

NOUVELLES DONNÉES SUR LA PATHOGÉNIE DU DIABÈTE DE TYPE 1

V. GEENEN (1), F. BRILLOT (2), C. LOUIS (3), I. HANSENNE (4), CH. RENARD (5), H. MARTENS (6)

RÉSUMÉ : Le caractère auto-immun du processus diabétogène et la contribution majeure des lymphocytes T ne suscitent plus aujourd'hui le moindre doute. Toutefois, malgré l'identification des trois principaux auto-antigènes du diabète de type 1 (insuline, GAD65 et phosphatase IA-2), l'origine de ce processus auto-immunitaire demeure toujours inconnue. Les études les plus récentes montrent qu'une dysfonction du thymus dans l'établissement de la tolérance centrale vis-à-vis de la famille de l'insuline joue un rôle crucial dans le développement de la réponse auto-immune sélective des cellules β pancréatiques insulino-sécrétrices. Tous les gènes de la famille de l'insuline, insuline (INS) et facteurs de croissance apparentés à l'insuline de type 1 (IGF1) et de type 2 (IGF2), sont exprimés dans le thymus. Toutefois, l'IGF-2 est le membre dominant et le premier de cette famille rencontré par les cellules T dans le thymus, et seuls les IGFs contrôlent la différenciation T. La transcription de l'IGF2 est déficiente dans un modèle animal classique du diabète de type 1, le rat Bio-Breeding (BB). La séquence B9-23 de l'insuline, un auto-antigène dominant du diabète de type 1, et la séquence homologue B11-25 de l'IGF-2 présentent la même affinité et entrent en compétition pour la liaison à DQ8, un allèle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II conférant une susceptibilité génétique majeure à cette maladie. Par rapport à la séquence B9-23 de l'insuline, la présentation de la séquence B11-25 de l'IGF-2 dans des cultures de cellules mononucléées sanguines (PBMCs), isolées chez des adolescents diabétiques de type 1 porteurs de l'allèle DQ8, induit un profil de sécrétion en cytokines de type régulateur/toléro-gène (\cdot IL-10, \cdot IL-10/IFN- γ , \cdot IL-4). L'administration de self-antigène(s) dérivé(s) de l'IGF-2 pourrait constituer une nouvelle forme de vaccin combinant à la fois un antagonisme au niveau du site de présentation d'un allèle de susceptibilité du CMH et une réponse immunitaire régulatrice/ toléro-gène en aval de cette présentation.

MOTS-CLÉS : Maladie auto-immune - Thymus - Tolérance - Diabète de type 1

INTRODUCTION

En 1965, notre défunt collègue Willy Gepts (VUB) observait des infiltrats inflammatoires de cellules mononucléées (insulite) envahissant les îlots de Langerhans dans le pancréas de patients diabétiques décédés de complications aiguës (1). Il discutait ainsi ses résultats avec une remarquable clairvoyance : «Il semble que nous ayons

IMPORTANCE OF A THYMUS DYSFUNCTION IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF TYPE 1 DIABETES

SUMMARY : The autoimmune nature of the diabetogenic process and the major contribution of T lymphocytes stand now beyond any doubt. However, despite the identification of the three major type 1-diabetes-related autoantigens (insulin, GAD65 and phosphatase IA-2), the origin of this immune dysregulation still remains unknown. More and more evidence supports a thymic dysfunction in the establishment of central self-tolerance to the insulin family as a crucial factor in the development of the autoimmune response selective of pancreatic insulin-secreting islet β cells. All the genes of the insulin family (INS, IGF1 and IGF2) are expressed in the thymus network. However, IGF-2 is the dominant member of this family first encountered by T cells in the thymus, and only IGFs control early T-cell differentiation. IGF2 transcription is defective in the thymus in one animal model of type 1 diabetes, the Bio-Breeding (BB) rat. The sequence B9-23, one dominant autoantigen of insulin, and the homologous sequence B11-25 derived from IGF-2 exhibit the same affinity and fully compete for binding to DQ8, one class-II major histocompatibility complex (MHC-II) conferring major genetic susceptibility to type 1 diabetes. Compared to insulin B9-23, the presentation of IGF-2 B11-25 to peripheral mononuclear cells (PBMCs) isolated from type 1 diabetic DQ8+ adolescents elicits a regulatory/tolerogenic cytokine profile (\cdot IL-10, \cdot IL-10/IFN-g, \cdot IL-4). Thus, administration of IGF-2 derived self-antigen(s) might constitute a novel form of vaccine/immunotherapy combining both an antagonism for the site of presentation of a susceptible MHC allele, as well as a downstream tolerogenic/regulatory immune response.

