

Modèles animaux spontanés de diabète insulino-dépendant (diabète de type 1)

P Saï, E Gouin

► **To cite this version:**

| P Saï, E Gouin. Modèles animaux spontanés de diabète insulino-dépendant (diabète de type 1).
| Veterinary Research, BioMed Central, 1997, 28 (3), pp.223-229. hal-00902475

HAL Id: hal-00902475

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00902475>

Submitted on 1 Jan 1997

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Modèles animaux spontanés de diabète insulino-dépendant (diabète de type 1)

P Saï *, E Guoin

Laboratoire d'immuno-endocrinologie cellulaire et moléculaire, Inra, université, école nationale vétérinaire de Nantes, Atlanpole, La Chantrerie, BP 40706, 44307 Nantes cedex 03, France

(Reçu le 18 octobre 1996 ; accepté le 19 décembre 1996)

Summary — Spontaneous animal models for insulin-dependent diabetes (type 1 diabetes). Insulin dependent (type 1) diabetes in humans is a polygenic, auto-immune disease that is characterized, among other things, by the infiltration of the islets of Langerhans by immune cells (insulite) as well as many serum auto-antibodies (including islet cell antibodies: ICA). The medical goal is to diagnose the condition at a sub-clinical stage and then to prevent the disease from developing. Spontaneous diabetic rodent models, in particular the NOD mouse and BB rat are invaluable to the continuing progress of the work aimed at better understanding the human disease. In addition to these models, the study of type 1 diabetes in larger animals, having a longer life-span would also be helpful. In dogs and cats, certain minor kinds of diabetes appear to be of type 1. The classification of diabetes types in carnivores remains poorly defined, however; epidemiological, genetic and metabolic studies are required before these diabetes can be used as operational models for the human pathology. Even if the classification of these diseases is clarified, the ethical and social considerations involved with the use of companion animals, will limit the use of these animals as models for spontaneous diabetes. The selection of a specific line of diabetic dogs should perhaps be considered.

type 1 diabetes / NOD mice / dog / animal model

Résumé — Le diabète insulino-dépendant (de type 1) humain est une maladie auto-immune polygénique, caractérisée entre autres par la présence d'une infiltration des îlots de Langerhans par des cellules immunitaires (insulite) et de multiples autoanticorps sériques (dont les anticorps anti cellules d'îlots : ICA). L'enjeu médical est constitué par le dépistage à un stade infra-clinique et la prévention de la maladie. Les modèles de rongeurs spontanément diabétiques, en particulier la souris NOD et le rat BB, sont indispensables pour continuer à progresser dans la compréhension de la maladie humaine. En complément, des diabètes de type 1 atteignant des animaux de plus grande taille, de durée de vie plus longue seraient très utiles. Chez le chien et le chat, certains diabètes, minoritaires, paraissent de type 1. Cependant, la classification des diabètes des carnivores reste floue, et des études épidé-

* Correspondance et tirés à part.

Tél : (33) 02 40 68 77 18 ; fax : (33) 02 40 68 77 26 ; courriel : iecm@sun.vet-nantes.fr

miologiques, génétiques, et métaboliques sont indispensables avant que ces diabètes puissent constituer des modèles opérationnels de la pathologie humaine. Même en précisant cette classification, les considérations éthiques et sociologiques liées aux animaux de compagnie limiteront l'utilisation du diabète spontané du chien comme modèle, de sorte que la possibilité de sélectionner une lignée de chiens diabétiques devrait peut-être être envisagée.

diabète de type 1 / souris NOD / chien / modèle animal

Chez l'homme le diabète sucré insulino-dépendant (diabète de type 1) est une maladie auto-immune, génétiquement programmée, au cours de laquelle la destruction auto-immune spécifique des cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques aboutit à une insulino-pénie responsable de l'hyperglycémie. De très nombreuses études ont établi cette nature auto-immune, parmi lesquelles, initialement, grâce à des coupes histologiques de pancréas de diabétiques décédés peu de temps après l'apparition du diabète, la mise en évidence d'une infiltration des îlots de Langerhans par des cellules immunitaires (insulite) (Gepts, 1965), et la découverte d'autoanticorps sériques anti-cellules d'îlots (ICA) (Bottazzo et al, 1974). Au travers de la compréhension grandissante de la pathogénie de la maladie, l'enjeu médical est clair : dépister puis prévenir le diabète chez les sujets à risque.

