

This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



Annales d'Endocrinologie 69 (2008) 107–111

Annales
d'Endocrinologie
Annals of Endocrinology

Les cibles hormonales de la réponse auto-immune Hormonal targets of the autoimmune response

V. Geenen

Centre d'immunologie (CIL), institut de pathologie, CHU-B23, université de Liège, 4000 Liège-Sart Tilman, Belgique

Disponible sur Internet le 15 avril 2008

« Cette diversité dont on vous parle tant,
Mon voisin léopard l'a sur soi seulement ;
Moi, je l'ai dans l'esprit (. . .)
Le singe avait raison ; ce n'est pas sur l'habit
Que la diversité me plaît, c'est dans l'esprit. »
La Fontaine, 1679. *Le Singe et le Léopard*

1. Introduction

La probabilité d'auto-immunisation a été exclue par Paul Ehrlich dès la publication de sa théorie de l'immunité au début du xx^e siècle ; il formula néanmoins l'hypothèse, improbable selon lui, que des cellules pourraient posséder des récepteurs capables de réagir contre les propres constituants du corps. Dans ce cas, il affirmait « que l'organisme cherche un moyen d'échapper à cette difficulté par des dispositifs particuliers : on peut parler de l'*horror autotoxicus* de l'organisme » [1]. Depuis lors, la tolérance du soi est devenue une des pierres angulaires de la physiologie du système immunitaire et une de ses propriétés cardinales, au même titre que sa diversité, sa spécificité et sa mémoire. L'absence ou la rupture de la tolérance au soi est responsable du développement progressif de maladies auto-immunes, tant systémiques que spécifiques d'organes. Les endocrinopathies auto-immunes constituent un grand nombre de ces dernières (Tableau 1) et tous les parenchymes glandulaires, sans exception, sont susceptibles d'une insuffisance fonctionnelle provoquée par une réponse auto-immune ciblée vers un ou plusieurs autoantigènes spécifiques de ces tissus [2]. Dans un certain nombre de cas cependant, la nature précise de ces autoantigènes n'est pas encore connue. La question légitime qui se pose alors est de comprendre pourquoi les glandes endocrines deviennent si fréquemment la cible d'une réponse

auto-immune sélectivement dirigée contre elles ? La découverte des mécanismes intrathymiques, responsables de l'installation de la tolérance centrale du soi, apporte aujourd'hui de nombreux éléments de réponse à cette question cruciale.

Chez les espèces éloignées et les invertébrés, les fondations des systèmes neuroendocrine et immunitaire ont coexisté jusqu'à aujourd'hui sans aucun problème apparent. Il y a environ 470 millions d'années, alors que certains rudiments de la diversité immunitaire résultant d'une simple conversion génique existaient déjà chez les premiers vertébrés – les poissons dépourvus de mâchoires (Agnathes) comme la lamproie – [3] l'immunité adaptative s'est développée avec l'apparition des poissons cartilagineux (comme le requin ou la raie). L'immunité adaptative se caractérise par l'acquisition d'une machinerie enzymatique (les recombinaisons RAG1 et RAG2), spécialisée dans la recombinaison aléatoire de segments de gènes au sein des cellules somatiques lymphoïdes. Cette recombinaison est responsable de la génération stochastique d'une importante diversité de récepteurs à l'antigène des lymphocytes B (BCR) et T (TCR), capables de reconnaître la multitude des antigènes du non-soi. L'émergence de la réponse immunitaire adaptative a exercé une pression évolutive si importante que de nouvelles structures lymphoïdes (comme le thymus) sont apparues le long des voies du trafic lymphocytaire pour assurer la tolérance du soi, c'est-à-dire l'impossibilité pour le système immunitaire d'attaquer l'organisme qui l'héberge. L'accroissement progressif de la diversité et de la complexité immunitaires explique aussi pourquoi des failles de la tolérance sont apparues de plus en plus au cours de l'évolution, le nombre de variétés de maladies auto-immunes étant le plus élevé aujourd'hui dans l'espèce humaine. Le premier thymus est apparu chez les poissons cartilagineux, en même temps ou très peu de temps après l'émergence de la réponse immunitaire adaptative [4]. Bien que certains mécanismes tolérogènes incomplets existent dans les sites hématopoïétiques primaires (le foie et la moelle osseuse), la tolérance des cellules B dépendante de l'antigène est surtout secondaire à l'absence de coopération T. Dès lors, parmi toutes les struc-

Adresse e-mail : vgeenen@ulg.ac.be.

