

LE RÔLE DES VIRUS DANS LA PATHOGÉNIE DU DIABÈTE DE TYPE 1

F. BRILLOT (1), V. GEENEN (2)

RÉSUMÉ : Le rôle précis des infections virales dans la physiopathologie du diabète de type 1 est toujours le sujet d'une importante discussion. Le virus Coxsackie B4 (CVB4) est l'agent le plus incriminé sur la base de différentes études épidémiologiques. Les mécanismes pathogènes mis en jeu impliquent l'hypothèse d'un mimétisme moléculaire entre séquences virales et auto-antigènes des cellules β pancréatiques, mais surtout une infection persistante par CVB4 des îlots de Langerhans suivie d'une libération des antigènes β et une activation de voisinage («bystander effect») de cellules T auto-réactives. La démonstration que des antigènes spécifiques de tissus périphériques sont exprimés dans le thymus a ouvert une nouvelle voie de recherche. Nous avons montré que CVB4 est capable d'infecter de manière persistante et productive des cellules épithéliales thymiques humaines, ainsi que des lobes thymiques humains fœtaux en cultures organotypiques. Cette infection provoque une dysfonction thymique importante caractérisée par une délétion sévère de thymocytes (lymphocytes T thymiques) et une augmentation de l'expression de protéines de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH-I) exprimées par les cellules épithéliales et les cellules T thymiques. Cette dysfonction thymique pourrait être responsable d'une diminution de la fonction tolérogène centrale vis-à-vis des cellules β et de l'activité anti-CVB4 des cellules T CD8. Cette altération de la fonction du thymus agirait en association avec l'effet «bystander» périphérique pour conduire à la destruction des cellules β et au développement du diabète de type 1.

MOTS-CLÉS : *Coxsackie virus B4 - Thymus - Diabète de type 1 - Virus*

INTRODUCTION

Les déterminants génétiques majeurs du développement du processus auto-immun diabétogène sont les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II localisés sur le chromosome 6 (locus IDDM1) qui compte pour \pm 50% du risque. Interviennent aussi un certain nombre de gènes à l'extérieur du CMH, comme le nombre variable de répétitions en tandem (VNTR) situées en amont des gènes de l'insuline (INS) et de l'IGF-2 (IGF2) (locus IDDM2) sur le chromosome 11 (1). Cependant, seuls 10 % des individus porteurs d'une prédisposition génétique développeront un diabète de type 1, et plus de 50 % des jumeaux homozygotes sont discordants pour la maladie, en fonction de leur âge au moment du diagnostic (2). Ces données indiquent clairement que l'intervention de facteurs environnementaux est requise dans la pathogénie du diabète de type 1.

ROLE OF VIRAL INFECTIONS IN THE PATHOGENESIS OF TYPE 1 DIABETES

SUMMARY : The precise role of viral infections in the pathogenesis of type 1 diabetes is still the subject of an important discussion. Coxsackievirus B4 (CVB4) is the virus the most implicated by a series of epidemiological studies. Pathogenic mechanisms underlying such a relationship implicate a molecular mimicry between CVB4 sequences and β -cell autoantigens, but mainly a persistent CVB4 infection of pancreatic β cells followed by a release of sequestered β antigens and a «bystander» activation of autoreactive T cells. The demonstration of intrathymic expression of antigens specific of peripheral tissues has opened a novel research perspective. We have shown that CVB4 is able to infect in a persistent and productive manner human thymic epithelial cell cultures and human fetal thymic lobes in organotypic cultures. This infection induces an important thymic dysfunction characterized by a severe depletion of thymocytes (thymic T cells) and an up-regulated expression by thymic epithelial and T cells of class I proteins encoded by the major histocompatibility complex (MHC-I). Such thymic dysfunction might be responsible for a decrease of β -cell central self-tolerance and anti-CVB4 cytotoxic CD8 T-cell activity. CVB4-induced thymic dysfunction would contribute in close association with the peripheral «bystander» effect to the destruction of insulin-secreting islet β cells and to the development of type 1 diabetes.