KEYWORDS : Autoimmune disease - Thymus - Tolerance - Type 1 diabetes

la chance d'observer dans le pancréas de ces diabétiques le stade final d'un processus pathologique qui s'est déroulé pendant une période indéfinie, peut-être depuis la naissance». Les recherches menées dans le monde depuis ces travaux pionniers ont établi que le diabète de type 1 (appelé autrefois diabète juvénile, ou encore insulino-dépendant) résulte d'un processus auto-immun sélectif générant une inflammation, puis une destruction des cellules β insulino-sécrétrices du pancréas. Le diabète de type 1 représente 10 à 15% de tous les diabètes sucrés et sa prévalence moyenne en Europe est de 1 sur 400 individus. Son incidence annuelle en Belgique est d'environ 8 nouveaux cas pour 100 000 habitants, et ce chiffre est 5 à 6 fois plus élevé dans les pays scandinaves, en particulier en Finlande. Le pic d'incidence se situe dans la tranche d'âge de 10 à 14 ans. L'apparition d'un diabète de type 1 nécessite l'intervention de trois facteurs :

1. La réponse auto-immune sélective des cellules β résulte d'une perte ou d'une absence

(1) Professeur, Directeur de Recherches FNRS, Université de Liège, Chef de Clinique, Service d'Endocrinologie, CHU de Liège

(2) Docteur en Sciences, Collaboratrice FNRS

(3) Chercheur doctorant Euro-Thymaïde

(4) Chercheur Fondation Léon Fredericq

(5) Assistante de laboratoire clinique A1

(6) Docteur en Sciences, Chargé de recherches Euro-Thymaïde

Centre d'Immunologie de l'ULg (CIL), Laboratoire de Neuroimmuno-Endocrinologie & Embryologie, Institut de Pathologie CHU-B23, B-4000 Liège-Sart Tilman

(voir plus loin) de la tolérance immunitaire vis-à-vis de ces cellules.

2. Une prédisposition à la maladie est déterminée par la balance chez un individu entre allèles génétiques de susceptibilité et de protection.

3. L'absence de concordance totale (40% au lieu de 100%) de la maladie chez les jumeaux homozygotes, l'augmentation de l'incidence annuelle du diabète de type 1 relevée au cours des dernières années, le gradient nord-sud de cette incidence (à l'exception notable de la Sardaigne), ainsi que la fréquence plus élevée de son apparition entre octobre et mars dans l'hémisphère nord, constituent autant d'arguments pour une influence exercée par l'environnement (virus, alimentation, stress...).

PARAMÈTRES DE LA RÉPONSE AUTO-IMMUNE DIABÉTOGÈNE

La détection d'auto-anticorps dirigés contre les îlots de Langerhans (ICA) fut une étape cruciale dans la démonstration que la pathogénie du diabète de type 1 repose sur une réponse auto-immune sélective de ces structures cellulaires. Les trois auto-antigènes majeurs du diabète de type 1 sont l'insuline, l'isoforme de 65 kDa de la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD65), et la tyrosine-phosphatase IA-2. Toutefois, l'insuline et son précurseur sont les seuls auto-antigènes spécifiques de la cellule β . Les auto-anticorps anti-insuline, anti-GAD65 et anti-IA-2 ont une valeur diagnostique indéniable en tant que marqueurs de la réaction auto-immune dirigée contre les cellules β . Plus de 90 % des diabétiques de type 1 récents possèdent des anticorps contre un ou plusieurs de ces auto-antigènes. Leur valeur prédictive est aussi reconnue, car ils sont détectés plusieurs années avant l'apparition des signes cliniques liés à la carence en insuline. La présence d'auto-anticorps contre plusieurs antigènes a plus de valeur qu'un titre élevé d'anticorps contre un seul auto-antigène. La combinaison d'allèles HLA de susceptibilité (voir plus loin) et d'auto-anticorps accroît encore cette valeur prédictive. Celle-ci est très utile pour les protocoles d'études cliniques de prévention du diabète de type 1 étant donné la faible prévalence de cette maladie (2).