Tableau 1
Antigènes ciblés dans les endocrinopathies auto-immunes

Endocrinopathies	Autoantigènes primaires
Diabète de type 1	Insuline GAD65 Tyrosine phosphatase IA-2 Récepteur de la TSH
Maladie de Graves-Basedow (thyroïdite auto-immune de type 3)	
Maladie de Hashimoto (thyroïdite auto-immune de type 2)	Thyroperoxydase Thyroglobuline
Maladie d'Addison	21-Hydroxylase
Insuffisance ovarienne prématurée	?
Hypoandrogénie hypergonadotrope	?
Hypophysite auto-immune	?
Diabète insipide central « idiopathique »	Vasopressine

tures lymphoïdes, le thymus est l'unique organe spécialisé dans l'établissement de la tolérance du soi [5].

Le thymus n'est pas une glande endocrine, mais il est un point de rencontre crucial entre les systèmes immunitaire et neuroendocrine [6]. Dans cet organe responsable en premier lieu de la thymopoïèse (génération des cellules T et de la diversité du répertoire des TCR), le système neuroendocrine intervient dès les premières étapes du contrôle de la différenciation des lymphocytes T. De plus, les cellules T entreprennent dans le thymus un processus complexe d'éducation qui permet d'établir leur tolérance à l'égard des fonctions neuroendocrines. Le thymus constitue ainsi un endroit privilégié où il existe en permanence une confrontation entre un système neuroendocrine apparu plus tôt dans l'évolution, quasi constant et un système plus récent, équipé d'un procédé sophistiqué de recombinaison responsable de la génération de la diversité immunologique. Contrairement à une idée préconçue, le thymus fonctionne pendant toute la vie et joue un rôle primordial dans la régénération d'un répertoire de cellules T diverses, tolérantes et compétentes, par exemple après une chimiothérapie intensive ou dans le décours d'un traitement antirétroviral hautement actif [7,8].

2. La nature du soi neuroendocrine

Le thymus assure la tolérance centrale du soi par deux mécanismes complémentaires et intimement associés: la délétion des cellules T réactives au soi issues de la recombinaison au hasard des segments de gènes codant pour les parties variables du TCR et la génération de cellules T régulatrices (Treg), spécifiques d'antigènes du soi et capables d'inactiver en périphérie les cellules T réactives au soi ayant échappé au filtre thymique.

Pendant longtemps, la communauté scientifique s'est accordée sur l'idée que les autoantigènes cibles des réactions auto-immunes étaient séquestrés par rapport aux cellules T au cours de leur différenciation dans le thymus. Toutefois, nos travaux ont démontré que les cellules épithéliales thymiques (CET) sont le siège de la transcription d'un grand nombre de gènes appartenant à plusieurs familles neuroendocrines, comme celles des hormones neurohypophysaires [9], des tachykinines [10], de la neurotensine [11] et de l'insuline [12]. La nature du « soi neuroendocrine » a été ensuite définie comme suit :