A ce titre, les modèles animaux sont et seront utiles pour étudier :

- 1) l'histoire naturelle de la physiopathogénie auto-immune du diabète de type 1 ; cette étude étant difficile chez l'homme, en particulier aux stades très précoces du pré-diabète ;
- 2) les effets de différentes stratégies préventives ou thérapeutiques.

LES MODÈLES DE DIABÈTE CHEZ LES RONGEURS

Les principaux modèles du diabète humain sont fournis par deux rongeurs de laboratoire : la souris *non obese diabetic* (NOD), et le rat *Biobreeding* (BB).

La souris NOD

Les souris NOD ont été sélectionnées au Japon à partir de mutants prédisposés à une cataracte (Makino et al, 1980). A partir de l'âge de 4 à 6 semaines, ces souris sont progressivement atteintes d'une infiltration leucocytaire des îlots de Langerhans (insulite) qui, à cet âge, demeure péri-insulaire mais s'aggrave ensuite. Cette insulite comporte initialement des macrophages et des cellules TCD_4^+ . Un recrutement de cellules TCD_8^+ survient ensuite. A partir de l'âge de 12 semaines, certaines femelles commencent à extérioriser un diabète, avec une incidence cumulée de la maladie d'environ 70 % à l'âge de 30 semaines. Chez les mâles, l'incidence du diabète est beaucoup plus faible (< 10 %), bien qu'ils soient tous atteints d'une insulite (demeurant le plus souvent péri-insulaire).

Au plan génétique, le diabète de la souris NOD est, comme celui de l'homme, polygénique. Certains gènes, prépondérants, sont liés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ; d'autres, non liés au CMH, interviennent de façon plus modérée. Le plus important des loci de susceptibilité est situé dans la région codant pour la molécule CMH de classe II I-A^{B7} (ou I-A^{NOD}). Cette molécule présente une particularité avec les molécules DQ humaines associées au diabète car elle comporte une sérine en position $\beta 57$. Schématiquement, deux groupes de gènes, contrôlant deux phases successives de la maladie, peuvent être distingués : ceux qui contrôlent l'évolution jusqu'à la lésion histologique (l'insulite) et ceux qui, ensuite, permettent à cette insu-

lite de devenir agressive et de déboucher sur le diabète clinique. De nombreux arguments suggèrent en effet que l'insulite ne conduit pas inéluctablement au diabète et qu'elle peut même être protectrice.

Par ailleurs, lorsque les souris NOD sont élevées dans un environnement sans germes, l'incidence du diabète augmente, aussi bien chez le mâle que chez la femelle, et peut atteindre 100 %. Ceci suggère que la pathogénie de la maladie n'est pas entièrement génétique, mais que des facteurs environnementaux pourraient aussi jouer un rôle.

Le rat BB

Le rat BB est originaire d'une colonie de rats Wistar (Chappel et Chappel, 1983). A la différence de celui de la souris NOD, le diabète du rat BB atteint de façon similaire les deux sexes. L'incidence de la maladie à l'âge de 10–15 semaines est d'environ 40 à 70 %. La durée du stade pré-diabétique est plus courte chez ce rat BB que chez la souris NOD, puisque l'insulite n'apparaît qu'environ 2 semaines avant l'émergence clinique de la maladie.

Comme chez la souris NOD, l'insulite initiale du rat BB est composée de cellules TCD_4^+ , de macrophages, et de cellules dendritiques. L'expression d'antigènes de classe 1 et de classe 2 du CMH est stimulée sur l'endothélium vasculaire pancréatique. Puis, des cellules NK et B gagnent l'infiltrat.

Une différence importante entre la souris NOD et le rat BB est que ce dernier est aussi atteint d'une lymphopénie portant sur les lymphocytes TCD_8^+ . Certaines lignées de rats BB sont résistantes au diabète du fait de l'existence d'une population de cellules T périphériques portant l'antigène RT6.