Le rôle pathogène des auto-anticorps du diabète de type 1 est néanmoins assez faible et les vrais agents effecteurs de la destruction auto-immune des cellules β sont les lymphocytes T CD4+ et CD8+ (3). L'étude de la réponse immunitaire de type T se heurte cependant à l'extrême difficulté d'identifier les cellules T dirigées contre des épitopes des auto-antigènes liés au

diabète de type 1. En effet, ces cellules T auto-réactives ne représentent qu'un pourcentage très faible du répertoire des cellules T périphériques. La mise au point récente et l'utilisation de techniques d'immuno-analyses très sensibles (Elispots, tétramères d'épitopes T complexés avec des molécules HLA de classe I et II) devraient néanmoins conduire à des progrès importants dans notre compréhension des mécanismes cellulaires T impliqués dans le diabète de type 1.

THYMUS ET TOLÉRANCE CENTRALE VIS-À-VIS DE LA FAMILLE DE L'INSULINE

Comme les lymphocytes T sont les effecteurs majeurs de la réaction auto-immune diabétogène, il était essentiel de s'intéresser à leur différenciation et leur «écolage» dans le thymus. Ce dernier est le seul organe lymphoïde responsable de la génération de cellules T à la fois compétentes vis-à-vis des antigènes du non soi et tolérantes aux antigènes du soi. Le thymus assure cette fonction tolérogène centrale par la délétion ou l'arrêt du développement des cellules T self-réactives issues de la recombinaison aléatoire des segments de gène encodant les parties variables du récepteur T à l'antigène (TCR). Cette sélection négative résulte de la présentation d'antigènes du soi par les protéines thymiques du HLA. Ce frein thymique est très puissant car, sur cent progéniteurs T migrant dans le thymus à partir des foyers d'hématopoïèse primitive (foie fœtal, puis moelle osseuse), deux lymphocytes T seulement quitteront le thymus dans un état de tolérance au soi et de compétence vis-à-vis du non soi. Le thymus constitue ainsi une sorte de cimetière où se déroule en permanence au cours de la vie une présentation de motifs antigéniques dérivés de molécules établies antérieurement à un système d'évolution récente, caractérisé par un système de loterie génératrice d'une extrême diversité. De plus, cet organe assure la génération de cellules T régulatrices (Tr), spécifiques d'antigènes du soi et capables d'inactiver en périphérie des cellules T self-réactives ayant échappé au filtre thymique (4).

Nos recherches initiées en 1985 ont démontré que le modèle de communication endocrine ne s'applique pas au thymus, mais que cet organe constitue un point de rencontre crucial entre les systèmes immunitaire et neuroendocrine. En effet, à ce niveau, le système neuroendocrine est capable d'exercer un contrôle sur la différenciation des lymphocytes T, tandis que le système T est éduqué à reconnaître et à tolérer les grandes familles de molécules apparentées au système