- les antigènes du soi neuroendocrine correspondent aux séquences peptidiques les plus conservées au cours de l'évolution d'une famille donnée ;
- une hiérarchie caractérise généralement leur profil d'expression. Pour la famille neurohypophysaire, l'ocytocine est le peptide dominant synthétisé par l'épithélium thymique de différentes espèces. La liaison de l'ocytocine à son récepteur exprimé par les cellules T thymiques provoque une phosphorylation rapide des kinases liées à l'adhésion focale [13], qui pourrait jouer un rôle dans la promotion de synapses immunologiques entre les cellules thymiques présentatrices d'antigènes (CPA), comme les CET et les cellules T immatures. La neurokinine A – et non la substance P – est le peptide généré par l'apprêtement dans les CET du produit d'expression du gène de la préprotachykinine A [10]. En ce qui concerne la famille de l'insuline, l'expression thymique du facteur de croissance apparenté à l'insuline de type 2 (IGF-2) prédomine pendant la vie fœtale sur celle de l'IGF-1, elle-même étant supérieure à celle de l'insuline (12 ; Hansenne et al., soumis pour publication). Ces profils hiérarchiques sont importants, car le niveau de tolérance vis-à-vis d'une protéine est proportionnel à son niveau d'expression dans le thymus. Le blocage de la communication thymique véhiculée par les IGFs et leurs récepteurs (mais non par la proinsuline) interfère avec les étapes précoces de la différenciation T, analysée dans le modèle des cultures organotypiques de thymus fœtal murin [14] ;
- les précurseurs neuroendocrines ne sont pas apprêtés selon le modèle classique de la neurosécrétion, mais bien en vue d'une présentation antigénique par, ou en association avec, les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ;
- enfin, l'apprêtement antigénique par les CPA thymiques n'est pas identique à celui existant dans les CPA professionnelles périphériques. Pour l'ocytocine et la neurotensine thymiques, cette différence implique que leur présentation par les CPA thymiques n'est pas soumise à une restriction par les allèles du CMH, aussi stricte que la présentation des antigènes du non-soi par les CPA professionnelles de la périphérie [15].

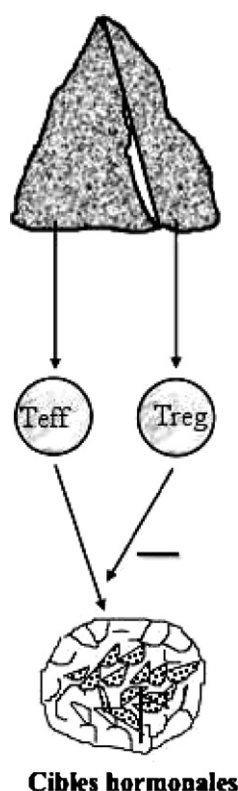
Cette organisation hiérarchique du répertoire thymique des antigènes du soi neuroendocrine possède aussi une signification sur le plan évolutif. Comme nous l'avons vu plus haut, certaines fonctions physiologiques essentielles, établies avant l'émergence de l'immunité adaptative, devaient être protégées contre le potentiel autotoxique de celle-ci. Il apparaît logique, dès lors que l'ocytocine, intervenant dans le contrôle de la reproduction à différents niveaux et donc la survie des espèces devait être plus protégée que la vasopressine contrôlant essentiellement l'homéostasie de l'eau. De même, l'IGF-2, facteur de croissance majeur du développement fœtal, devait être davantage toléré que l'insuline, hormone surtout responsable de l'homéostasie du glucose. Néanmoins, grâce à leur homologie, les antigènes du soi neuroendocrine exprimés dans le thymus assurent une tolérance croisée vis-à-vis des autres membres de leur famille. Cette hypothèse a été démontrée par la tolérance plus faible de l'insuline chez les souris *Igf2*^{-/-} que chez les souris sauvages [16].

