보는 것이다¹⁾. 이러한 개념이 확산되어 면역유전학적 분석기법들이 발달되었고, 그 결과 당뇨병의 위험군 및 당뇨병으로의 진행 정도를 예측하는 것이 가능해지게 되었다. 현재 제 1형 당뇨병과 연관된 유전 인자로는 20여가지 이상이 보고되고 있으며, 이들이 각각 작용한다기보다는 몇 가지 인자가 함께 작용한다고 생각되어지나, 그 중에서도 염색체 6번의 단완에 존재하는 HLA와의 상관성이 제일 높은 것으로 알려져 있고, 특히 2군에 속하는 DR 및 DQ와의 상관성이 높음이 알려져 있다²⁾. 지역에 따라 제 1형 당뇨병의 발생률이 큰 차이를 보이는 것이 환경적 인자 때문인지, 인종간의 유전적 인자의 차이 때문인지에 대한 연구가 많이 있었다. 한국인에서의 발생률은 세계적으로 제일 낮은 군으로 알려져 있는데 이는 HLA 유전자형 분포가 한국인과 비슷하다고 알고 있는 일본인에서도 마찬가지여서 제 1형 당뇨병과 HLA 유전자와의 상관성을 시사해주고 있다. 감수성 유전자로 알고 있는 HLA-DRB1*0301 및 이것과 높은 연관불균형을 보이는 HLA-DQB1*0201의 빈도는 전 세계적으로 제 1형 당뇨병 환자들에서 높게 나타났으나, HLA-DR4의 대립유전자형 분석에서는 차이점들이 보고되고 있다. 즉 코카시안에서는 HLA-DRB1*0401 및 HLA-DQB1*0302 대립유전자가 높게 나타났고^{25, 26)}, 이들이 상호간에 높은 연관불균형을 보였으나, 이스라엘 및 다른 지중해국가들에서는 DRB1*0301-DQB1*0201 외에 DRB1*0402가 DQB1*0302와 함께 높은 빈도를 보였고¹¹⁾, 일본 및 대만에서는 DRB1*0301-DQB1*0201은 높은 빈도를 보인 반면, DQB1*0302의 빈도가 높게 나타나지 않았다^{6, 27)}. 한국, 대만 및 일본의 아시아 국가에서 제 1형 당뇨병의 발생률이 낮은 이유를, 연관불균형을 보이는 HLA-DR 및 HLA-DQ의 대립유전자가 둘 다 감수성인자로 되어있지 않고, 한쪽이 방어인자로 연관되어 있어서

라고 보는 보고가 있다²⁸⁾. 본 연구에서는 한국인 정상군에서 감수성 인자로 알고 있는 DRB1*0401, *0402, *0407 등의 빈도가 절대적으로 적은 것으로 밝혀져(Table 3), 이것이 한국인에서의 제 1형 당뇨병의 발생률을 낮추는데 기여하리라고 생각되었다. 또한, 한국인에서는 상대적으로 대립유전자 빈도가 높은 DRB1*090102가 제 1형 당뇨병의 감수성 유전자임을 시사하였고, DRB1*0405의 빈도도 당뇨병 환자군에서 높게 나타났다. 한국인 제 1형 당뇨병 환자들에서 DQB1*0302 대립유전자의 빈도가 정상군에서와 차이는 없었어도, DQB1*0201/*0302의 빈도는 예상보다 높게 나타나 이 역시 한국인 제 1형 당뇨병의 감수성 인자일 가능성이 높다고 생각되었다. 또한 DQ beta 사슬의 57번째 아미노산이 non-aspartic acid일 때 제 1형 당뇨병과 높은 상관성이 보고되었으나^{26, 29)}, 제 1형 당뇨병을 가진 일본인³⁰⁾, 중국인³¹⁾, 멕시코인³²⁾ 및 흑인³³⁾을 대상으로 한 여러 연구에서는 그렇지 않다고 보고되었다. Aspartic acid를 코드 하는 DQB1*0601이 전세계적으로 제 1형 당뇨병의 방어인자로 알려져 있고, 본 연구에서도 일치하였다. 하지만, non-aspartic acid를 코드 하는 유전자 중 감수성 인자인 DQB1*0201은 한국인에서도 많았으나, 오히려 aspartic acid를 코드하는 DQB1*0401 및 DQB1*030302가 당뇨병 환자군에서 높게 나타났기 때문에(Table 4) 한국인 제 1형 당뇨병과 57번째 아미노산의 aspartic acid 유무와는 연관짓기 어려웠다. 또한, HLA 유전자형에 따른 제 1형 당뇨병의 발병연령이나 성별의 차이는 관찰되지 않아 중국인을 대상으로 한 연구²⁷⁾와는 다른 결과를 보였는데, 환자의 수가 적어 좀 더 자료가 모아져야 할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 DRB1*0301/*090102, DRB1*090102/*090102 및 DQB1*0201/*030302, DQB1*030302/*030302, DQB1*0201/*0302에서 제 1형 당뇨병의 위험도를 증가시킴을 볼 수 있었다(Table 5).

