

Mathias Rickert

Dr.sc.hum.

Untersuchungen zur Risikovorhersage von Typ I Diabetes mellitus durch multiple Antikörperdetektion

Geboren am 22.06.1971 in Düsseldorf

Reifeprüfung am 18.06.1991

Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1992 bis SS 1998

Vordiplom am 31.08.1994 an der Universität Kaiserslautern

Diplom am 07.11.1997 an der Universität Kaiserslautern

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Frau Priv.-Doz. Dr. W. Richter

Ein aktueller Schwerpunkt in der Erforschung des Diabetes Typ I ist die Optimierung der Risikovorhersage und die Prävention der Erkrankung. Zu diesem Zweck sind große Studien zur Detektion von Autoantikörpern z.B. bei erstgradig Verwandten und schließlich in der gesamten Bevölkerung notwendig. Bis vor wenigen Jahren beruhten die Testverfahren zur Identifikation von Personen mit erhöhtem Risiko an Typ I Diabetes zu erkranken vor allem auf der schwer zu standardisierenden Detektion von Inselzell-Antikörpern (ICA) auf Gefrierschnitten von menschlichem Pankreas. In der vorliegenden Arbeit gelang zum ersten mal die Generierung von Fusionsproteinen zwischen den beiden wichtigsten Inselzell-Antigenen GAD65 und IA2 zum gleichzeitigen Nachweis von GAD65- und IA2-Autoantikörpern in Seren von Risikopersonen oder Typ I Diabetikern. Von vier hergestellten Fusionsproteinen offenbarten zwei den kompletten Verlust aller getesteten GAD65-spezifischen autoreaktiven Epitope in radioimmunologischen Versuchen mit monoklonalen Antikörpern und Patientenseren. Dies deutete auf eine falsche dreidimensionale Faltung des GAD65-Proteinanteils in den beiden Fusionsproteinen mit N-terminal deletiertem GAD65 hin. Nur im Fusionsprotein IA2_{c(606-979)}/GAD65₍₁₋₅₈₅₎ waren offensichtlich alle getesteten GAD65- und IA2c-Epitope vollständig konserviert und eine durch Baculovirus-Transduktion vermittelte *in vivo* Expression in *Sf9*-Insektenzellen war erfolgreich möglich. Ein neu entwickeltes Radioimmunoassay (RIA) zur gleichzeitigen Detektion von GAD65- und IA2-Autoantikörpern auf Basis dieses Fusionsproteins erreichte hinsichtlich Sensitivität und

Spezifität ein gleich gutes, wenn nicht sogar ein leicht besseres Ergebnis, als ein zuvor etablierter RIA mit GAD65/IA2c Antigengemisch. Bei der Teilnahme am IDS-Workshop 2000 erreichte unser neu entwickelter RIA mit laborinternem Schwellenwert eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 98%. Aufgrund eines beobachteten Verstärkungseffekts bei gleichzeitiger Messung von GAD65- und IA2-Autoantikörpern konnten schwach positive Seren besser detektiert werden, als mit RIAs auf Basis der separaten Antigene GAD65 und IA2c. Neue Testsysteme mit dem Fusionsprotein IA2c₍₆₀₆₋₉₇₉₎/GAD65₍₁₋₅₈₅₎ sollten sich demnach hervorragend zur Entwicklung ökonomischerer Strategien zur Diabetes Typ I Risikovorhersage und Bevölkerungscreening eignen, bei denen im ersten Schritt auf GAD65- und IA2 Autoantikörper und in einem zweiten Schritt, zur besseren Evaluierung des Erkrankungsrisikos, auf ICA und Insulin-Autoantikörper getestet wird.