Ces modèles spontanés de diabète chez les rongeurs semblent assez proches du diabète humain, mais ils ne sont pas toujours très commodes pour tester certaines hypothèses. Par exemple, la longue durée et la

variabilité du pré-diabète d'une souris NOD à l'autre rendent parfois difficiles certaines expérimentations visant à prévenir l'apparition de la maladie. Par conséquent, des modalités d'induction ou d'accélération du diabète ont été mises au point, essentiellement chez les souris. Nous laisserons de côté les diabètes complètement induits par des toxiques (ex : streptozotocine) ou par des virus, des diabètes induits par transgénèse des cellules β de souris au départ non prédisposées au diabète, ou encore des diabètes induits par déplétion des cellules T de certaines souches de rat, pour citer uniquement les diabètes accélérés par différentes modalités chez la souris NOD. Ainsi, la maladie peut être transférée en quelques semaines chez des souriceaux NOD ou à des mâles adultes irradiés (Bendelac et al, 1987 ; Miller et al, 1988) par l'injection de lymphocytes TCD_4^+ et TCD_8^+ provenant de souris NOD diabétiques. Par ailleurs, le diabète de la souris NOD peut être induit en 1 mois par l'injection de cyclophosphamide (Harada et Makino, 1984), peut-être du fait d'une action prépondérante de ce médicament sur des cellules suppressives (Yasunami et Bach, 1988).

Ces modèles de rongeurs diabétiques, et en première ligne la souris NOD, ont permis une accélération des connaissances sur la pathogénie de cette maladie auto-immune chez l'homme. Plus encore, la souris NOD a fait l'objet, avec succès, de très nombreuses tentatives de prévention de la maladie par des moyens immunologiques variés, dont certains commencent à être testés chez l'homme dans des essais de prévention ou de traitement à un stade très précoce de la maladie. Sans détailler les dizaines de stratégies évaluées chez la souris NOD, et dont beaucoup sont inenvisageables chez l'homme, nous en citerons deux qui pourraient avoir un impact clinique très important dans le diabète humain.

Chez la souris NOD, certains traitements, par exemple l'injection d'anticorps anti-CD3, ne permettent pas uniquement de pré-

venir le diabète mais sont également efficaces pour rendre le diabète réversible alors qu'il a déjà émergé cliniquement (Chatenoud et al, 1994). Quelqu'en soit le mécanisme, ceci suggère que l'on a tort de considérer qu'il est trop tard pour intervenir lorsque le diabète est déjà installé ou, en d'autres termes, que la masse β -insulaire du diabétique est quasi nulle à ce moment.

Par ailleurs, le diabète de la souris NOD peut-être prévenu par l'administration prophylactique d'insuline sous une forme biologiquement active (Atkinson et al, 1990 ; Saï et al, 1996, Chaillous et al, 1996). De plus, cette prévention du diabète de la souris NOD est aussi obtenue par l'administration orale d'insuline sous une forme non biologiquement active puisque dégradée en peptides dans le tube digestif, selon le concept de « tolérance orale » (Zhang et al, 1991 ; Saï et Rivereau, 1996). Cette tolérance obtenue après gavage par de l'insuline orienterait la réponse immunitaire vers la production de lymphokines Th2 protectrices et transformerait l'insulite agressive en insulite protectrice (Muir et al, 1995).

LES MODÈLES DE DIABÈTE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES

Néanmoins, en complément de ces irremplaçables rongeurs diabétiques, des modèles de diabètes de type 1 atteignant spontanément des animaux de plus grande taille, de durée de vie plus longue, c'est-à-dire finalement plus proches de l'homme, seraient dans certains cas très utiles en tant qu'intermédiaires entre ce qui peut être révélé chez un rongeur et une application éventuelle chez le diabétique ou le pré-diabétique humain.

A cet égard, il existe bien un modèle de diabète chez un singe (*Macaca nigra*) qui représente sûrement l'animal le plus proche de l'homme. Toutefois, ce diabète simien (Howard et Fang, 1984) ne correspond pas

au diabète insulino-dépendant de type 1 humain. On peut bien y détecter des auto-anticorps sériques anti-cellules d'îlots (ICA), mais ceux-ci semblent apparaître secondairement à une altération fonctionnelle et histologique des îlots, caractérisée par une amyloïdose mais sans insulite. Ce diabète simien pourrait donc plutôt ressembler d'une part à certains diabètes de type 2 (non insulino-dépendants) chez l'homme âgé (Johnson et Stevens, 1973), d'autre part à l'amyloïdose fréquente chez le chat diabétique (Yano et al, 1981). La présence d'ICA dans de telles situations pourrait résulter d'une réponse immunitaire secondaire à la détérioration progressive des cellules d'îlots et à la libération consécutive d'antigènes. De toute façon, les considérations éthiques et la réglementation sur l'expérimentation animale, font que le singe ne peut apporter un modèle de diabète permettant de couvrir l'ensemble des voies de recherche de la diabétologie.