자가면역성 갑상선질환과 HLA 유전자형과의 연관성에 대해서도 많은 연구가 있었는데 Yanagawa 등³⁴⁾은 코카시안을 대상으로 Graves병을 가진 환자들에서 HLA-B8, HLA-DR3, DQA1*0501의 빈도가 높다고 보고하였고, Zamani 등³⁵⁾은 HLA-DRB1*0301이 남녀 모두, 특히나 여성에서 Graves병에 대한 감수성을 높여준다고 하였다. Badenhoop 등³⁶⁾은 Hashimoto 갑상선염에서 DQw7이 밀접히 연관되어 있고 DQA1*0201/*0301의 빈도가 높다는 보고를 하였다. 제 1형 당뇨병과 자가면역성 갑상선염은 자가면역 내분비 질환에서 가장 흔한 조합이다. 임상적인 갑상선 질환이 없을 경우에도 제 1형 당뇨병 환자들의 갑상선 항체 양성률은 국가와 인종별로 매우 다양하여 3%에서 50%에 이르고 보고되었고¹³⁻¹⁵⁾, TPO에 대한 자가항체가 양성인 제 1형 당뇨병 환자의 50%에서 당뇨병이 발병한 후 3-4년 이내에 갑상선 질환이 발병하기 때문에 매년 갑상선 기능검사가 필요하다고 하였다^{15, 16)}. Kordonouri 등¹⁶⁾에 의한 연구에서는 제 1형 당뇨병 환자들에서 TPO 자가항체 양성률은 10.0%, TG 자가항체율은 8.7%였고, 5.9%의 환자들에서는 두 가지 모두에서 자가항체가 양성이었으며, 여자들에서 anti-TPO 자가항체의 양성률이 남아

요 약

들에 비해 높았음을 보여주었다. Kim 등¹⁹⁾은 자가면역성 갑상선 질환을 동반한 당뇨병 환아들에서 정상대조군에 비해 DQB1*0401이 빈번히 발견된다고 하였고, Chuang 등²⁰⁾의 연구에서는 갑상선 항체 양성을 보이는 제 1형 당뇨병 환아들에서 대조군에 비해 DRB1*0405-DQA1*0301-DQB1*0401의 빈도가 높다고 하였다. 하지만 De Block 등²¹⁾의 연구에서는 제 1형 당뇨병 환아들 중에서 anti-TPO 자가항체 양성률이 여아 및 GAD 자가항체와 관련이 있으며, HLA-DQ나 islet cell 자가항체와는 관련이 없음을 보고하기도 하였다. 본 연구에서는 TPO에 대한 자가항체를 보인 당뇨병 환아는 25.4%, TG 자가항체 양성률은 20.3%이었으며 두 항체 모두 양성인 환아는 16.9%를 보여 다른 논문들에서처럼 제 1형 당뇨병 환아들에서 갑상선에 대한 자가항체율이 높았다. 하지만, 성별에 따른 갑상선항체 양성률의 차이를 볼 수 없었는데 이는 대상군의 수가 적기 때문이라고 생각되었다. 본 연구에서 갑상선 항체 양성인 제 1형 당뇨병 환아들은 대조군에 비해 DRB1*090102/*090102($P < 0.05$, OR 74.6) DQB1*030302/*030302($P < 0.05$, OR 15.1)가 유의하게 많았다. 한편, 각각의 항체 양성군을 정상 대조군과 비교해 볼 때는 각각에 대한 항체 양성군들이 정상군에 비해 DRB1*0301, DQB1*0201, DRB1*090102/*090102, DQB1*030302/*030302의 유전자형을 많이 갖고 있었고, TPO 항체를 지닌 군에서는 이 외에 DQB1*0401도 정상군에서보다 많이 나타났다(Table 6). 또한, TPO항체와 TG 항체로 나누어 각 항체 유무에 따른 HLA 유전자형의 차이를 보았을 때 TG 항체 양성군에서 TG 항체 음성군에 비해 HLA-DQB1*030302/*030302 유전자형의 빈도가 높은 것($P = 0.026$, OR 7.33)을 보였다. 하지만 이를 제외하고는 각각의 항체 유무에 따른 다른 HLA 유전자형에는 유의한 차이가 없었다(Table 6). 또, Graves병을 보인 3명의 환아들은 모두 여아였고, 모두 HLA-DQB1*030302를 가지고 있었는데, 환자 수가 적어 이것이 갖는 의미를 단정짓기는 어려웠다. 갑상선 자가항체 유무에 따른 당뇨병의 진단연령, 성별, 당뇨병의 유병기간 등의 차이는 볼 수 없었다.