3. Une défaillance de la tolérance thymique : « moteur » des endocrinopathies auto-immunes ?

Nous avons postulé en 1992 qu'un défaut de l'éducation des cellules T à reconnaître et à tolérer l'ocytocine dans le thymus pourrait jouer un rôle important dans le développement d'une réponse auto-immune spécifique des neurones magnocellulaires hypothalamiques et conduire progressivement à un diabète insipide central « idiopathique » [17–19]. Comme l'avait formulé Burnet en 1973, la physiopathologie des maladies auto-immunes pourrait d'abord reposer sur l'apparition de clones T « interdits » dans le répertoire périphérique. Puisque le thymus est le premier site impliqué dans l'installation de la tolérance du soi, l'investigation approfondie d'une défaillance du filtre thymique apportera à la communauté scientifique des clés importantes pour la compréhension des mécanismes déterminant le développement d'une réponse auto-immune. C'est d'ailleurs l'objectif essentiel du projet intégré FP6 Euro–Thymaïde (www.eurothymaïde.org) coordonné par l'université de Liège. Des anomalies de la morphologie et de la cytoarchitecture thymiques ont été décrites dans le cas de plusieurs maladies auto-immunes. L'apoptose de cellules T réactives au soi est aussi déficiente dans le thymus des souris NOD [20], un modèle animal du diabète de type 1 humain. L'expression des gènes de la famille de l'insuline (*INS*, *Igf1*

et *Igf2*) a été analysée dans le thymus de rats BB susceptibles (BB-DP) ou résistants (BB-DR) au diabète auto-immun. Les transcrits de *INS* et de l'*Igf1* ont été détectés dans tous les thymus des rats BB-DP et BB-DR. En revanche, les transcrits de l'*Igf2* étaient absents dans le thymus de plus de 80 % des rats BB-DP, en étroite concordance avec l'incidence du diabète auto-immun chez ces rats (86 %), alors qu'ils étaient normalement détectés dans le thymus des rats BB-DR [21]. Ce défaut d'expression d'*Igf2* dans le thymus des rats BB-DP pourrait contribuer tant à leur lymphopénie (incluant l'absence de Treg), qu'à l'absence de tolérance centrale vis-à-vis des cellules-β sécrétrices d'insuline du pancréas. D'autres auteurs ont montré que la susceptibilité au diabète auto-immun est corrélée avec le niveau d'expression d'*INS2* dans le thymus de la souris [22,23]. Dans le même ordre d'idée, les transcrits thymiques de *INS* sont présents en concentrations moindres chez les fœtus porteurs des allèles courts (de classe II) du VNTR, un trait de susceptibilité génétique au diabète de type 1 (*IDDM2*), par rapport aux fœtus porteurs des allèles longs (de classe III) du VNTR qui déterminent à l'inverse une protection vis-à-vis de cette maladie [24,25] (Fig. 1)..

La démonstration de l'expression intrathymique des gènes encodant les antigènes thyroïdiens (thyroglobuline, thyroperoxydase et récepteur de la TSH) suggère que la tolérance centrale des cellules T concerne aussi ces protéines spécifiques du métabolisme de la thyroïde [26,27]. Une équipe japonaise



Physiologie du thymus

- Transcription par l'épithélium thymique d'un vaste répertoire de gènes codant pour des Ag neuroendocrines et spécifiques de tissus périphériques (Ag du soi)
- Délétion des clones T exprimant un TCR à haute affinité pour les Ag du soi
- Génération de Treg naturelles (nTreg) Foxp3+, spécifiques d'Ag du soi
- Contrôle par AIRE de la transcription intra-thymique d'un grand nombre d'Ag du soi (incluant IGF-2, insuline, ocytocine, et neuropeptide Y)

Physiopathologie du thymus

- Absence ou diminution de l'expression/présentation intra-thymique d'Ag du soi (syndrome APS-I, souris *Aire*^{-/-}, rat BB...)
- Enrichissement du pool T périphérique en lymphocytes réactifs au soi
- Diminution de la génération de nTreg

Pont moléculaire entre T réactives au soi et auto-Ag des cibles hormonales

- Influence de facteurs génétiques intra- et extra-CMH
- Influence de facteurs environnementaux (virus, alimentation, stress...)

Fig. 1. Dysfonction thymique et développement des endocrinopathies auto-immunes.