KEYWORDS : *Coxsackievirus B4 - Thymus - Type 1 diabetes - Virus*

L'argumentation expérimentale en faveur de cette influence exogène est surtout issue d'études épidémiologiques et il n'existe, à l'heure actuelle, aucune évidence directe soutenant un rôle des agents extérieurs comme initiateurs ou promoteurs de la destruction auto-immune des cellules β pancréatiques sécrétrices d'insuline. Les analyses épidémiologiques ont ainsi documenté des différences saisonnières de l'incidence de la maladie, la plupart des cas apparaissant au cours des mois d'hiver tant dans l'hémisphère Nord qu'en Australie (3). L'incidence du diabète de type 1 dans l'ensemble des zones du globe a également augmenté d'environ 5 % au cours des dernières décennies, soit à un rythme trop élevé pour résulter de modifications au niveau des gènes de susceptibilité à la maladie. L'hygiène accrue et la diminution significative de l'allaitement maternel (et donc de la protection immunologique passive d'origine maternelle) dans notre société sont autant de mécanismes évoqués pour expliquer l'incidence accrue du diabète de type 1 et d'autres maladies auto-immunes, ainsi que des allergies (4,5).

La localisation géographique est un autre argument si l'on compare, en effet, l'incidence

(1) Docteur en Sciences, Collaborateur FNRS
(2) Professeur, Directeur de Recherches FNRS, Université de Liège, Chef de Clinique, Service d'Endocrinologie, CHU de Liège

annuelle du diabète de type 1 dans les pays de l'Europe nordique comme la Finlande avec 36 à 40 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants, et celle de pays comme la Chine et le Venezuela où cette incidence n'est que de 0,1 cas par an pour 100 000 habitants. En Europe, l'incidence du diabète de type 1 diminue selon un gradient nord-sud (à l'exception notable de la Sardaigne où peut se poser l'hypothèse d'un enrichissement progressif en gènes de susceptibilité au sein de cet isolat). En raison de l'homogénéité relative des populations européennes, un tel gradient ne peut résulter des seules variations génétiques. Les études de migrations soutiennent aussi l'influence cruciale de l'environnement géographique. Les personnes migrant de zones à faible incidence présentent peu à peu le même risque que la population du pays d'accueil. Par exemple, l'incidence annuelle du diabète de type 1 chez les enfants pakistanais vivant en Angleterre est la même que celle des enfants autochtones, soit 11,7 pour 100 000, alors qu'elle n'est que de 0,1 cas pour 100 000 au Pakistan. Les infections virales, les composants alimentaires, la production de la vitamine D à l'exposition solaire, et même le stress figurent parmi les principaux candidats à l'origine de cette influence environnementale. Cette revue concernera surtout l'impact des infections entérovirales sur la pathogénie du diabète de type 1.

LES ENTÉROVIRUS ET LE DIABÈTE DE TYPE 1

Plusieurs études ont associé la survenue d'une infection virale et le développement secondaire d'un diabète de type 1. Les agents viraux incriminés sont les entérovirus, le virus de la rubéole, le virus des oreillons, le cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr et celui de la varicelle (9,10). Toutefois, la majorité des analyses épidémiologiques ont suggéré que les infections par le virus Coxsackie (CVB) et par d'autres entérovirus sont des événements fréquents et les plus grands suspects pour une étiologie virale du diabète de type 1 (11). Le virus CVB4 est le sérotype le plus commun détecté chez les individus pré-diabétiques et diabétiques. La souche E2 du CVB4 a été isolée du pancréas d'un enfant décédé d'une acidocétose sévère; elle a ensuite été passée à plusieurs reprises dans des cultures de cellules β murines et son inoculation à des souris susceptibles a provoqué l'apparition d'un diabète (12). Les premières études montrant que des diabétiques de type 1 sont plus souvent séropositifs pour CVB4 que des sujets contrôles remontent à 1969 (13,14). Une série d'études épidémiologiques ont ensuite confirmé qu'une