결론적으로 한국인에서는 HLA-DRB1*0301, *090102, DQB1*0201, *030302, DRB1*0301/*090102, *090102/*090102, DQB1*0201/*030302, *030302/*030302, *0201/*0302 등이 제 1형 당뇨병에 대한 감수성 인자였고, 코카시안과는 다른 HLA-DR 및 DQ의 분포가 한국인에서 제 1형 당뇨병의 발생률이 낮은 이유 중의 하나를 차지하리라고 생각하였다. 한편, 제 1형 당뇨병 환아에서 갑상선 자가항체 양성률은 28.8%였고, 이는 한국인 제 1형 당뇨병 환아에서도 갑상선 자가항체 검사가 규칙적으로 시행되어야 함을 시사한다고 하겠다. 한국인 제 1형 당뇨병 환아에서 자가면역성 갑상선 질환에 대한 선별검사 시작 시기와 횟수 등에 대해서는 이들 환자들의 장기적인 추적관찰을 통해 추후 좀더 연구가 필요하리라 생각된다.

목적 : 본 연구는 한국인 제 1형 당뇨병 환아들에서 HLA-DR과 DQ 유전자형 및 갑상선 자가항체(항 TPO 자가항체와 항 thyroglobulin 자가항체)를 분석함으로써, 한국인 제 1형 당뇨병과 관련 있는 특정 HLA 유전자형을 알아보고자 하였고, 이들 제 1형 당뇨병 환아들에서의 갑상선 자가항체의 유병률, 갑상선 질환으로의 발현 및 이들 자가면역성 갑상선염과 HLA 유전자형과의 관련성을 알아보고자 하였다.

방법 : 총 59명[남아 26명, 검사시 연령 13.7세(5.7-29.9세), 당뇨병 유병기간 7.6년(-1.7-22.5년)]의 제 1형 당뇨병 환아를 대상으로 하였고, 갑상선 질환의 병력 및 가족력이 없는 건강한 200명의 한국인의 HLA 유전자형을 대조군으로 하였다. 59명의 환자 중 갑상선 자가항체 양성인 17명은 중앙기간 3.96년(1일-10.7년) 동안 진찰 및 anti-TPO, anti-TG, T₃, T₄ 또는 free T₄, TSH 검사를 시행하면서 추적 관찰하였다. HLA-DR과 DQ의 유전자 분석은 PCR-SSO, PCR-SSCP, PCR-RFLP 및 PCR-SSP 방법을 이용하였다.

결과 : 제 1형 당뇨병 환아들에서 대조군에서보다 HLA-DRB1*0301, *090102, DQB1*0201, *030302, DRB1*0301/*090102, DRB1*090102/*090102, DQB1*0201/*030302, *030302/*030302, *0201/*0302의 빈도가 높았다($P < 0.05$). 15명(25.4%)에서 TPO에 대한 자가항체 양성이었다고, 12명(20.3%)에서 TG 자가항체 양성이었다고, 17명(28.8%)은 두 가지 항체 중 한 가지 이상의 항체를 갖고 있었다. 10명(16.9%)은 두 종류의 항체를 모두 갖고 있었다. 갑상선 항체 양성을 보인 이후부터의 추적기간 동안 갑상선기능저하증을 보인 경우는 없었다. 3명(5.1%)의 여아에서 당뇨병 진단 전 또는 후에 갑상선기능항진증이 진단(8.5세, 11세, 13.2세)되었다. 갑상선 자가항체의 유무 및 각각의 항체 종류에 따른 대상군간의 제 1형 당뇨병 진단연령, 갑상선 검사시 연령, 당뇨병 유병기간 및 성별의 차이는 보이지 않았다($P > 0.05$).