L'épithélium thymique est le siège de la transcription de nombreux gènes codant pour des antigènes (Ag) du soi neuroendocrine et spécifiques de tissus périphériques. Le gène *AIRE* contrôle la transcription de la majorité de ces gènes (mais non leur totalité). Le niveau de transcription intrathymique d'Ag du soi intervient à la fois dans la sélection négative des cellules T réactives au soi et dans la sélection positive de Treg spécifiques de ces Ag. Suite à l'installation d'un « pont » entre les cellules T autoréactives et la cible autoantigénique, le processus auto-immun pathogène se déclenche et aboutit progressivement à une insuffisance endocrinienne particulière.

a par ailleurs décrit en imagerie par résonance magnétique nucléaire une hyperplasie du thymus chez les patients atteints d'une maladie de Graves-Basedow (thyroïdite auto-immune de type 3) en phase active [28]. Cette hyperplasie thymique régresse en cours de traitement et n'est pas retrouvée dans des hyperthyroïdies d'origine différente (comme l'adénome thyroïdien toxique).

L'identification du gène *AutoImmune REgulator (AIRE)* a permis une avancée extrêmement importante dans notre compréhension du rôle central joué par une dysfonction du thymus dans la physiopathologie des maladies auto-immunes spécifiques d'organes [29]. Des mutations de *AIRE* sont responsables d'un rare syndrome congénital récessif de l'enfant appelé syndrome polyglandulaire auto-immun de type 1 (APS-1) ou syndrome *Autoimmune PolyEndocrinopathy, Candidiasis, Ectodermal Dystrophy* (APECED). Le gène *AIRE* encode une protéine possédant des caractéristiques structurales l'assimilant à un facteur de transcription, et son expression est maximale dans l'épithélium thymique. Les souris *AIRE*^{-/-} présentent des manifestations d'auto-immunité périphérique associées à une très nette réduction de la transcription intrathymique de nombreux antigènes du soi neuroendocrine (dont l'ocytocine, le neuropeptide Y, l'IGF-2 ou l'insuline) et de tissus périphériques [30]. Une étude récente a également démontré que tant les allèles du VNTR (*IDDM2*) que le niveau d'expression d'*AIRE* déterminent la concentration des transcrits de *INS* dans le thymus humain [31].

4. Conclusions et perspectives

Les recherches menées depuis ces dernières années ont mis clairement en évidence le rôle crucial du thymus dans la mise en place de la tolérance centrale du soi [32]. Des arguments de plus en plus nombreux plaident en faveur d'une dysfonction de la fonction tolérogène thymique comme élément initiateur dans le développement des maladies auto-immunes et les endocrinopathies de ce type en particulier. Selon qu'ils sont la source de ligands pour les récepteurs exprimés par les cellules T immatures, ou d'antigènes du soi présentés par les molécules du CMH des CPA thymiques, les précurseurs neuroendocrines thymiques exercent un double rôle qui transpose à l'échelle moléculaire le double rôle du thymus dans la différenciation des cellules T [33]. Il existe une homologie étroite, mais non une identité absolue, entre ces précurseurs et les cibles hormonales de la réponse auto-immune. La vasopressine est l'antigène cible impliqué dans certains cas de diabète insipide central « idiopathique », alors que la tolérance de l'ocytocine est très forte et qu'il n'existe pas d'exemple décrit de réaction auto-immune dirigée contre ce peptide. De même, l'insuline est l'autoantigène primaire ciblé par le processus auto-immun diabétogène, alors que la tolérance de l'IGF-2 est également extrêmement forte. On retrouve ici l'idée de Burnet selon laquelle la tolérance d'un antigène installée pendant la vie fœtale est supposée « incassable ». Si les recherches futures confirment que la tolérance élevée d'un antigène du soi, défini par le niveau élevé de son expression dans le thymus, est associée à des propriétés tolérogènes actives, un nouveau type de vaccination pourrait être envisagé. À l'inverse

de la vaccination classique source d'une réponse immunogène et d'une mémoire immunologique, la *self-vaccination* négative permettrait de reprogrammer la tolérance immunitaire, brisée ou absente, vis-à-vis des cibles hormonales de la réponse auto-immune. La mise au point de la *self-vaccination* tolérogène permettra peut-être à l'espèce humaine de s'affranchir du tribut de plus en plus lourd qu'elle paie encore en échange de la complexité et de l'efficacité de son système immunitaire.