Des carnivores domestiques, le chien surtout, sont aussi atteints de diabète et pourraient, par leur taille et leurs caractéristiques physiologiques, offrir de bons modèles de diabète à la pathologie humaine. Certes, le chien diabétique ne remplacera sans doute jamais la souris NOD, mais il pourrait, dans certains cas, constituer un intermédiaire très utile entre l'expérimentation chez la souris et le passage à une application chez l'homme. Par exemple, un certain nombre d'effets secondaires liés à l'administration chronique de thérapeutiques préventives du diabète ne peuvent être appréciés chez la souris NOD, ne serait-ce qu'à cause de sa durée de vie disproportionnée avec celle de l'homme.

Mais, il faudra d'abord comprendre les différentes formes de diabète des carnivores avant qu'elles ne puissent être utilisées comme modèles de la pathologie humaine. Or, la classification des diabètes du chien reste floue. Seules des études, pour l'instant quasi inexistantes, épidémiologiques, génétiques et métaboliques complètes pour-

ront éclairer cette classification. Ce qui est sûr c'est que, chez le chien, les diabètes présentant une phase initiale de non insulino-dépendance et évoluant secondairement vers l'insulino-dépendance sont beaucoup plus fréquents que les diabètes typiquement insulino-dépendants (de type 1) ou non insulino-dépendant (de type 2).

Néanmoins, même s'il est très minoritaire, le diabète insulino-dépendant auto-immune (de type 1) existe chez le chien et même chez le chat. La preuve de l'existence de ce type de diabète repose tout d'abord sur la description d'une insulite chez quelques chiens et chats diabétiques (Gepts et Toussaint, 1967 ; Minkus et al, 1991 ; Saï, 1985). La présence d'ICA chez certains chiens diabétiques a été suggérée à plusieurs reprises (Haines et Penhale, 1985 ; Henig et Dawe, 1992) même si certains anticorps initialement pris pour des ICA pourraient n'être que des anticorps anti-insuline. Plus encore, une immunité cellulaire anti-cellules β a été révélée chez certains chiens diabétiques insulino-péniques, grâce à un test *in vitro* d'agression des cellules β par des lymphocytes circulants (Saï et al, 1984). Par ailleurs, bien que cela n'ait pas été étudié, la pathogénie pourrait être auto-immune chez les carnivores où le diabète est associé, au sein d'une polyendocrinopathie, à d'autres affections auto-immunes endocriniennes (thyroïdite, maladie d'Addison, anémie de Biermer, etc) (Elgenmann et Peterson, 1984 ; Elgenmann et al, 1984). Chez les carnivores, ce syndrome est très semblable au diabète humain de type 1b. Il ne doit pas être bien sûr confondu avec les diabètes qui, chez les carnivores, sont secondaires à d'autres maladies endocriniennes (Elgenmann et Van Der Haage, 1981 ; Peterson et al, 1981 et 1984 ; pour revue : Saï et Martignat, 1994). Les examens cliniques et immunologiques permettent de différencier ces deux situations.

Par ailleurs, l'émergence du diabète insulino-dépendant de type 1 n'est pas toujours

brutale : chez l'homme, certains diabétiques non insulino-dépendants présentent des stigmates d'autoimmunité et évoluent vers l'insulino-dépendance. Ce diabète est appelé « diabète de type 1 d'évolution lente », et l'agression auto-immune des cellules β y est donc moins rapide que dans le diabète de type 1 classique. Chez le chien, les formes de diabète les plus fréquentes correspondent à des situations initialement non insulino-dépendantes et évoluant secondairement vers l'insulino-dépendance. Il conviendrait d'explorer l'hypothèse selon laquelle ces situations pourraient, selon les cas, résulter de deux mécanismes différents. Dans la majorité des cas, l'évolution secondaire d'un diabète non insulino-dépendant vers l'insulino-dépendance pourrait résulter d'un épuisement de cellules β du fait de l'insulinorésistance. Mais, dans un petit nombre de cas de diabètes canins (à rechercher surtout chez des sujets relativement jeunes et ayant présenté un diabète non insulino-dépendant sans obésité), il n'est pas exclu que l'évolution secondaire vers une insulino-dépendance soit comparable à un diabète de type 1 d'évolution lente.