결론 : 한국인에서는 HLA-DRB1*0301, *090102, DQB1*0201, *030302, DRB1*0301/*090102, *090102/*090102, DQB1*0201/*030302, *030302/*030302, *0201/*0302 등이 제 1형 당뇨병에 대한 감수성 인자였고, 코카시안과는 다른 HLA-DR 및 DQ의 분포가 한국인에서 제 1형 당뇨병의 발생률이 낮은 이유 중의 하나를 차지하리라고 생각되었다. 한편, 제 1형 당뇨병 환아들에서 갑상선 자가항체 양성률은 28.8%였고, 이는 한국인 제 1형 당뇨병 환아에서도 갑상선 자가항체 검사가 규칙적으로 시행되어야 함을 시사한다고 하겠다. 한국인 제 1형 당뇨병 환아에서 자가면역성 갑상선 질환에 대한 선별검사 시작 시기와 횟수 등에 대해서는 이들 환자들의 장기적인 추적관찰을 통해 추후 좀더 연구가 필요하리라 생각된다.

References

- 1) Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *New Engl J Med* 1986;314:1360-8.
- 2) Cudworth AG, Woodrow JC. HLA system and diabetes mellitus. *Diabetes* 1975;24:345-9.
- 3) Ko KW, Yang SW, Cho NH. The incidence of IDDM in Seoul from 1985 to 1988. *Diabetes Care* 1994;17:1473-5.
- 4) Singal DP, Blajchmann MA. Histocompatibility(HLA) antigens, lymphotoxic antibodies and tissue antibodies in patients with diabetes mellitus. *Diabetes* 1973;22:429-32.
- 5) Thomson G, Robinson WP, Kuhner MK, Joe S, MacDonald MJ, Gottschall JL, et al. Genetic heterogeneity, modes of inheritance, and risk estimates for a joint study of Caucasians with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hum Genet* 1988;43:799-816.
- 6) Awata T, Kuzuya T, Matsuda A, Iwamoto Y, Kanazawa Y. Genetic analysis of HLA class II alleles and susceptibility to type 1(insulin-dependent) diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia* 1992;35:419-24.
- 7) Djoulah S, Khalil I, Beressi JP, Benhamamouch S, Bensaoud K, Deschamps I, et al. The HLA-DRB1*0405 haplotype is most strongly associated with IDDM in Algerians. *Eur J Immunogenet* 1992;19:381-9.
- 8) Erlich HA, Zeidler A, Chang J, Shaw S, Raffel LJ, Klitz W, et al. HLA class II alleles and susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus in Mexican-American families. *Nat Genet* 1993;3:358-64.
- 9) Hu Cy, Allen M, Chuang LM, Lin BJ, Gyllensten U. Association of insulin-dependent diabetes mellitus in Taiwan with HLA class II DQB1 and DRB1 alleles. *Hum Immunol* 1993;38:105-14.
- 10) Cucca F, Lampis R, Frau F, Macis D, Angius E, Masile P, et al. The distribution of DR4 haplotypes in Sardinia suggests a primary association of type I diabetes with DRB1 and DQB1 loci. *Hum Immunol* 1995;43:301-8.
- 11) Kwon OJ, Brautbar C, Weintrob N, Sprecher E, Saphirman C, Bloch K, et al. Immunogenetics of HLA class II in Israeli Ashkenazi Jewish, Israeli non-Ashkenazi Jewish, and in Israeli Arab IDDM patients. *Hum Immunol* 2001;62:85-91.
- 12) Yu J, Shin CH, Yang SW, Park MH, Eisenbarth GS. Analysis of children with type 1 diabetes in Korea: high prevalence of specific anti-islet autoantibodies, immunogenetic similarities to Western populations with "unique" haplotypes, and lack of discrimination by aspartic acid at position 57 of DQB. *Clin Immunol* 2004;113:318-25.
- 13) Burek CL, Rose NR, Guire KE, Hoffman WH. Thyroid autoantibodies in black and in white children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and their first degree relatives. *Autoimmunity* 1990;7:157-67.
- 14) Radetti G, Paganini C, Gentili L, Bernasconi S, Betterle C, Borkenstein M, et al. Frequency of Hashimoto's thyroiditis in children with type 1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 1995;32:121-4.
- 15) Lindberg B, Ericsson UB, Ljung R, Ivarsson SA. High prevalence of thyroid autoantibodies at diagnosis of insulin-dependent diabetes mellitus in Swedish children. *J Lab Clin Med* 1997;130:585-9.
- 16) Kordonouri O, Deiss D, Danne T, Dorow A, Bassir C, Gruters-Kieslich A. Predictivity of thyroid autoantibodies for the development of thyroid disorders in children and adolescents with Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2002;19:518-21.
- 17) Rallison ML, Dobyns BM, Keating FR, Rall JE, Tyler FH. Occurrence and natural history of chronic lymphocytic thyroiditis in childhood. *J Pediatr* 1975;86:675-82.
- 18) Hunter I, Greene SA, MacDonald TM, Morris AD. Prevalence and aetiology of hypothyroidism in the young. *Arch Dis Child* 2000;83:207-10.
- 19) Kim EY, Shin CH, Yang SW. Polymorphisms of HLA class II predispose children and adolescents with type 1 diabetes mellitus to autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity* 2003;36:177-81.
- 20) Chuang LM, Wu HP, Chang CC, Tsai WY, Chang HM, Tai TY, et al. HLA DRB1/DQA1/DQB1 haplotype determines thyroid autoimmunity in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* 1996;45:631-6.
- 21) De Block CE, De Leeuw IH, Vertommen JJ, Rooman RP, Du Caju MV, Van Campenhout CM, et al. Beta-cell, thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* 2001;126:236-41.
- 22) Expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
- 23) Bannai M, Tokunaga K, Lin L, Kuwata S, Mazda T, Amaki I, et al. Discrimination of human HLA-DRB1 alleles by PCR-SSCP(single-strand conformation polymorphism) method. *Eur J Immunogenet* 1994;21:1-9.
- 24) Park MH, Whang DH, Kang SJ. High resolution HLA-DQB1 typing by combination of PCR-RFLP and PCR-SSCP. *Hum Immunol* 1999;60:901-7.
- 25) Noble JA, Valdes AM, Cook M, Klitz W, Thomson G, Erlich HA. The role of HLA class II genes in insulin-dependent diabetes mellitus: molecular analysis of 180 Caucasian, multiplex families. *Am J Hum Genet* 1996;59:1134-48.
- 26) Dorman JS, LaPorte RE, Stone RA, Trucco M. Worldwide differences in the incidence of type I diabetes are associated with amino acid variation at position 57 of the HLA-DQ beta chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:7370-4.
- 27) Chen BH, Chiang CH, Lin SR, Chao MG, Tsai ST. The influence of age at onset and gender on the HLA-DQA1, DQB1 association in Chinese children with insulin dependent diabetes mellitus. *Hum Immunol* 1999;60:1131-7.
- 28) She JX. Susceptibility to type I diabetes: HLA-DQ and DR revisited. *Immunol Today* 1996;17:323-9.
- 29) Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1987;329:599-604.
- 30) Awata T, Kuzuya T, Matsuda A, Iwamoto y, kanazawa Y, Okuyama M, et al. High frequency of aspartic acid at position 57 of HLA-DQ β -chain in Japanese IDDM patients and nondiabetic subjects. *Diabetes* 1990;39:266-9.