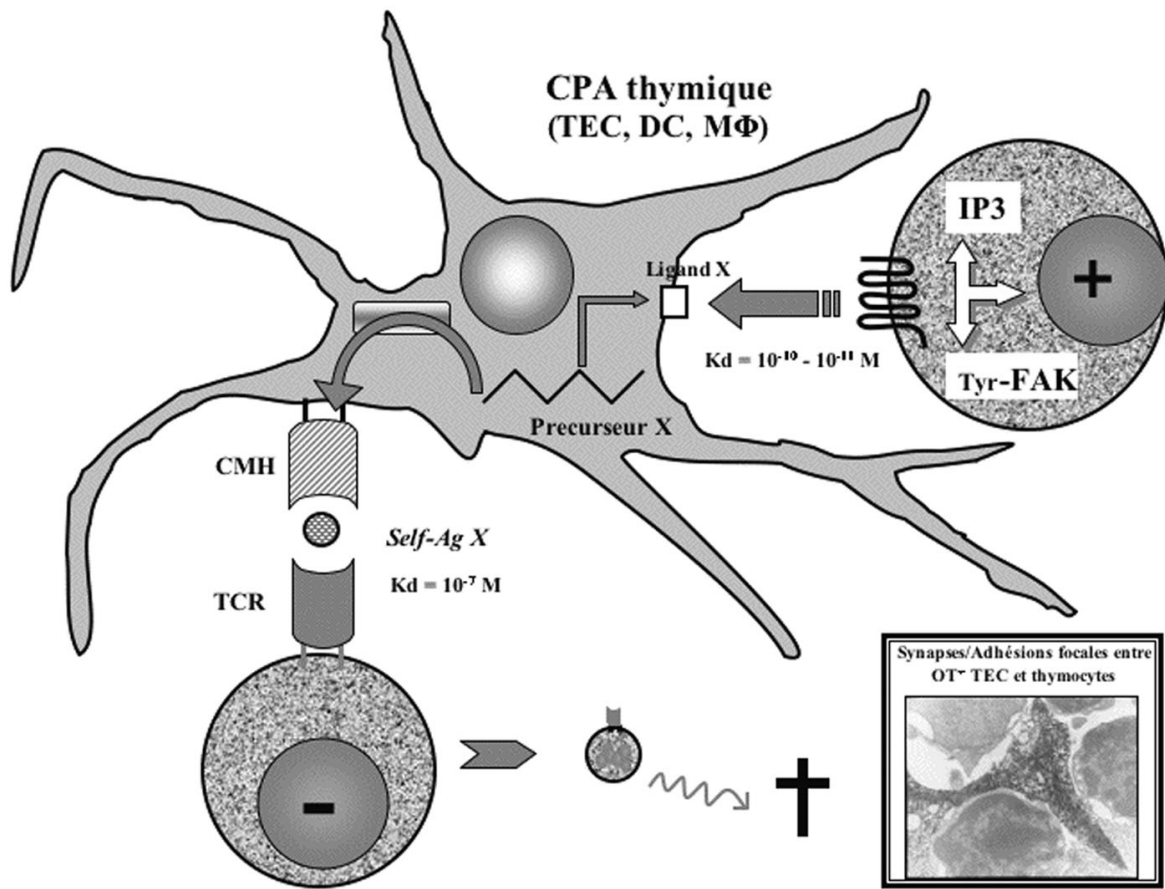


Figure 1. Le double rôle exercé dans le thymus par les gènes/précurseurs des antigènes du soi neuroendocrine. Les précurseurs encodés par les gènes neuroendocrines sont la source de deux types différents d'interactions avec les cellules T immatures. (1) Ils sont la source de ligands, qui ne sont pas sécrétés, mais ciblés à la surface externe de la membrane plasmique de cellules thymiques présentatrices d'antigènes (CPA : cellules épithéliales thymiques [TEC], cellules dendritiques [DC] et macrophages [MΦ]). Ces ligands se lient à des récepteurs neuroendocrines des cellules T, ce qui aboutit à l'activation de voies transductrices comme une augmentation des triphosphates d'inositol (IP3) et une phosphorylation de kinases de l'adhésion focale (FAK). (2) Les mêmes précurseurs subissent un apprêtement en antigènes du soi qui sont présentés par, ou en association, avec les protéines thymiques du CMH. Cette présentation conduira à la délétion clonale ou à l'arrêt du développement des lymphocytes T exprimant un TCR dirigé contre les différentes associations CMH-antigènes du soi neuroendocrine.