fréquence accrue d'IgM anti-CVB était observée chez des enfants pour lesquels le diagnostic de diabète de type 1 avait été récemment posé (revue en 15). Par après, Clements et coll. ont utilisé la détection par RT-PCR d'éléments du génome de CVB pour montrer que 64% d'enfants diabétiques de type 1 étaient positifs, alors que la détection de CVB n'était positive que chez 4% d'enfants normaux (16). Dans une autre étude, le génome de CVB a été détecté par RT-PCR dans 5 cas sur 12 (42%) de diabétiques de type 1 récents, et dans 1 cas sur 12 (8%) au cours du développement de la maladie. Par comparaison, la détection du génome CVB s'est révélée négative dans tous les prélèvements sanguins de 12 diabétiques de type 2 et de 15 adultes sains (17). La souche E2 de CVB4 est capable d'infecter les cellules β humaines de manière persistante (18), tandis qu'une nouvelle souche variante de CVB4 isolée, VD2921, provoque une infection persistante de ces cellules et perturbe tant leur synthèse de proinsuline que leur sécrétion d'insuline (19). Les génomes des souches E2 et VD2991 ont été détectés par RT-PCR dans les cellules mononucléées sanguines (PBMCs) d'une majorité d'enfants diabétiques de type 1 au début de leur maladie. La même étude a montré que la plupart des rares contrôles positifs étaient, en fait, infectés par une souche phylogénétiquement différente de la souche CVB4 identifiée chez les patients diabétiques. Ce résultat confirme l'existence de souches apparentées de CVB4 dotées de propriétés diabéto-gènes différentes.

MÉCANISMES ÉVOQUÉS POUR LES PROPRIÉTÉS DIABÉTOGÈNES DES CVB

Les CVBs ont été impliqués dans la pathogénie du diabète de type 1 et leur inoculation est capable de provoquer l'apparition d'un diabète chez certaines souches de souris dites «susceptibles». Dans ces modèles animaux, tant l'infection virale directe que la dysrégulation immunitaire qui en résulte semblent intervenir dans le développement du diabète.

MIMÉTISME MOLÉCULAIRE

Il existe une homologie significative entre la séquence en acides aminés 28-50 de la protéine P2-C, appartenant au complexe répliatif de CVB4, et la séquence 250-273 de l'isoforme de 65 kD de la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD65), un auto-antigène important du diabète de type 1 (21). Cette homologie a longtemps soutenu l'hypothèse qu'une réponse immunitaire dirigée contre le CVB4 pourrait

endommager les cellules β selon le mimétisme moléculaire des cibles antigéniques. Cette hypothèse est cependant affaiblie par le fait que l'infection par CVB ne produit pas d'accélération du diabète chez des souris possédant un CMH susceptible (22). De plus, aucun des anticorps anti-GAD65 produits par des cellules B isolées d'un patient diabétique de type 1 récent ne présente de réaction croisée avec la protéine P2-C (23). Néanmoins, il est prématuré d'abandonner l'hypothèse de mimétisme moléculaire depuis qu'une étude très récente a montré qu'un épitope viral «mimant» un antigène β est capable d'accélérer, mais non de déclencher, la réponse auto-immune diabétogène (24).

ACTIVATION «BYSTANDER» OU AUXILIAIRE

Le développement rapide d'un diabète suite à l'infection par CVB de souris transgéniques pour l'expression d'un récepteur (TCR) spécifique d'un antigène β a permis de proposer l'hypothèse d'une activation «bystander» par CVB de cellules T auto-réactives contre les antigènes des cellules β . Selon ce modèle, l'infection par CVB provoquerait l'apparition du diabète suite à une infection directe des cellules β conduisant à une inflammation locale, puis à la libération d'antigènes β capables de stimuler des cellules T auto-réactives au repos (22). Ces dernières accélèrent ensuite aux cibles insulaires sans être toutefois directement impliquées ni dans la lésion virale initiale, ni dans la réactivité aux antigènes viraux (25). Les mêmes auteurs ont aussi montré que la réponse immunitaire innée précoce vis-à-vis de CVB4 est responsable du degré de dommage à la cellule β et de l'apparition d'un diabète secondaire. En effet, une inhibition de la production d'interférons par les cellules β peut être réalisée via la surexpression ciblée du suppresseur de la communication par cytokines de type 1 («suppressor of cytokine signaling 1» ou SOCS-1). Ces conditions expérimentales conduisent à une nette augmentation de la susceptibilité des cellules β à l'infection par CVB4 et à la réponse secondaire des cellules NK. Les cellules β insulaires sont ainsi endommagées par l'apoptose survenant au cours de la réponse innée initiale, et non par les réponses T ou B adaptatives (26).