Remerciements

Vincent Geenen est directeur de recherches au Fonds de la recherche scientifique (FNRS-FRS) de Belgique, professeur d'embryologie à l'université de Liège et chef de clinique au service d'endocrinologie du CHU de Liège. Ces travaux sont soutenus par le Fonds Léon-Fredericq du CHU de Liège, le Fonds de La recherche scientifique médicale (FRSM), la région Wallonne (projet Waleo-Tolediab), et l'European Association for the Study of Diabetes (EASD, Düsseldorf). Vincent Geenen est coordinateur du Projet Intégré FP6 Euro-Thymaïde de la Commission européenne (contrat LSHB-CT-2003-502410) intitulé : *Novel approaches in the pathogenesis, diagnosis and treatment of autoimmune diseases based on new insights into thymus-dependent self-tolerance*. De plus, amples informations sur ce projet sont disponibles sur le site <http://www.eurothymaïde.org>.

Références

- [1] Ehrlich P, Morgenroth J. Uber haemolysine. In: In: Himmelweis F, Ehrlich P, editors. Collected Papers, 2. Londres: Pergamon Press; 1957, p. 246.
- [2] Geenen V, Chrousos GP. Immunoendocrinology in health and disease. New York: Marcel Dekker; 2004.
- [3] Alder MN, Rogozin IB, Iyer LM, Glazko GV, Cooper MD, et al. Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate. *Science* 2005;310:1970–3.
- [4] Boehm T, Bleul CC. The evolutionary history of lymphoid organs. *Nat Immunol* 2007;8:131–5.
- [5] Geenen V, Brilot F, Hansenne I, Renard C, Martens H. Thymus and T cells. In: Adelman G, Smith BH, editors. *Encyclopedia of Neuroscience*. 3rd Edn. New York: Elsevier; 2004. CD-ROM ISBN: 0-444-51432-5.
- [6] Geenen V, Robert F, Martens H, De Groote D, Franchimont P. The thymic education of developing T cells in self neuroendocrine principles. *J Endocrinol Invest* 1992;15:621–9.
- [7] Kong FC, Chen CH, Cooper MD. Thymic function can be accurately monitored by the level of recent T cells emigrants in the circulation. *Immunity* 1998;18:514–8.
- [8] Douek DC, Macfarland RD, Keiser PH, Gage EA, Massey JM, Haynes BF, et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature* 1998;396:690–5.
- [9] Geenen V, Legros JJ, Franchimont P, Baudrihaye MP, Defresne MP, Boniver J. The neuroendocrine thymus: coexistence of oxytocin and neurophysin in the human thymus. *Science* 1986;232:508–11.
- [10] Ericsson A, Geenen V, Robert F, Legros JJ, Vrindts-Gevaert Y, Franchimont P, et al. Expression of preprotachykinin-A and neuropeptide-Y messenger RNA in the thymus. *Mol Endocr* 1990;4:1211–9.
- [11] Vanneste Y, Ntoudou-Thome A, Vandersmissen E, Charlet C, Franchimont D, Martens H, et al. Identification of neurotensin-related peptides in human thymic epithelial cell membranes and relationship with major histocompatibility complex class I molecules. *J Neuroimmunol* 1996;76:161–6.
- [12] Geenen V, Achour I, Robert F, Vandersmissen E, Sodoyez JC, Defresne MP, et al. Evidence that insulin-like growth factor-2 (IGF2) is the