neuroendocrine (Fig. 1) (5). Le facteur de croissance apparenté à l'insuline de type 2 (IGF-2) a été identifié comme le membre dominant et le premier de cette famille exprimé dans l'épithélium thymique de différentes espèces, y compris chez l'homme. Les travaux menés à Liège et par différentes équipes ont montré que tous les gènes de la famille de l'insuline (INS, IGF1 et IGF2) sont transcrits dans le thymus selon une topographie cellulaire et une hiérarchie précises dans leur niveau d'expression : IGF2 (épithélium thymique sous-capsulaire, cortical et médullaire; cellules «nourrices» thymiques) > IGF1 (macrophages thymiques) >> INS (épithélium thymique médullaire) (6). Comme la tolérance à une protéine est proportionnelle à son niveau d'expression dans le thymus, cette hiérarchie permet d'expliquer le pouvoir immunogène important de l'insuline, la prévalence élevée d'auto-anticorps et de cellules T dirigés contre l'insuline dans la population

générale, et aussi pourquoi la tolérance à l'IGF-2 est si difficile à briser lors de tentatives d'immunisation contre cette protéine. Il importe de souligner aussi que le traitement avec un anticorps dirigé contre la (pro)insuline de cultures organotypiques de thymus foetal murin n'exerce aucun effet significatif sur les paramètres de la différenciation T. A l'inverse, le blocage dans le même modèle expérimental de la signalisation par les IGFs, et par IGF-2 en particulier, provoque une inhibition importante de la prolifération et de la différenciation des lymphocytes T (7).

DÉVELOPPEMENT DE L'AUTO-IMMUNITÉ DIABÉTOGÈNE : RUPTURE DE TOLÉRANCE PÉRIPHÉRIQUE OU ABSENCE DE TOLÉRANCE CENTRALE ?

Malgré l'identification des trois principaux auto-antigènes cibles du diabète de type 1, l'ori-

gine de la réponse auto-immune sélective de la cellule β demeure une énigme. Pendant longtemps, l'idée a prévalu que cette réponse dépendait d'une rupture de la tolérance périphérique du système immunitaire vis-à-vis des auto-antigènes β . Cette rupture pouvait résulter d'un phénomène de «mimétisme» entre une séquence virale et celle d'un auto-antigène de la cellule β . Un autre mécanisme impliqué était l'effet «bystander», c'est-à-dire une infection des cellules β par un virus à tropisme particulier, suivie de la lyse de ces cellules et de la libération d'auto-antigènes susceptibles d'activer des cellules T auto-réactives, intolérantes pour ces auto-antigènes. Ces mécanismes reposaient toutefois sur un postulat de base, à savoir que les auto-antigènes β étaient séquestrés vis-à-vis des cellules T au cours de l'établissement de leur tolérance pendant leur maturation dans le thymus. Ce concept d'une séparation géographique entre cellules β et lymphocytes T en développement a aujourd'hui disparu depuis qu'il est établi que le parenchyme thymique est le siège de la transcription de gènes apparentés à plusieurs familles neuroendocrines ou encodant des précurseurs d'antigènes tissulaires périphériques (8,9).

Une question logique s'est posée dans la foulée de ces expériences : le développement de la réponse auto-immune spécifique de la cellule β pourrait-il résulter d'une dysfonction du thymus dans l'installation de la tolérance immunitaire centrale vis-à-vis de cette population cellulaire. La transcription des gènes de la famille de l'insuline a été étudiée dans le thymus de rats BB susceptibles (BBDP) ou résistants (BBDR) au diabète auto-immun. Les transcrits de INS et de l'IGF1 ont été détectés dans tous les thymus des rats BBDP et BBDR. Par contre, les transcrits de l'IGF2 étaient absents dans le thymus de plus de 80% des rats BBDP étudiés, en étroite concordance avec l'incidence du diabète chez ces rats (86%) alors qu'ils étaient détectés dans le thymus des rats BBDR (10). Ce déficit d'expression de l'IGF2 est spécifique du thymus car les messagers de l'IGF2 sont détectés dans le foie et le cerveau des rats BBDP. Des observations de plus en plus nombreuses montrent que le développement de la réponse auto-immune spécifique d'organe résulte d'une dysfonction thymique et d'une absence d'établissement de la tolérance centrale vis-à-vis d'antigènes tissulaires périphériques (11).