CONTROVERSES ACTUELLES

Il y a quelque temps, des auteurs ont passé au crible les résultats de 26 études publiées entre 1969 et 1995 dans lesquelles une infection par CVB avait été diagnostiquée par analyses sérologiques chez des patients diabétiques et chez

des individus contrôles. La conclusion globale de cette revue était que les résultats publiés sont inconsistants et ne fournissent aucun élément de preuve décisive en faveur ou contre une association entre une infection CVB et le développement secondaire d'un diabète de type 1 (27). Par ailleurs, deux autres études n'ont pas permis de détecter une infection virale au sein du tissu pancréatique provenant de diabétiques de type 1 décédés dans des circonstances aiguës (28,29). Dans un remarquable article, Gale a également montré comment les épidémies virales de l'enfance ne peuvent en rien expliquer l'augmentation de l'incidence du diabète de type 1 observée au cours du 20^e siècle (30).

La discussion reste très ouverte quant à l'existence d'une réelle association entre les infections par entérovirus et l'apparition d'un diabète de type 1. Comme nous l'avons évoqué plus haut, une telle association est appuyée par les études récentes recourant à la détection de génomes viraux à l'aide de sondes très spécifiques, évitant ainsi le manque de spécificité et les réactions croisées des analyses sérologiques (16,20). On retiendra aussi que des concentrations élevées d'interféron-alpha, un marqueur indirect d'infection virale, ont été mesurées chez 70 % de 56 nouveaux patients diabétiques de type 1, en même temps que la détection de transcrits de CVB4 chez 50 % de ces derniers (31). La question d'une fréquence plus élevée d'infections entérovirales chez les enfants dans des pays présentant une haute incidence annuelle de diabète de type 1 (comme les pays scandinaves) mérite d'être approfondie si l'on veut envisager l'opportunité d'une vaccination anti-CVB comme une méthode de prévention du diabète dans ces pays.

NOUVELLES IDÉES POUR LA RECHERCHE DE DEMAIN : LA DYSFONCTION DU THYMUS INDUITE PAR CVB

Tandis que les déterminants de la susceptibilité génétique (et de la résistance) au diabète de type 1 sont de plus en plus déchiffrés, peut-être la question pertinente à poser quant à l'impact de l'environnement sur la pathogénie du diabète de type 1 serait-elle de comprendre son implication réelle dans le développement de l'auto-immunité sélective des cellules β . Dans cette perspective, le thymus joue un rôle essentiel dans l'établissement de la tolérance immunitaire centrale des fonctions neuroendocrines (32-34). De plus en plus d'arguments s'accumulent aussi en faveur d'une dysfonction de la tolérance thymique dans le développement d'endocrinopathies auto-

