

การติดเชื้อ rotavirus กับการก่อให้เกิดโรคเบาหวานในเด็ก

ไพโรจน์ จงบุญญติเจริญ

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานในเด็ก หรือ Diabetes mellitus type 1 (DT1) มีอุบัติการณ์สูงขึ้นมากถึงเกือบร้อยละ 3 ต่อปีทั่วโลก ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา แสดงว่านอกจากปัจจัยทางพันธุกรรมแล้ว ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ มีผลต่อการเกิด DT1 ด้วยการติดเชื้อไวรัส rubella, mumps, parvovirus, cytomegalovirus, enterovirus, coxsackie และ rotavirus สัมพันธ์กับ DT1 โดยมีกลไกการเกิดโรคจากการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภูมิคุ้มกันของร่างกาย (autoimmune) ไปทำลายเซลล์เบต้าซึ่งมีหน้าที่ผลิต insulin และมีปัจจัยทางด้านพันธุกรรมร่วมด้วย (genetically susceptible individual) Rotavirus (RV) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคอุจจาระร่วงในเด็กและน่าจะมีส่วนก่อให้เกิด DT1 เพราะพบเชื้อ RV ในเซลล์เบต้า รวมทั้งมีข้อมูลทางระบาดวิทยา กลไกการก่อโรค DT1 ด้าน molecular mimicry, epitopes spreading, bystander activation, virus-specific T cells และ intestinal permeability ความรู้เกี่ยวกับกลไกการเกิดโรคเบาหวานน่าจะเกิดประโยชน์ในอนาคตโดยมีความหวังว่าจะสามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรคเบาหวานในเด็กได้

คำสำคัญ: โรคเบาหวานในเด็ก / autoimmunity

Rotavirus infections : An etiology of diabetes mellitus type 1

Pairoj Chongbanyatcharoen✉

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

ABSTRACT

During the last decades, the incidence of diabetes mellitus type 1 (DT1) has increased significantly, reaching of 3% annually worldwide. This increase suggests that in addition to genetic factor, environmental factors are also involved in the pathogenesis of DT1. Childhood viral infections including rubella, mumps, parvovirus, cytomegalovirus, enterovirus, coxsakie and rotavirus have been associated with DT1, establishing the onset of autoimmunity. The pathogenesis of DT1 is that altered immune responses lead to a selective destruction of insulin-producing beta cells in genetically susceptible individuals. Rotaviruses (RV), which are the main cause of diarrhea in children, seem to have a role in induction of DT1 since there is a persistence of RV in the pancreas. Molecular mimicry, epitopes spreading, bystander activation, viral specificity to T cells, increasing intestinal permeability were hypothesized to account for RV ability to induce autoimmunity to destruct beta cells and cause DT1. Understanding of etiologic mechanisms will lead to the development of strategies to prevent DT1 in the future.

Keywords: diabetes mellitus type 1 / autoimmunity

Pairoj chongbanyatcharoen✉

Department of Pediatrics,

Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

62 Moo 7 Ongkharak, Nakhon-nayok, 26120, Thailand.

Telephone; 0-3739-5085 ext 10920

บทนำ

American Diabetes Association Expert Committee และ World Health Organization Consultation แบ่งโรคเบาหวานในเด็กเป็นสอง subtype คือเกิดจากภูมิคุ้มกัน (type 1A) และไม่ทราบสาเหตุ (type 1B)¹ type 1A เป็นโรคเบาหวานที่เกิดจากหลายปัจจัย (multifactorial disease) โดยเป็นผลจากปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม^{2,3} กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายทำลายเซลล์เบต้าและมีปัจจัยด้านพันธุกรรมร่วมด้วย (genetically susceptible individual)⁴ type 1B เป็นเบาหวานชนิด heterogenous insulin deficient โดยการทำลายเซลล์เบต้าไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันของร่างกาย^{1,5,6} การพบ autoantibodies หลายชนิดในเด็กก่อนจะป่วยเป็นโรค และผู้ป่วยเด็กที่เริ่มเป็น DT1 (type 1A) แสดงว่าสาเหตุการเกิดโรคน่าเป็นจากภูมิคุ้มกัน^{1,7} และการให้ immunotherapy ช่วยป้องกันการเกิดโรคเบาหวานในสัตว์ทดลอง สันนิษฐานว่า DT1 (type 1A) เกิดจากภูมิคุ้มกัน² การพบ autoantibodies หลายชนิดต่อเซลล์เบต้าในเด็ก อาจพยากรณ์ได้ว่า จะเกิดโรคเบาหวาน autoimmunity เริ่มแรกจะพบ insulin autoantibodies (IAA) ก่อนแล้วจะพบ antibodies ต่อ beta cell antigens^{4,8} การพบ antibody เพียงตัวเดียวมักเป็นเพียงชั่วคราวและหายได้เอง การพบ antibodies อย่างน้อย 2 ตัว สัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวาน^{4,9}

พันธุกรรมและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน

พันธุกรรมมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรคเบาหวาน human leukocyte antigens (HLA)¹⁰ สัมพันธ์กับการเกิดโรคถึงร้อยละ 50 Redondo และคณะ¹¹ พบ autoantibody ของแฝดชนิด dizygote และผู้ป่วยโรคเบาหวานที่เป็นพี่น้องกันไม่แตกต่างกัน แต่พบ autoantibody ต่อเซลล์เบต้าสูงกว่าในแฝดชนิด monozygote สันนิษฐานว่าปัจจัยทางด้านพันธุกรรมมีผลต่อการเกิดโรคเบาหวานสอดคล้องกับ Hyttinen และคณะ¹² ที่พบแฝดชนิด monozygote มี autoantibody ต่อเซลล์เบต้าร้อยละ 27.3 แฝดชนิด dizygote ร้อยละ 3.8 แสดงว่าปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมต้องมีผลต่อการเกิดโรคเบาหวาน^{12,13} และการพบอุบัติการณ์ของโรคเบาหวานสูงขึ้นมาก ในกลุ่มเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปี ซึ่งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมเพียงอย่างเดียวไม่สามารถอธิบายอุบัติการณ์ของโรคเบาหวานที่สูงขึ้นมากในเด็กอายุน้อยลงในช่วงราว 2 ทศวรรษที่ผ่านมา ดังนั้นปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมน่าจะเป็นสาเหตุ โดยเฉพาะปัจจัยที่เกิดในช่วงแรกของชีวิต^{14,15,16,17}

ไวรัสกับการเกิดโรคเบาหวาน

ได้มีการศึกษาว่าเชื้อโรคต่างๆ อาจมีผลต่อการเกิดโรคเบาหวานเพราะอุบัติการณ์ของโรคเบาหวานแตกต่างกันตามฤดูกาลและยังพบมีการระบาดของโรคเบาหวานเช่นใน

ประเทศโปแลนด์และประเทศจีน แสดงว่า ปัจจัยทางด้านการติดเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เชื้อไวรัสที่น่าจะมีบทบาทสำคัญ^{2,14,18,19,20,21} เชื้อไวรัสหลายชนิดพบว่าสามารถอยู่ในตับอ่อนและยังแบ่งตัวได้ขณะที่เป็นโรคเบาหวาน^{22,23,24} เชื้อโรคอาจก่อให้เกิดโรคเบาหวานได้ หลายกลไก เช่น การทำลายเซลล์เบต้าโดยตรง หรือการกระตุ้นให้เกิด autoimmune และอีกหลายกลไก^{20, 21} ในผู้ป่วยโรคตับอ่อนอักเสบ จากเชื้อไวรัส เชื้อที่เป็นสาเหตุสามารถทำลาย เซลล์เบต้าทำให้เกิดการขาด insulin และเกิดโรคเบาหวานตามมาได้โดยไม่มี การกระตุ้น ภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็นกลไกอธิบายการเกิดโรคเบาหวานชนิด type 1B ผู้ป่วยชนิดนี้มักมา ด้วยอาการของไข้หวัดแล้วจึงมีอาการของโรคเบาหวานตามมาแสดงว่ากลไกการเกิดโรคน่าจะเป็นจากการติดเชื้อโดยตรง^{6,9} ในหลอดทดลองเชื้อ rubella virus (RUV) ติดเข้าไปในเซลล์เบต้าของคนได้ และเชื้อยังสามารถทำให้เกิด hyperglycemia และ hypoinsulinemia ได้ในสัตว์ทดลอง^{25, 26} เป็นที่มาของสมมุติฐานว่าเชื้อ RUV สามารถก่อให้เกิดโรคเบาหวานได้^{25,27} แต่การติดเชื้อ RUV ใน cell culture โดยไม่พบพยาธิสภาพที่เซลล์²⁸ เป็นข้อขัดแย้งว่า เชื้อสามารถทำให้เกิดโรคเบาหวานได้หรืออาจไม่เกี่ยวข้องกัน อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วย congenital rubella syndrome (CRS) ที่เป็นโรคเบาหวานมีรายงานพบ autoantibodies 20%-25% แต่จากศึกษาในประเทศญี่ปุ่น ผู้ป่วย CRS ที่เป็นโรคเบาหวานทุกรายพบ autoantibodies ต่อเซลล์เบต้า²⁹ ปัจจุบันเชื้อ

