

Variants génétiques associés au diabète de type 1 et contrôle de l'expression du récepteur de l'IL-2

Vincent Plagnol

Juvenile Diabetes Research Foundation/Wellcome Trust
Diabetes and Inflammation Laboratory,
Cambridge Institute for Medical Research,
University of Cambridge, Addenbrooke's hospital,
Hills Road, CB2 0XY Cambridge, Royaume-Uni.
vincent.plagnol@cimr.cam.ac.uk

> Un enjeu essentiel de la génétique consiste à faire le lien entre l'ADN d'un individu et ses caractéristiques, par exemple la probabilité qu'il a de développer une maladie mais aussi des caractéristiques morphologiques comme sa taille ou son poids. Pour atteindre cet objectif, le génotypage de milliers, voire de millions de marqueurs génétiques a permis l'avènement des études cas-témoins, que la récente diminution drastique des coûts rend plus accessible [1]. Cette approche consiste à comparer les génomes de milliers d'individus atteints par une maladie (cas) avec des individus contrôles (témoins) afin d'identifier leurs différences. Cette révolution est la source d'innombrables publications dans de prestigieuses revues comme *Nature* et surtout *Nature Genetics*, qui dédie une large fraction de sa table des matières à ce sujet. Cependant, dans la plupart des cas, ces variants ont des effets trop faibles pour pouvoir estimer avec précision la probabilité de développer les maladies qui leur sont associées. Cela explique en grande partie que la communauté scientifique reste divisée sur l'impact médical de ces découvertes. Pour beaucoup de généticiens, la question clé est maintenant de savoir comment profiter de ces découvertes fondamentales pour faire avancer la recherche médicale appliquée [5].

L'hypothèse de travail : rechercher un lien entre variant génétique et risque de la maladie chez les sujets sains

Notre travail collaboratif, récemment publié dans *Nature Genetics* [2] et mené

par Calliope Dendrou et Linda Wicker, prend comme point de départ la liste de 42 variants génétiques (pour l'essentiel des polymorphismes nucléotidiques simples ou SNP [3]) fréquents dans la population (détectés chez au moins 10 % des individus) et qui ont été associés au risque de développer un diabète de type 1. Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune incurable qui affecte un individu sur 200 au Royaume-Uni et qui rend les patients dépendants d'injections journalières d'insuline pour leur survie. Les mécanismes qui sont à l'origine de cette réaction auto-immunitaire restent très mal compris : les cellules T CD8⁺ sont responsables de la destruction des cellules pancréatiques bêta, mais il ne fait aucun doute que de multiples compartiments du système immunitaire sont impliqués. S'il était possible de démontrer que ces allèles associés au risque de diabète affectent une population spécifique de cellules immunitaires, on pourrait alors impliquer avec un degré important de certitude cette population dans le développement de la maladie, une information qui serait importante pour mieux cibler les futurs traitements.

La stratégie que nous avons utilisée pour identifier les effets de ces SNP consiste à corrélérer la présence de ces allèles avec des paramètres quantifiables, par exemple la mesure de protéines au niveau cellulaire, dans des échantillons suffisamment larges d'individus. Intuitivement, on pourrait penser que de telles corrélations doivent être observées chez des individus

diabétiques. Cependant, nous avons un point de vue un peu différent : nous pensons qu'à un stade avancé de la maladie, les mécanismes immunitaires sont probablement différents de ceux qui interviennent aux stades initiaux. Pour cette raison, plutôt que de travailler sur des échantillons prélevés chez des individus diabétiques, nous avons préféré nous intéresser à des individus sains, et explorer en quoi cette variabilité génétique pouvait modifier leur système immunitaire.

Le choix du paramètre quantifiable (le récepteur alpha de l'IL-2) et de la population test

La question est de savoir comment attaquer ce problème : que mesurer et comment le mesurer ? Parmi les SNP dont un des deux allèles augmente le risque de développer le diabète de type 1, plusieurs affectent la production d'interleukine 2 (IL-2), un messager essentiel du système immunitaire, ou la réponse à cette cytokine. Pour cette raison, notre laboratoire s'intéresse au gène codant pour le récepteur alpha de l'IL-2 (IL-2RA), une composante importante de la réponse à l'IL-2. Cet intérêt est renforcé par le fait que parmi les 42 SNP publiés qui influencent le risque de développer un diabète de type 1, trois se situent à proximité de ce gène *IL2RA* dans la séquence de notre ADN [4].

La protéine IL-2RA est un récepteur localisé à la surface de plusieurs populations de cellules immunitaires. Notre hypothèse est que la quantité de