immunes comme le diabète de type 1 (35-38). Depuis cinq ans, nous collaborons avec le Pr. Didier Hober (Service de Virologie, CHRU de Lille) pour explorer l'hypothèse que CVB4 pourrait infecter le thymus et provoquer une dysfonction sévère des trois propriétés fondamentales de cet organe : thymopoïèse (génération des cellules T), établissement de la tolérance centrale, et génération de lymphocytes T régulateurs (Treg) spécifiques d'antigènes du soi. Nous avons ainsi démontré une réplication persistante de la souche E2 «diabétogène» et de la souche JBV prototype de CVB4 dans des cultures primaires d'épithélium thymique humain (39). La persistance de l'infection CVB4 était associée à une prolifération accrue des cellules épithéliales thymiques, de même qu'à une sécrétion d'IL-6, de LIF (Leukemia Inhibitory Factor) et de GM-CSF. La réplication de CVB4 n'était pas restreinte à la souche E2 et ne dépendait pas du terrain génétique de l'individu d'où provenaient les échantillons de thymus. Cependant, la sécrétion de cytokines des cultures infectées avec la souche E2 était plus élevée que dans celles infectées avec la souche JBV (39). Par la suite, F. Brilot et coll. ont montré que la souche E2 était capable d'infecter des cultures organotypiques de thymus fœtal humain (FTOC) (40). Le génome viral de CVB a été mis en évidence dans les FTOC et dans des populations de cellules T thymiques. Les cellules T CD4+CD8+ sont les cibles principales de l'infection par CVB4 qui provoque leur déplétion sévère sans aucun signe d'apoptose. De plus, la réplication de CVB4 E2 dans les FTOC provoque une surexpression des molécules du CMH de classe I par les cellules T et les cellules épithéliales thymiques. Cette surexpression ne résulte pas d'une action d'interféron-alpha et est directement corrélée à différents marqueurs de l'infection par CVB4 comme la quantification des transcrits de CVB4, et la quantité des particules virales libérées dans les FTOC (40). Ces résultats concordent avec des études antérieures ayant montré que CVB4 peut atteindre le thymus dans le décours d'une infection systémique, résultant en une augmentation importante de cellules T thymiques CD4-CD8-, ce qui indiquait qu'une infection CVB4 pouvait être associée à une maturation T anormale *in vivo* (41). La déplétion massive de cellules T thymiques (dont les Treg) a été reliée à l'apparition de phénomènes auto-immuns chez la souris (42). D'autres études sont actuellement poursuivies par le groupe de travail «Infection CVB4 et développement du diabète de type 1 dépendant du thymus» au sein du programme FP6 Euro-Thymaïde.

UN MODÈLE ASSOCIANT DYSFONCTION THYMIQUE INDUITE PAR CVB ET ACTIVATION T «BYSTANDER» PÉRIPHÉRIQUE (FIG. 1)

En plus des recommandations pour une meilleure standardisation des diagnostics d'infections CVB par sérologie et RT-PCR (43), il nous paraît urgent aussi de mieux comprendre la nature des interactions entre le virus et le système immunitaire de l'hôte. Quelles sont les idées actuelles sur cette question ? Le virus CVB4 est capable d'infecter de manière persistante les cellules α et β des îlots de Langerhans pancréatiques, et d'y provoquer de sérieux troubles fonctionnels, sinon la mort par picnose nucléaire (44). Le rôle de CVB4 dans la précipitation du diabète de type 1 semble résulter de ce dommage cellulaire, aboutissant à la libération et à la présentation d'antigènes β (45). Des cellules T auto-réactives peuvent être secondairement activées et, via une activation «bystander», peuvent initier le processus auto-immun diabétogène. De plus en plus d'arguments plaident pour l'origine thymique de ces cellules T auto-réactives, suite à une défaillance des mécanismes tolérogènes centraux. Cette dysfonction thymique serait responsable de l'enrichissement progressif du répertoire T périphérique par des clones «interdits» de cellules T réactives au soi (46). Cette dysfonction thymique serait également impliquée dans la génération défectueuse de Treg qui inactivent en conditions normales les cellules T réactives au soi qui ont échappé au filtre thymique. Nos travaux ont montré qu'une dysfonction sévère du thymus résulte de l'infection *in vitro* de FTOC humaines. L'infection