FACTEURS GÉNÉTIQUES

Le balayage («screening») du génome humain a permis d'identifier au moins 18 loci génétiques

(IDDM1 à IDDM18) en association avec le diabète de type 1 (12). IDDM1 est le locus le plus fortement associé et correspond au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) HLA-DQB. La fonction essentielle des protéines HLA de classe I et de classe II est de présenter les épitopes antigéniques, respectivement aux cellules T CD8+ et CD4+ (restriction antigénique par le CMH). Les allèles de susceptibilité majeure au diabète de type 1 de cette région sont les allèles de classe II HLA-DQ8 et HLA-DQ2.

Le locus IDDM2 est situé à l'extérieur du HLA et correspond à une zone de polymorphisme important, appelée VNTR (pour «variable number of tandem repeat»). On distingue ainsi les allèles VNTR courts de classe I formés de 20 à 63 répétitions de 14-15 paires de bases, les VNTR intermédiaires de classe II formés de 64 à 139 répétitions, et les VNTR longs de classe III formés de 140 à 210 répétitions. Les allèles VNTR de classe I sont associés à une susceptibilité au diabète de type 1, tandis que les allèles de classe III confèrent une protection. VNTR est situé sur le chromosome 11, en amont des gènes INS et IGF2 dont il semble contrôler l'expression. Des études ont montré une corrélation positive entre la présence chez le fœtus humain d'allèles VNTR de classe III et des taux élevés de transcrits de INS dans leur thymus (13,14). Il n'existe toutefois aucune évidence expérimentale d'une corrélation chez l'homme entre la classe de VNTR et la tolérance à l'insuline.

FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

L'influence de l'environnement dans la pathogénie du diabète de type 1 repose surtout sur des études épidémiologiques. Ces dernières ont soulevé la possibilité que l'allaitement maternel confère un certain degré de protection vis-à-vis de la maladie par rapport aux enfants nourris plus tôt aux laits synthétiques ou au lait de vache. La majorité des recherches dans ce domaine mettent cependant l'accent sur un lien entre des infections virales et l'apparition du diabète de type 1 (15). L'infection congénitale par le virus de la rubéole conduit à un pourcentage élevé (10 à 20%) de diabète de type 1 plus tard dans la vie. De nombreuses études épidémiologiques impliquent aussi les entérovirus et, en particulier, le virus Coxsackie B4 comme agent responsable d'un nombre important de diabètes de type 1 dans les pays à incidence élevée comme les pays scandinaves. Ce virus peut infecter de manière persistante les cellules β dont la lyse secondaire aboutirait à la libération d'auto-antigènes spécifiques de ces cellules et

activation secondaire de cellules T auto-réactives (effet «bystander»). En collaboration avec Didier Hober (Institut de Virologie, CHRU de Lille), nous avons montré que le virus Coxsackie B4 est capable d'infecter directement les compartiments épithélial et lymphoïde du thymus humain au cours de la phase de virémie. Nous analysons pour le moment la manière dont cette infection thymique virale interfère avec la différenciation des cellules T et avec les mécanismes responsables de la tolérance centrale vis-à-vis des cellules β des îlots de Langerhans (16,17).

EST-IL POSSIBLE DE PRÉVENIR/GUÉRIR LE DIABÈTE DE TYPE 1 ?

Vu l'impossibilité d'agir sur la constitution génétique d'un individu et sur la plupart des agents environnementaux (sauf peut-être un jour via une vaccination contre le virus Coxsackie B4 dans les pays à incidence élevée), les recherches actuelles privilégient toujours une approche immuno-modulatrice spécifique visant à contrôler la réponse auto-immune diabétogène sans perturber les fonctions immunitaires générales. Idéalement, cette approche pourrait être combinée à une inhibition de l'apoptose des cellules β déclenchée par le processus auto-immun, et à une régénération des cellules β ainsi détruites. Même en cas de transplantation de cellules β

allogéniques, xénogéniques, ou issues de cellules souches (adultes ou embryonnaires) différenciées de manière adéquate, le contrôle du processus auto-immun sélectif des cellules β est une nécessité absolue tant pour la prévention que pour la guérison du diabète de type 1.