RUV เป็นเชื้อเพียงตัวเดียวซึ่งเข้าได้กับเกณฑ์ การวินิจฉัยว่าสัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวาน^{20,27} อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบกลไกการก่อโรคแน่ชัดการติดเชื้อไวรัสในตับอ่อนสามารถกระตุ้น autoimmunity ได้หลายกลไก เช่น epitope spreading, bystander activation, molecular mimicry, activation of antigen presenting cell และ virus-specific T cells ทำให้มีการหลั่ง cytokines, tumor necrosis factor- beta และ nitric oxide มาทำลายเซลล์เบต้า^{3, 21, 30, 31, 32} ในหลอดทดลองเด็กที่เป็นโรคเบาหวานมักจะมี ภูมิคุ้มกันบกพร่องต่อไวรัสชนิด type 1^{33,34,35,36} Flodstrom และคณะ³⁷ พบว่าเชื้อ coxsackievirus B3 ก่อให้เกิดโรคเบาหวานในหนูที่ขาด interferon เพราะฉะนั้นนอกจาก autoimmunity แล้วความผิดปกติของ ภูมิคุ้มกัน^{29, 38, 39} ก็น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับ การก่อให้เกิดโรคด้วย

Rota viruses (RV)

RV เป็นสาเหตุสำคัญของโรคอุจจาระร่วงในเด็กทั่วโลก⁴⁰ การศึกษาส่วนใหญ่มักบอกเพียงว่าเชื้อจะทำลายเยื่อบุลำไส้เล็กและเป็นเหตุให้เกิดโรคอุจจาระร่วง แต่มีรายงานว่าพบ viremia จากเชื้อ RV และ RV ยังสามารถแบ่งตัวนอกลำไส้ได้^{21,41-43} ในสัตว์ทดลอง RV ก่อให้เกิดโรคคนนอกลำไส้ได้⁴⁴ จากการรวบรวมหลักฐานบ่งชี้ว่าเชื้อ RV สามารถกระตุ้นให้เกิด autoimmunity มาทำลายเบต้าเซลล์จนเกิดโรคเบาหวานได้และระบาดวิทยาของเชื้อ RV

สัมพันธ์กับโรคเบาหวานที่พบมากขึ้นในเด็กอายุน้อยกว่า 4 ปี⁴⁰ Honeyman และคณะ³² ในออสเตรเลียได้ติดตามเด็กที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานตั้งแต่เกิดพบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการติดเชื้อ RV และ autoimmunity หลายตัว แต่จากการศึกษาในประเทศฟินแลนด์⁴⁵ ไม่พบความสัมพันธ์นี้อาจเป็นจากความแตกต่างของ serotypes ของเชื้อ RV ที่ใช้ทดลองและวิธีการที่ใช้ทางห้องปฏิบัติการแตกต่างกัน^{32,45,46} ในระดับโมเลกุลมี molecular mimicry เช่น แอนติเจนของเซลล์เบต้าคล้ายกับโปรตีน VP7 ของเชื้อ RV G3 และ immunodominant T cell epitope ของ tyrosine phosphatase related IA-2 molecule เหมือนกับ sequence ของโปรตีน VP7 ร้อยละ 56 ถ้าเปรียบเทียบโครงสร้างโปรตีนของ RV กับแอนติเจนของเซลล์เบต้าพบว่ามีความคล้ายกันร้อยละ 100^{13,47} เพราะความเหมือนนี้การติดเชื้อ RV อาจกระตุ้น T cells ไปทำลายเซลล์เบต้า ได้การติดเชื้อ RV อาจก่อให้เกิดการอักเสบของตับอ่อนเนื้อเยื่อถูกทำลายเป็น antigens จะกระตุ้น autoimmunities และสามารถกระจายไปยัง epitopes อื่นๆ^{48,49} ทำให้เกิด DT1 กลไก bystander mechanisms³⁰ เช่น การหลั่ง cytokine และการกระตุ้น T cells นอกจากนี้เชื้อ RV ยังกระตุ้น cellular immunity^{46,50} แต่การกระตุ้น T cells ในเด็กจะมีการตอบสนองน้อยและเป็นระยะสั้นๆ⁵¹ ทำให้กำจัดเชื้อได้เข้าเป็นเหตุให้เชื้อ RV แพร่ร่อนนอกกล้าได้และ