- dominant thymic peptide of the insulin superfamily. *Thymus* 1993;21:115–21.
- [13] Martens H, Kecha O, Charlet-Renard C, Defresne MP, Geenen V. Neurohypophysial peptides stimulate the phosphorylation of pre-T cell focal adhesion kinases. *Neuroendocrinology* 1998;67:282–9.
- [14] Kecha O, Brilot F, Martens H, Franchimont N, Renard C, Greimers R, et al. Involvement of insulin-like growth factors in early T-cell development: a study using fetal thymic organ cultures. *Endocrinology* 2000;141:1209–17.
- [15] Geenen V. Thymus-dependent T cell tolerance of neuroendocrine functions. Principles, reflections, and implications for tolerogenic/negative self-vaccination. *Ann NY Acad Sci* 2006;1088:284–96.
- [16] Hansenne I, Renard-Charlet C, Greimers R, Geenen V. Dendritic cell differentiation and immune tolerance to insulin-related peptides in *Igf2*-deficient mice. *J Immunol* 2006;176:4651–7.
- [17] Robert F, Martens H, Cormann N, Benhida A, Schoenen J, Geenen V. The recognition of hypothalamo-neurohypophysial functions by developing T cells. *Dev Immunol* 1992;2:131–40.
- [18] Scherbaum WA, Czernichow P, Bottazzo GF, Doniach D. Diabetes insipidus in children. IV. A possible autoimmune type with vasopressin cell antibodies. *J Pediatr* 1985;107:922–5.
- [19] Imura H, Nakao K, Shimatsu A, Ogawa Y, Sando T, Fujisawa I, et al. Lymphocytic infundibuloneurohypophysitis as a cause of central diabetes insipidus. *N Engl J Med* 1993;329:683–7.
- [20] Kishimoto H, Sprent J. A defect in central tolerance in NOD mice. *Nat Immunol* 2001;2:1025–31.
- [21] Kecha-Kamoun O, Achour I, Martens H, Collette J, Lefebvre PJ, Greiner DL, et al. Thymic expression of insulin-related genes in an animal model of autoimmune type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2001;17:146–52.
- [22] Chentoufi AA, Polychronakos C. Insulin expression levels in the thymus modulate insulin-specific autoreactive T-cell tolerance: the mechanism by which the *IDDM2* locus may predispose to diabetes. *Diabetes* 2002;51:1383–90.
- [23] Thebault-Baumont K, Dubois-Laforgue D, Krief P, Briand JP, Halbout P, Vallon-Geoffroy K, et al. Acceleration of type 1 diabetes in proinsulin 2-deficient NOD mice. *J Clin Invest* 2003;111:851–7.
- [24] Vafiadis P, Bennett ST, Todd JA, Nadeau J, Grabs R, Goodyer CG, et al. Insulin expression in human thymus is modulated by *INS* VNTR alleles at the *IDDM2* locus. *Nat Genet* 1997;15:289–92.
- [25] Pugliese A, Zeller M, Fernandez Jr A, Zalcberg LJ, Bartlett RJ, Ricordi C, et al. The insulin gene is transcribed in the human thymus and transcription levels correlate with allelic variation at the *INS* VNTR-*IDDM2* susceptibility locus for type 1 diabetes. *Nat Genet* 1997;15:293–7.
- [26] Paschke R, Geenen V. Messenger RNA for a TSH receptor variant in the thymus of a two-year child. *J Mol Med* 1995;73:577–80.
- [27] Spitzweg C, Joba W, Heufelder AE. Expression of thyroid-related genes in human thymus. *Thyroid* 1999;9:133–41.
- [28] Murakami M, Hosoi Y, Negishi T, Kamiya Y, Miyashita K, Yamada M, et al. Thymic hyperplasia in patients with Graves' disease. Identification of thyrotropin receptor in human thymus. *J Clin Invest* 1996;98:2228–34.
- [29] The Finnish-German APECED Consortium. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat Genet* 1997; 17: 399–403.
- [30] Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, et al. Projection of an immunological self-shadow within the thymus by the Aire protein. *Science* 2002;298:1395–401.
- [31] Sabater L, Ferrer-Francesch X, Sospedra M, Caro P, Juan M, Pujol-Borrell R. Insulin alleles and autoimmune regulator (AIRE) gene both influence insulin expression in the thymus. *J Autoimmun* 2005;25:312–8.
- [32] Kyewski B, Klein L. The central role of central tolerance. *Annu Rev Immunol* 2006;24:571–605.
- [33] Martens H, Goxe B, Geenen V. The thymic repertoire of neuroendocrine self-peptides: Physiological implications in T-cell life and death. *Immunol Today* 1996;17:312–7.