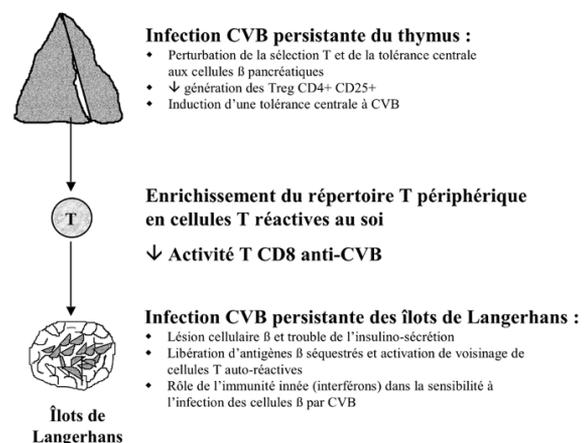


Fig. 1 : Plusieurs niveaux de dysrégulation immunitaire résultant d'une infection persistante par CVB du thymus et des îlots de Langerhans pancréatiques peuvent contribuer à la pathogénie de certains cas de diabète de type 1 (Treg = cellule T régulatrice ; CVB = virus Coxsackie B). Voir l'explication complète du modèle dans le texte à la section correspondante.

CVB4 persistante concerne les compartiments épithélial et lymphoïde de cet organe. Sur le plan fonctionnel, l'infection du thymus par CVB4 provoque une sécrétion des cytokines synthétisées *in situ* par les cellules épithéliales thymiques, une déplétion marquée des cellules T CD4+CD8+, et une surexpression des molécules du CMH de classe I par les cellules T CD4+CD8+ et les cellules épithéliales thymiques. Ainsi, une infection chronique du thymus par CVB4 serait capable de mener à une dysrégulation immunitaire importante associant:

1. Une perturbation significative de la tolérance thymique centrale résultant d'une diminution de la présentation d'antigènes du soi dans le thymus et de la génération de Treg, ainsi que :

2. L'induction d'une tolérance centrale vis-à-vis de CVB4 et une réduction secondaire de la réponse T CD8 dirigée contre ce virus, de telle sorte qu'une exposition ultérieure à ce virus pourrait aboutir à un dommage plus important des cibles cellulaires périphériques de CVB4.

Si les recherches futures confirment ces hypothèses rationnelles (47), une vaccination anti-CVB4 pourra alors être prise en compte dans une stratégie de prévention du diabète de type 1, en particulier dans les pays à haute incidence d'infections entérovirales.

REMERCIEMENTS

Fabienne Brilot a travaillé avec l'aide d'un mandat du FRIA (1998-2002), avec l'aide d'un mandat de la Fondation Léon Fredericq (2002-2003), puis en tant que collaboratrice du FNRS. Pour sa thèse de doctorat en Sciences, elle a reçu en 2004 la médaille de l'Académie Royale de Médecine de Belgique. Elle effectue actuellement un séjour de recherche post-doctorale dans le Département de Microbiologie-Immunologie à l'Université Rockefeller (New York). Ces études ont été soutenues par la Fondation Léon Fredericq, la Fondation Vaugrenier pour la recherche en tolérance (Genève), par l'Association Européenne pour l'Etude du Diabète (EASD, Düsseldorf), et la Commission européenne (Projet Intégré FP6 Euro-Thymaïde LSHB-CT-2003-503410).