Ces hypothèses concernant les diabètes du chien ne pourront être confirmées qu'en développant des études métaboliques, épidémiologiques, immunologiques, et génétiques. Au plan génétique par exemple, le diabète du chien est pratiquement inconnu. Certaines lignées ou races (caniche, teckel, pinscher, berger allemand, etc) semblent présenter une plus grande fréquence de diabète. Une forme familiale de diabète a été objectivée chez des Golden Retrievers. Une influence génétique claire n'est toutefois établie que dans la race Keeshond, où le diabète est lié, selon un mode autosomal récessif, au génotype *dm* (Kramer et al, 1980). Toutefois, dans cette race, le diabète n'est pas lié à une autoimmunité, mais à une hypoplasie des îlots de Langerhans. Une telle hypoplasie insulaire révélée chez des animaux âgés de moins de 6 mois est rare mais décrite chez le chien (Atkins et al,

1988). Il est clair qu'il faut développer des études génétiques pour, par exemple, rechercher l'association du diabète du chien avec le système DLA (*dog lymphocyte antigen*, le complexe majeur d'histocompatibilité du chien). Ce n'est qu'en précisant la classification des diabètes spontanés des carnivores que ceux-ci pourraient réellement constituer des modèles utiles de la pathologie humaine.

Même si l'on y parvient, les considérations éthiques et sociologiques liées aux animaux de compagnie, et les conditions d'exercice de la médecine vétérinaire, constituent de toutes façons des limites à l'utilisation du diabète du chien comme modèle du diabète humain.

Pour certains types d'essais, les carnivores domestiques spontanément diabétiques ou pré-diabétiques seront moins faciles à étudier que l'homme. En revanche, après avoir précisé la classification des diabètes, la possibilité de sélectionner une lignée de chiens diabétiques est une démarche lourde mais qui mériterait d'être envisagée.