โอกาสที่เชื้อ RV จะติดต่อไปที่เซลล์เบต้าสูงขึ้นซึ่งเป็นกลไกที่ใช้อธิบายการติดเชื้อเช่นเดียวกับ coxsackievirus B4³⁹ แต่ในผู้ใหญ่การตอบสนองของ cellular immunity ดีทำให้กำจัดเชื้อได้เร็วจึงไม่เกิดการแพร่ร่อนกล้าได้⁵² การเปลี่ยนแปลงของ intestinal permeability อาจมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคเบาหวาน VP4 และ VP7 เป็น virulence factors ของเชื้อ RV VP4 ต้องใช้ pancreatic trypsin จึงจะเกิดการแตกตัวเป็น VP5 และ VP8 โดยเฉพาะ VP8 สามารถเปลี่ยนแปลง tight junction และเพิ่ม epithelial permeability^{53,54} การเสีย barrier function จะทำให้ร่างกายมีโอกาสถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนมากขึ้น กรณีเด็กที่เคยติดเชื้อ adenovirus, enterovirus, หรือ RV ในลำไส้ก่อนอายุ 6 เดือนเชื้อสามารถกระตุ้นให้เกิด antibody ต่อ insulin โดยแอนติเจนคือ insulin ในนมวัวก่อนเกิด autoimmunity ต่อเซลล์เบต้าและก่อให้เกิดโรคเบาหวาน⁵⁵ ถ้าการติดเชื้อไวรัสในเด็กอายุน้อยก่อให้เกิดการเพิ่ม intestinal permeability กระตุ้นให้มี autoimmunity และเกิดโรคเบาหวานดังที่ได้กล่าวมาแล้วดังนั้นการกินนมแม่น่าจะเป็นการป้องกันให้ร่างกายไม่ถูกกระตุ้นโดย insulin ในนมวัว และเป็นที่ทราบกันดีว่านมแม่ช่วยป้องกันการติดเชื้อ จึงช่วยป้องกันโรคเบาหวานได้ แต่มีหลายรายงานยังขัดแย้งยังสรุปไม่ได้⁴¹ ในสัตว์ทดลองมีรายงานว่าพบเชื้อ RV ในหลายอวัยวะแม้มีภูมิคุ้มกันจากแม่หรือมีภูมิคุ้มกันจากวัคซีน⁴⁴ การติดเชื้อ RV ที่ตับอ่อนเป็นกลไกทำให้เกิดโรคเบาหวานเช่นเดียวกับเชื้อ rubella virus

เพราะมีรายงานพบตับอ่อนอักเสบและน้ำตาลในเลือดต่ำสัมพันธ์กับการติดเชื้อ RV^{56,57} ถึงแม้ภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อ RV จะอยู่ในทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่⁵⁸ แต่พบ RV-specific memory CD4⁺ T cells สามารถกระตุ้นทำให้เกิดการทำลาย islets cell⁴⁷ การพบเชื้อ RV แบ่งตัวได้ในตับอ่อนของลิงและหนู แสดงว่ากลไกการเกิดโรคเป็นจากการติดเชื้อโดยตรงและร่วมกับการมี autoimmunity ทำให้เกิดโรคเบาหวาน²⁴ แต่จากการศึกษาของ Graham และคณะ⁵⁹ พบว่าการติดเชื้อ RV ในสัตว์ทดลองสามารถเร่งให้เกิดโรคเบาหวานในหนูที่มี specific T-cell receptor ของ islet autoantigen โดยการติดเชื้อ RV เป็นแบบไม่มีอาการและเชื้ออยู่เฉพาะในลำไส้ การพบเชื้อ RV อยู่ในเลือด ตับ ม้ามและตับอ่อน แต่ไม่พบ beta-cell autoimmunity ก่อนการติดเชื้อ RV เชื้อจะไม่กระตุ้นให้เกิดโรคเบาหวาน⁶⁰