RÉFÉRENCES

- Bennett ST, Todd JA.— Human type 1 diabetes and the insulin gene: principles of mapping polygenes. *Annu Rev Genet*, 1996, **30**, 343-370.
- Lo SS, Tun RY, Hawa M, et al.— Studies of diabetic twins. *Diabetes Metab Rev*, 1991, **7**, 223-238.
- Green A, Patterson CC.— Trends in the incidence of childhood-onset diabetes in Europe 1989-98. *Diabetologia*, 2001, **44**, B3-8.
- Zinkernagel RM.— Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases. *N Engl J Med*, 2001, **345**, 1331-1335.
- Bach JF.— The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*, 2002, **347**, 911-920.
- Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, et al.— Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care*, 2000, **23**, 1516-1526.
- Bodansky HJ, Staines A, Stephenson C, et al.— Evidence for an environmental effect in the aetiology of insulin-dependent diabetes in a trans migratory population. *Br Med J*, 1992, **304**, 1020-1022.
- Serrano-Rios M, Goday A, Martinez LT.— Migrant populations and the incidence of type 1 diabetes mellitus: an overview of the literature with a focus on the Spanish-heritage countries in Latin America. *Diabetes Metab Rev*, 1999, **15**, 113-132.
- Jun HS, Yoon JW.— The role of viruses in Type 1 diabetes: two distinct cellular and molecular mechanisms of virus-induced diabetes in animals. *Diabetologia*, 2001, **44**, 271-285.
- Jaeckel E, Manns M, Von Herrath M.— Viruses and diabetes. *Ann NY Acad Sci*, 2002, **958**, 7-25.
- Hyöti H, Hiltunen M, Knip M, et al.— A prospective study of the role of coxsackie B and enterovirus infections in the pathogenesis of IDDM. Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. *Diabetes*, 1995, **44**, 652-667.
- Yoon JW, Austin M, Onodera T, et al.— Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med*, 1979, **300**, 1173-1179.
- Gamble DR, Kinsley ML, Fitzgerald MG, et al.— Viral antibodies in diabetes mellitus. *Br Med J*, 1969, **3**, 627-630.
- Gamble DR, Taylor KW.— Coxsackie B virus and diabetes. *Br Med J*, 1973, **1**, 289-290.
- Yoon JW, Kominek H.— Role of Coxsackie B viruses in the pathogenesis of diabetes mellitus. In: Friedman H, ed. *Microorganisms and Autoimmune Diseases*. Plenum Press, New York 1996; 129-158.
- Clements GB, Galbraith DN, Taylor KW.— Coxsackie B virus infection and onset of childhood diabetes. *Lancet*, 1995, **346**, 221-223.
- Andreoletti L, Hober D, Hober-Vandenberghe C et al.— Detection of coxsackie B virus RNA sequences in whole blood samples from adult patients at the onset of type 1 diabetes mellitus. *J Med Virol*, 1997, **52**, 121-127.
- Chehadeh W, Kerr-Conte J, Pattou F et al.— Persistent infection of human pancreatic islets by coxsackievirus B is associated with alpha-interferon synthesis in beta cells. *J Virol*, 2000, **74**, 10153-10164.
- Yin H, Berg AK, Westman J, et al.— Complete nucleotide sequence of a Coxsackievirus B4 strain capable of establishing persistent infection in human pancreatic islet cells: Effects on insulin release, proinsulin synthesis, and cell morphology. *J Med Virol*, 2002, **68**, 544-547.