Selon les données physiopathologiques présentées ci-dessus, un tel contrôle pourrait être théoriquement obtenu par une (re)programmation de la tolérance immunitaire vis-à-vis des cellules β au moyen des propriétés tolérogènes puissantes du thymus et, plus particulièrement, du répertoire thymique des antigènes du soi neuroendocrine (self-antigènes neuroendocrines). Dans cette perspective, nous avons étudié le profil de sécrétion de cytokines provoqué par la présentation de la séquence B9-23 de l'insuline (Ins B9-23), auto-antigène majeur du diabète de type 1, et de la séquence homologue de l'IGF-2 (IGF-2 B11-25), self-antigène thymique dominant de la famille de l'insuline. Cette étude a été réalisée au moyen de cultures de cellules mononucléées sanguines (PBMCs) purifiées à partir d'adolescents diabétiques de type 1, porteurs de l'allèle DQ8. Les contrôles étaient des patients diabétiques de type 1 non DQ8, et des personnes apparentées DQ8+ non diabétiques. Nous avons vérifié, dans un premier temps, que les séquences Ins B9-23 et IGF-2 B11-25 présentent la même affinité et entrent

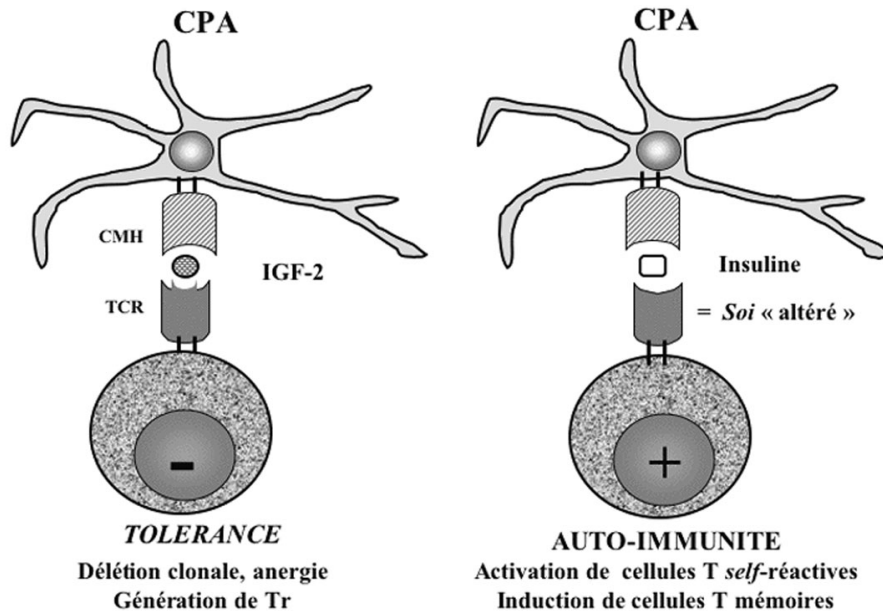


Figure 2. Opposition des réponses immunitaires évoquées par la présentation de l'insuline vs. celle de l'IGF-2 en tant que précurseur d'antigènes du soi.

L'insuline est un auto-antigène majeur et le plus spécifique de la cellule β ciblé par la réponse auto-immune diabétogène. L'insuline est homologue mais non identique à l'IGF-2, et elle peut être considérée comme le soi «altéré» de l'IGF-2. La séquence Ins B9-23 et la séquence homologue IGF-2 B11-25 se lient avec la même affinité à DQ8, un allèle HLA de classe II qui confère une susceptibilité majeure au diabète de type 1. La présentation de la séquence IGF-2 B11-25 aux PBMCs de patients DQ8+ diabétiques de type 1 produit un profil de sécrétion en cytokines de type régulateur/suppressif. Par cette double action (compétition pour une liaison à une protéine CMH de susceptibilité et réponse T tolérogène/régulatrice en aval), les séquences d'IGF-2 homologues des séquences auto-antigéniques de l'insuline peuvent servir de base à un nouveau type d'approche immunothérapeutique pour la prévention du diabète de type 1.