สรุป

ถึงแม้จะมีหลักฐานว่ากลไกการเกิดโรคเบาหวานสัมพันธ์กับการติดเชื้อหลายชนิดในลำไส้รวมทั้งเชื้อ RV แต่จากการศึกษายังมีข้อขัดแย้ง การเกิดโรคน่าจะเกิดจากหลายปัจจัย โดยมีปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม การติดเชื้อ RV อาจทำลายเซลล์เบต้าโดยตรงหรือโดยอาศัยกลไก autoimmunity เกิดจาก pancreatic trypsin ทำให้เกิด RV VP8 กระตุ้น intestinal permeability ทำให้ barrier function เสีย insulin จากนมวัว กระตุ้นเกิด autoantibody

ร่วมกับการทำลายเซลล์เบต้า โดย autoimmunities อื่น ๆ ซึ่งถูกกระตุ้นโดยหลายกลไกที่เป็นไปได้มี molecular mimicry, cellular immunity, bystander activation และ epitope spreading และความสัมพันธ์ระหว่างอุบัติการณ์ของ DT1 พบมากขึ้นในเด็กอายุน้อยกว่า 4 ปี กับการติดเชื้อ RV ร่วมกับกลไกการเกิด DT1 ช่วยอธิบายได้ว่าการเกิด DT1 มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ RV ดังนั้นการส่งเสริมให้เลี้ยงลูกด้วยนมแม่จะเป็นการช่วยให้ไม่ถูกกระตุ้นโดย insulin จากนมวัว และนมแม่ยังช่วยป้องกันการติดเชื้อ โอกาสที่จะเกิดโรคเบาหวานน่าจะลดลงและการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคโดยการให้ RV vaccine นอกจากจะช่วยลดความรุนแรงของโรค อุจจาระร่วงแล้ว ยังอาจจะช่วยป้องกันการเกิดโรคเบาหวานในเด็กได้

References

1. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
2. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyoty H, Vaarala O, Akerblom HK. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005;54 Suppl 2:S125-36.
3. Peng H, Hagopian W. Environmental factors in the development of Type 1

- diabetes. *Rev Endocr Metab Disord* 2006;7:149-62.
4. Kukko M, Kimpimaki T, Kupila A, et al. Dynamics of diabetes-associated autoantibodies in young children with human leukocyte antigen-conferred risk of type 1 diabetes recruited from the general population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2712-7.
 5. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM Study Group. *N Engl J Med* 2000;342:301-7.
 6. Kawasaki E, Matsuura N, Eguchi K. Type 1 diabetes in Japan. *Diabetologia* 2006;49:828-36.
 7. Knip M. Disease-associated autoimmunity and prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Med* 1997;29:447-51.
 8. Schlosser M, Koczwara K, Kenk H, et al. In insulin-autoantibody-positive children from the general population, antibody affinity identifies those at high and low risk. *Diabetologia* 2005;48:1830-2.
 9. Kimpimaki T, Kulmala P, Savola K, et al. Natural history of beta-cell autoimmunity in young children with increased genetic susceptibility to type 1 diabetes recruited from the general population. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4572-9.
 10. Gorodezky C, Alaez C, Murguia A, et al. HLA and autoimmune diseases: Type 1 diabetes (T1D) as an example. *Autoimmun Rev* 2006;5:187-94.
 11. Redondo MJ, Rewers M, Yu L, et al. Genetic determination of islet cell autoimmunity in monozygotic twin, dizygotic twin, and non-twin siblings of patients with type 1 diabetes: prospective twin study. *BMJ* 1999;318:698-702.
 12. Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomilehto J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study. *Diabetes* 2003;52:1052-5.
 13. Honeyman MC, Brusica V, Stone NL, Harrison LC. Neural network-based prediction of candidate T-cell epitopes. *Nat Biotechnol* 1998;16:966-9.
 14. Gale EA. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes* 2002;51:3353-61.