20. Yin H, Berg AK, Tuvemo T, et al.— Enterovirus RNA is found in peripheral blood mononuclear cells in a majority of type 1 diabetic children at onset. *Diabetes*, 2002, **51**, 1964-1971.
21. Atkinson MA, Bowman MA, Campbell L, et al.— Cellular immunity to a determinant common to glutamate decarboxylase and coxsackievirus in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest*, 1994, **94**, 2125-2129.
22. Horwitz MS, Bradley LM, Harbetson J, et al.— Diabetes induced by coxsackie virus: initiation by bystander damage and not molecular mimicry. *Nat Med*, 1998, **4**, 781-785.
23. Richter W, Mertens T, Schoel B, et al.— Sequence homology of the diabetes-associated autoantigen glutamate decarboxylase with Coxsackie B4-2C protein and heat shock protein 60 mediates no molecular mimicry of autoantibodies. *J Exp Med*, 1994, **180**, 721-726.
24. Christen U, Edelmann KH, McGavern DB, et al.— A viral epitope that mimics a self antigen can accelerate but not initiate autoimmune diabetes. *J Clin Invest*, 2004, **114**, 1290-1298.
25. Horwitz MS, Sarvetnick N.— Viruses, host responses, and autoimmunity. *Immunol Rev*, 1999, **169**, 241-253.
26. Flodström M, Maday A, Balakrishna D, et al.— Target cell defense prevents the development of diabetes after viral infection. *Nat Immunol*, 2002, **3**, 373-384.
27. Green J, Casabonne D, Newton R.— Coxsackie B virus serology and type 1 diabetes mellitus: a systematic review of published case-control studies. *Diab Med*, 2004, **21**, 507-514.
28. Foulis AK, McGill M, Farquharson MA, et al.— A search for evidence of viral infection in pancreases of newly diagnosed patients with IDDM. *Diabetologia*, 1997, **40**, 53-61.
29. Buesa-Gomez J, de la Torre JC, Dyrberg T, et al.— Failure to detect genomic viral sequences in pancreatic tissue from two children with acute-onset diabetes mellitus. *J Med Virol*, 1994, **42**, 193-197.
30. Gale EAM.— The rise of childhood type 1 diabetes in the twentieth century. *Diabetes*, 2002, **51**, 3353-3361.
31. Chehadeh W, Weill J, Vantighem MC, et al.— Increased level of interferon-alpha in blood of patients with insulin-dependent diabetes mellitus: relationship with coxsackievirus B infection. *J Infect Dis*, 2000, **181**, 1929-1939.
32. Robert F, Martens H, Cormann N, et al.— The recognition of hypothalamo-neurohypophysial functions by developing T cells. *Dev Immunol*, 1992, **2**, 131-140.
33. Geenen V, Robert F, Martens H, et al.— The thymic education of developing T cells in self neuroendocrine principles. *J Endocrinol Invest*, 1992, **15**, 621-629.
34. Martens H, Goxe B, Geenen V.— The thymic repertoire of neuroendocrine self-antigens: physiological implications in T-cell life and death. *Immunol Today*, 1996, **17**, 312-317.
35. Like AA, Kislaukis E, Williams RM, et al.— Neonatal thymectomy prevents spontaneous diabetes in the BB:W rat. *Science*, 1982, **216**, 644-646.
36. Georgiou HM, Bellgrau D.— Induction of insulinitis in athymic (nude) mice. The effect of NOD thymus and pancreas transplantation. *Diabetes*, 1995, **44**, 49-59.
37. Thomas-Vaslin V, Damotte D, Coltey M, et al.— Abnormal T-cell selection on NOD thymic epithelium is sufficient to induce autoimmune manifestations in C57BL/6 athymic nude mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**, 4598-4603.
38. Kecha-Kamoun O, Achour I, Martens H, et al.— Thymic expression of insulin-related genes in an animal model of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 2001, **17**, 146-152.
39. Brilot F, Chehadeh W, Charlet-Renard C, et al.— Persistent infection of human thymic epithelial cells by coxsackievirus B4. *J Virol*, 2002, **76**, 5260-5265.
40. Brilot F, Geenen V, Hober D, Stoddart C.— Coxsackievirus B4 infection of human fetal thymus cells. *J Virol*, 2004, **78**, 9854-9861.
41. Chatterjee NK, Hou J, Dockstader P, et al.— Coxsackievirus B4 infection alters thymic, splenic, and peripheral lymphocyte repertoire preceding onset of hyperglycemia in mice. *J Med Virol*, 1992, **38**, 124-131.
42. Shih FF, Mandik-Nayak L, Wipke BT, et al.— Massive thymic deletion results in systemic autoimmunity through elimination of CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Exp Med*, 2004, **199**, 323-335.
43. Gale EAM, Atkinson M.— A piece of nucleic acid surrounded by controversy: coxsackievirus and the causes of Type 1 diabetes. *Diab Med*, 2004, **21**, 503-506.
44. Roivainen M, Rasilainen S, Ylipaasto P, et al.— Mechanisms of coxsackievirus-induced damage to human pancreatic β -cells. *J Clin Endocr Metab*, 2000, **85**, 432-40.
45. Horwitz MS, Ilic A, Fine C, et al.— Presented antigen from damaged pancreatic β cells activates autoreactive T cells in virus-mediated autoimmune diabetes. *J Clin Invest*, 2002, **109**, 79-87.
46. Lesage S, Hartley SB, Akkaraju S, et al.— Failure to censor forbidden clones of CD4 T cells in autoimmune diabetes. *J Exp Med*, 2002, **196**, 1175-1188.
47. Geenen V, Brilot F, Louis C, et al.— Nouvelles données sur la pathogénie du diabète de type 1. *Rev Med Liège*, 2005, **60**, 291-296.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Prof. V. Geenen, Service d'Endocrinologie, CHU Sart Tilman, 4000 Liège