RÉFÉRENCES

- Atkins CE, Lecompte PM, Chin HP et al (1988) Morphologic and immunocytochemical study of young dogs with diabetes mellitus associated with pancreatic islet hypoplasia. *Am J Vet Res* 49, 1577-1581
- Atkinson MA, Maclaren NK, Luchetta R (1990) Insulinitis and diabetes in NOD mice reduced by prophylactic insulin therapy. *Diabetes* 39, 933-937
- Bendelac A, Carnaud C, Boitard C, Bach JF (1987) Syngeneic transfer of autoimmune diabetes from diabetic NOD mice to healthy neonates. Requirement for both L3T4 + and Lyt-2 + T cells. *J Exp Med* 166, 823-832
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D (1974) Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*, 1279-1283
- Chaillous L, Darquy S, Maugendre S, Rivereau AS, Reach G, Sai P (1996) Xenografts of porcine islets immunoprotected in hollow fibres reduce the incidence of diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 39, 523-529
- Chappel CI, Chappel WR (1983) The discovery and development of the BB rat colony: an animal model of spontaneous diabetes mellitus. *Metabolism* 32, 8-10
- Chatenoud L, Thervet E, Primo J, Bach JF (1994) Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in non-obese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 123-127
- Elgenmann JE, van der Haage AJ (1981) Progestagen-induced and spontaneous canine acromegaly due to reversible growth hormone overproduction clinical picture and pathogenesis. *J Am Anim Hosp Assoc* 17, 813-822
- Elgenmann JE, Peterson ME (1984) Diabetes mellitus associated with other endocrine disorders. *Vet Clin North Am*, 837-858
- Elgenmann JE, van der Haage MH, Rijnberk A (1984) Polyendocrinopathy in two canine littermates. *J Am Anim Hosp Assoc* 20, 143-148
- Gepts W (1965) Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 14, 619-633
- Gepts W, Toussaint D (1967) Spontaneous diabetes in dogs and cats *Diabetologia* 3, 249-265
- Haines DM, Penhale WJ (1985) Autoantibodies to pancreatic islet cells in canine diabetes mellitus. *Vet Immunol Immunopathol* 8, 149-156
- Harada M, Makino S (1984) Promotion of spontaneous diabetes in non-obese diabetes-prone mice by cyclophosphamide. *Diabetologia* 27, 604-606
- Henig M, Dawe DL (1992) A qualitative assay for beta cell antibodies. Preliminary results in dogs with diabetes mellitus. *Vet Immunol Immunopathol* 32, 195-203
- Howard CF, Fang TY (1984) Islet cell cytoplasmic antibodies in *Macaca nigra*. *Diabetes* 33, 219-223
- Johnson KH, Stevens JB (1973) Islet amyloidosis in diabetes. *Diabetes* 22, 81-90
- Kramer J, Nottigham S, Robinette J et al (1980) Inherited early onset insulin-requiring diabetes mellitus of Keeshond dogs. *Diabetes* 29, 558-565
- Makino S, Kunitomo K, Muraoka Y, Katagiri K, Tochino Y (1980) Breeding of a non-obese diabetic strain of mice. *Exp Anim* 29, 1-13
- Miller BJ, Appel MC, O'Neil JJ, Wickler LS (1988) Both the Lyt-2 + and L3T4 + T cell subsets are required for the transfer of diabetes in non-obese diabetic mice. *J Immunol* 140, 52-58
- Minkus G, Reusch C, Hanichen T et al (1991) Pathological changes of the endocrine pancreas in dogs and cats in comparison with clinical data. *Tierarztl Prax* 19, 282-289
- Muir A, Peck A, Claresalzer M, Song YH, Cornelius J, Luchetta R, Krischer J, Maclaren N (1995) Insulin immunization of non-obese diabetic mice induces a protective insulinitis characterized by diminished intra-islet interferon-gamma transcription. *J Clin Invest* 95, 628-634

- Peterson ME, Nesbitt GH, Schaer M (1981) Diagnosis and management of concurrent diabetes mellitus and hyperadrenocorticism in thirty dogs. *J Am Vet Med Assoc* 78, 66-69
- Peterson ME, Altszuler N, Nichols CE (1984) Decreased insulin sensitivity and glucose tolerance in spontaneous canine hyperadrenocorticism. *Res Vet Sci* 36, 177-182
- Saï P, Debray-Sachs M, Jondet A, Gepts W, Assan R (1984) Anti-beta-cell immunity in insulinopenic diabetic dogs. *Diabetes* 33, 135-140
- Saï P (1985) Lésions des îlots de Langerhans chez les carnivores diabétiques. Approche physiopathologique et perspectives thérapeutiques. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 20, 367-369
- Saï P, Martignat L (1994) Etio-pathogénies des diabètes sucrés chez l'homme et chez le chien. *Point Vet* 26, 193-207
- Saï P, Damgé C, Rivereau AS, Hoeltzel A, Gouin E (1996) Prophylactic oral administration of metabolically active insulin entrapped into isobutylcyanoacrylate nanocapsules reduces the incidence of diabetes in NOD mice. *J Autoimmun* 9, 713-721
- Saï P, Rivereau AS (1996) Prevention of diabetes in the *non-obese diabetic* mouse by oral immunological treatments : comparative efficiency of human insulin and two bacterial antigens, lipopolysaccharide from *Escherichia coli* and glycoprotein extract from *Klebsiella pneumoniae*. *Diabetes & Metab* 22, 341-348
- Yano BL, Hayden DW, Johnson KH (1981) Feline insular amyloid association with diabetes mellitus. *Vet Pathol* 18, 621-627
- Yasunami R, Bach JF (1988) Anti-suppressor effect of cyclophosphamide on the development of spontaneous diabetes in NOD mice. *Eur J Immunol* 18, 481-484
- Zhang ZJ, Davidson L, Eisenbarth G, Weiner HL (1991) Suppression of diabetes in non-obese diabetic mice by oral administration of porcine insulin. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 10252-10256