15. Kim MS, Polychronakos C. Immunogenetics of type 1 diabetes. *Horm Res* 2005;64:180-8.
16. Eisenbarth GS. Insulin autoimmunity: immunogenetics/immunopathogenesis of type 1A diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1005:109-18.
17. Couper JJ. Environmental triggers of type 1 diabetes. *J Paediatr Child Health* 2001;37:218-20.
18. Rewers M, LaPorte RE, Walczak M, Dmochowski K, Bogaczynska E. Apparent epidemic of insulin-dependent diabetes mellitus in Midwestern Poland. *Diabetes* 1987;36:106-13.
19. Yang Z, Long X, Shen J, et al. Epidemics of type 1 diabetes in China. *Pediatr Diabetes* 2005;6:122-8.
20. Lammi N, Karvonen M, Tuomilehto J. Do microbes have a causal role in type 1 diabetes? *Med Sci Monit* 2005;11:RA63-9.
21. van der Werf N, Kroese FG, Rozing J, Hillebrands JL. Viral infections as potential triggers of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2007;23:169-83.
22. Yoon JW, Austin M, Onodera T, Notkins AL. Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med* 1979;300:1173-9.
23. Elshebani A, Olsson A, Westman J, Tuvemo T, Korsgren O, Frisk G. Effects on isolated human pancreatic islet cells after infection with strains of enterovirus isolated at clinical presentation of type 1 diabetes. *Virus Res* 2007;124:193-203.
24. Coulson BS, Witterick PD, Tan Y, et al. Growth of rotaviruses in primary pancreatic cells. *J Virol* 2002;76:9537-44.
25. Forrest JM, Turnbull FM, Sholler GF, et al. Gregg's congenital rubella patients 60 years later. *Med J Aust* 2002;216:177:664-7.
26. Menser MA, Forrest JM, Honeyman MC, Burgess JA. Letter: Diabetes, HLA antigens, and congenital rubella. *Lancet* 1974 21;2:1508-9.
27. Honeyman M. How robust is the evidence for viruses in the induction of type 1 diabetes? *Curr Opin Immunol* 2005;17:616-23.
28. Numazaki K, Goldman H, Wong I, Wainberg MA. Infection of cultured human fetal pancreatic islet cells by rubella virus. *Am J Clin Pathol* 1989;91:446-51.

29. Takasu N, Ikema T, Komiya I, Mimura G. Forty-year observation of 280 Japanese patients with congenital rubella syndrome. *Diabetes Care* 2005;28:2331-2.
30. Fujinami RS, von Herrath MG, Christen U, Whitton JL. Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:80-94.
31. Filippi C, von Herrath M. How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cell Immunol* 2005;233:125-32.
32. Honeyman MC, Coulson BS, Stone NL, et al. Association between rotavirus infection and pancreatic islet autoimmunity in children at risk of developing type 1 diabetes. *Diabetes* 2000;49:1319-24.
33. Varela-Calvino R, Sgarbi G, Arif S, Peakman M. T-Cell reactivity to the P2C nonstructural protein of a diabetogenic strain of coxsackievirus B4. *Virology* 2000;15;274:56-64.
34. Juhela S, Hyoty H, Roivainen M, et al. T-cell responses to enterovirus antigens in children with type 1 diabetes. *Diabetes* 2000;49:1308-13.
35. Kukreja A, Cost G, Marker J, et al. Multiple immuno-regulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* 2002;109:131-40.
36. Lohmann T, Laue S, Nietzschmann U, et al. Reduced expression of Th1-associated chemokine receptors on peripheral blood lymphocytes at diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes* 2002 ;51:2474-80.
37. Flodstrom M, Tsai D, Fine C, Maday A, Sarvetnick N. Diabetogenic potential of human pathogens uncovered in experimentally permissive beta-cells. *Diabetes* 2003;52:2025-34.
38. Ou D, Mitchell LA, Metzger DL, Gillam S, Tingle AJ. Cross-reactive rubella virus and glutamic acid decarboxylase (65 and 67) protein determinants recognised by T cells of patients with type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000;43:750-62.
39. Skarsvik S, Puranen J, Honkanen J, et al. Decreased in vitro type 1 immune response against coxsackie virus B4 in children with type 1 diabetes. *Diabetes* 2006;55:996-1003.
40. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by

- rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003;9:565-72.
41. Chiappini E, Azzari C, Moriondo M, Galli L, de Martino M. Viraemia is a common finding in immunocompetent children with rotavirus infection. *J Med Virol* 2005;76:265-7.
42. Chiappini E, Galli L, de Martino M. Viremia and clinical manifestations in children with rotavirus infection. *J Infect Dis* 2006;193:1333.
43. Honeyman MC, Stone NL, Harrison LC. T-cell epitopes in type 1 diabetes autoantigen tyrosine phosphatase IA-2: potential for mimicry with rotavirus and other environmental agents. *Mol Med* 1998;4:231-9.
44. Crawford SE, Patel DG, Cheng E, et al. Rotavirus viremia and extraintestinal viral infection in the neonatal rat model. *J Virol* 2006;80:4820-32.
45. Blomqvist M, Juhela S, Erkkila S, et al. Rotavirus infections and development of diabetes-associated autoantibodies during the first 2 years of life. *Clin Exp Immunol* 2002;128:511-5.
46. Coulson BS, Grimwood K, Masendycz PJ, et al. Comparison of rotavirus immunoglobulin A coproconversion with other indices of rotavirus infection in a longitudinal study in childhood. *J Clin Microbiol* 1990;28:1367-74.
47. Hanninen A, Nurmela R, Maksimow M, Heino J, Jalkanen S, Kurts C. Islet beta-cell-specific T cells can use different homing mechanisms to infiltrate and destroy pancreatic islets. *Am J Pathol* 2007;170:240-50.
48. Lehmann PV, Forsthuber T, Miller A, Sercarz EE. Spreading of T-cell autoimmunity to cryptic determinants of an autoantigen. *Nature* 1992;358:155-7.
49. Lehmann PV, Sercarz EE, Forsthuber T, Dayan CM, Gammon G. Determinant spreading and the dynamics of the autoimmune T-cell repertoire. *Immunol Today* 1993;14:203-8.
50. Makela M, Marttila J, Simell O, Ilonen J. Rotavirus-specific T-cell responses in young prospectively followed-up children. *Clin Exp Immunol* 2004;37:173-8.
51. Offit PA, Hoffenberg EJ, Santos N, Gouvea V. Rotavirus-specific humoral and cellular immune response after primary, symptomatic infection. *J Infect Dis* 1993;167:1436-40.
52. Jaimes MC, Rojas OL, Gonzalez AM, et al. Frequencies of virus-specific

- CD4(+) and CD8(+) T lymphocytes secreting gamma interferon after acute natural rotavirus infection in children and adults. *J Virol* 2002;76:4741-9.
53. Lopez S, Arias CF. Multistep entry of rotavirus into cells: a Versaillesque dance. *Trends Microbiol* 2004;12:271-8.
54. Nava P, Lopez S, Arias CF, Islas S, Gonzalez-Mariscal L. The rotavirus surface protein VP8 modulates the gate and fence function of tight junctions in epithelial cells. *J Cell Sci* 2004;117:5509-19.
55. Makela M, Vaarala O, Hermann R, et al. Enteric virus infections in early childhood and an enhanced type 1 diabetes-associated antibody response to dietary insulin. *J Autoimmun* 2006;27:54-61.
56. De La Rubia L, Herrera MI, Cebrero M, De Jong JC. Acute pancreatitis associated with rotavirus infection. *Pancreas* 1996;12:98-9.
57. Nigro G. Pancreatitis with hypoglycemia-associated convulsions following rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12:280-2.
58. Rott LS, Rose JR, Bass D, Williams MB, Greenberg HB, Butcher EC. Expression of mucosal homing receptor alpha4beta7 by circulating CD4+ cells with memory for intestinal rotavirus. *J Clin Invest* 1997;100:1204-8.
59. Graham KL, Sanders N, Tan Y, Allison J, Kay TW, Coulson BS. Rotavirus infection accelerates type 1 diabetes in mice with established insulinitis. *J Virol* 2008;82:6139-49.
60. Graham KL, O'Donnell JA, Tan Y, et al. Rotavirus infection of infant and young adult nonobese diabetic mice involves extraintestinal spread and delays diabetes onset. *J Virol* 2007;81:6446-58.