en compétition pour la liaison à la molécule HLA-DQ8. Par la technique d'Elispot (calcul du nombre de cellules sécrétant une cytokine précise), nous avons observé que, par rapport à Ins B9-23, la présentation d'IGF-2 B11-25 induit un profil tolérogène caractérisé par un nombre plus élevé de cellules sécrétant l'IL-10 (cytokine suppressive et régulatrice puissante), une augmentation significative du rapport IL-10/IFN- γ , et une importante diminution de la sécrétion d'IL-4 (cytokine responsable de la stimulation de la réponse humorale B). Par rapport à l'insuline très immunogène et dépourvue de propriétés tolérogènes, l'IGF-2 constitue donc un choix approprié pour une approche tolérogène innovatrice associant à la fois une compétition au niveau de la poche de présentation des protéines HLA liées au diabète de type 1, et une réponse régulatrice/suppressive en aval de cette présentation (Fig. 2). Un nouveau type de vaccin « négatif » ou tolérogène efficace contre le diabète de type 1 pourrait ainsi combiner les épitopes dominants d'IGF-2 (homologue thymique de l'insuline), de GAD67 (isoforme thymique homologue de GAD65), et de la protéine issue de l'épissage alternatif de IA2, spécifique du thymus.

REMERCIEMENTS

Nos travaux de recherche sont soutenus par le Fonds Spécial de Recherche de l'ULg, la Fondation Léon Fredericq de la Faculté de Médecine et du CHU de Liège, le FNRS, le FRIA, la Fédération Belge contre le Cancer, la Fondation Vaugrenier pour la Recherche en Tolérance (Genève), par l'European Foundation for the Study of Diabetes (EFSD, Düsseldorf), et par le 6e Programme Cadre de l'Union Européenne (Contrat LSHB-2003-CT-503410 du Projet Intégré Euro-Thymaïde). Nous remercions vivement le Professeur Jean-Pierre Bourguignon, les Docteurs Marie-Christine Lebrethon et Danièle Brumioul-Rocourt (Service d'Endocrinologie pédiatrique, CHR Citadelle) pour leur aide précieuse dans le recrutement d'adolescents diabétiques de type 1 DQ8+ et non DQ8.

RÉFÉRENCES

1. Gepts W— Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*, 1965, **14**, 619-633
2. Gale EAM.— The discovery of type 1 diabetes. *Diabetes*, 2001, **50**, 217-226
3. Roep BO.— The role of T-cells in the pathogenesis of type 1 diabetes : from cause to cure. *Diabetologia*, 2003, **46**, 305-321

4. Geenen V, Brilot F, Hansenne I, et al.— Thymus and T cells. In : Adelman G, Smith BH, eds., *Encyclopedia of Neuroscience 3rd Edition CD-Rm*. New York: Elsevier, 2004, ISBN 0-444-51432-5
5. 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
6. Geenen V, Lefèbvre PJ.— The intrathymic expression of insulin-related genes: implications for pathophysiology and prevention of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Rev*, 1998, **14**, 95-103
7. Kecha O, Brilot F, Martens H, et al.— Involvement of insulin-like growth factors in early T cell development: a study using fetal thymic organ cultures. *Endocrinology*, 2000, **141**, 1209-1217
8. 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**, 312-317
9. Kyewski B, Klein L.— «Promiscuous» expression of tissue antigens in the thymus : a key to T-cell tolerance and autoimmunity ? *J Mol Med*, 2000, **78**, 483-494
10. 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
11. 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
12. Todd JA.— Genetic analysis of type 1 diabetes using whole genome approaches. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**, 8560-8565
13. Vafiadis P, Bennett ST, Todd JA, et al.— Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus. *Nat Genet*, 1997, **15**, 289-292
14. Pugliese A, Zeller M, Fernandez Ajr, 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**, 293-297
15. Brilot F, Geenen V.— Le rôle des virus dans la pathogénie du diabète de type 1. *Rev Med Liège*, 2005, **60**, 297-302.
16. Brilot F, Chehadah W, Charlet-Renard C, et al.— Persistent infection of human thymic epithelial cells by coxsackievirus B4. *J Virol*, 2002, **76**, 5260-5265
17. Brilot F, Geenen V, Hober D, et al.— Coxsackievirus B4 infection of human fetal thymus cells. *J Virol*, 2004, **78**, 9854-9861.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Prof. V. Geenen, Institut de Pathologie, Centre d'Immunologie, CHU Sart Tilman, B23, 4000 Liège