- 31) Penny MA, Jenkins D, Mijovic CH, Jacobs KH, Cavan DA, Yeung VT, et al. Susceptibility to IDDM in a Chinese population. Role of HLA class II alleles. *Diabetes* 1992;41:914-9.
 - 32) Sanjeevi CB, Seshiah V, Moller E, Olerup O. Different genetic backgrounds for malnutrition-related diabetes and type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in south Indians. *Diabetologia* 1992;35:283-6.
 - 33) Mijovic CH, Jenkins D, Jacobs KH, Penny MA, Fletcher JA, Barnett AH. HLA-DQA1 and -DQB1 alleles associated with genetic susceptibility to IDDM in a black population. *Diabetes* 1991;40:748-53.
 - 34) Yanagawa T, Mangklabruks A, Chang YB, Okamoto Y, Fisfalen ME, Curran PG, et al. Human histocompatibility leukocyte antigen-DQA1*0501 allele associated with genetic susceptibility to Graves' disease in a Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1569-74.
 - 35) Zamani M, Spaepen M, Bex M, Bouillon R, Cassiman JJ. Primary role of the HLA class II DRB1*0301 allele in Graves disease. *Am J Med Genet* 2000;95:432-7.
 - 36) Badenhoop K, Schwarz G, Walfish PG, Drummond V, Usadel KH, Bottazzo GF. Susceptibility to thyroid autoimmune disease: molecular analysis of HLA-D region genes identifies new markers for goitrous Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1131-7.
-