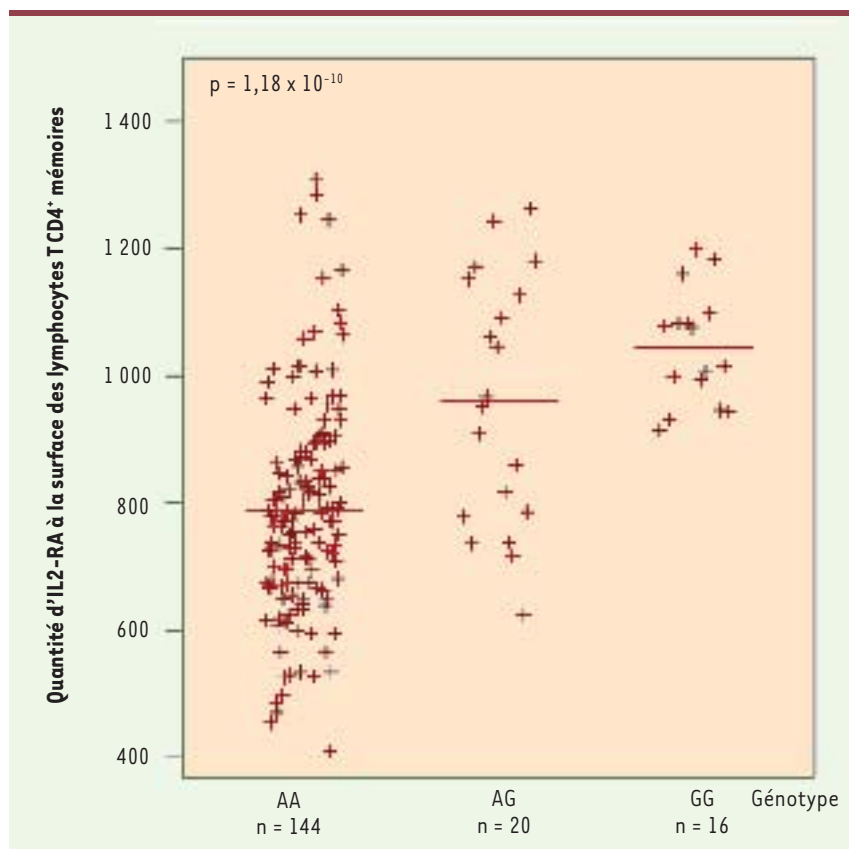


Figure 1. Lien entre quantité d'IL-2RA et présence des allèles porteurs du SNP. La quantité de récepteurs IL-2RA sur la surface des cellules T CD4⁺ mémoires est contrôlée par le génotype du SNP rs12722495, dont l'allèle G est associé avec une protection contre le diabète. Génotype : rs12722495 ; AA : risque ; GG : protection.

sence d'allèles protecteurs à un des trois SNP sélectionnés pour cette étude (en moyenne 30 % de récepteurs IL-2RA supplémentaires par allèle protecteur, voir *Figure 1*). Des effets similaires mais plus subtils ont aussi corrélé la présence d'un second SNP avec la quantité de récepteur IL-2RA dans deux autres populations de cellules : les lymphocytes T CD4⁺ naïfs et les monocytes. Cependant, les corrélations observées dans ces deux types de cellules vont dans le sens inverse du SNP précédent : les allèles protecteurs y sont associés à un nombre plus réduit de récepteurs IL-2RA. Quant au rôle du troisième SNP, nous ne l'avons pas encore déterminé.

Quelle interprétation ?

L'interprétation de ces résultats n'est pas évidente car il n'est pas certain que cette corrélation soit effectivement le facteur de risque pour la maladie. Cette explication est cependant probable et si elle est correcte, nous avons appris que ces allèles interviennent probablement en altérant la quantité de récepteurs IL-2RA. Mais surtout nous savons que ces trois populations (cellules T CD4⁺ mémoire, T CD4⁺ naïves et monocytes) jouent un rôle dans le développement du diabète. C'est donc une piste que nous essayons de suivre, en espérant que ce fil d'Ariane va nous mener aux mécanismes initiaux de la maladie qui, potentiellement, pourront faire l'objet de traitements. ♦

Haplotypes in the IL2RA region associated with diabetes and expression of the IL2RA protein on lymphocytes populations

récepteurs est partiellement contrôlée par les allèles correspondant aux trois SNP associés avec la maladie. Nous avons donc besoin d'une technique permettant de quantifier cette protéine IL-2RA. La technique qui s'est imposée est la cytométrie en flux qui permet la quantification de multiples protéines de surface, séparément dans chacune des cellules d'un échantillon sanguin. Pour nous donner une chance de détecter des effets potentiellement subtils, il était nécessaire de considérer des échantillons relativement grands. En conséquence, nous avons inclus 200 individus dans notre étude, un nombre compatible à la fois avec la précision demandée et le coût élevé de ces mesures.

Ces efforts sont compliqués par la rareté dans la population de certains allèles parmi ces trois SNP. Par exemple, pour un des trois SNP qui nous intéressent, la plupart des individus sont porteurs de l'allèle à risque et 1 % seulement sont porteurs des deux copies de l'allèle qui confère une protection

contre le diabète. Pour s'assurer d'une bonne représentation de tous les allèles parmi les 200 individus inclus dans l'étude, nous avons d'abord recruté, en collaboration avec plusieurs laboratoires de l'université de Cambridge, plus de 5 000 individus prêts à participer à une ou plusieurs études à but médical. L'ADN de ces individus a été extrait d'échantillons de salive et analysé. Nous avons ainsi identifié les individus porteurs des allèles rares qui nous intéressaient et nous leur avons proposé un prélèvement sanguin. Sans eux nos découvertes n'auraient pas été possibles et nous leur sommes extrêmement reconnaissants.

Un lien entre allèle protecteur et quantité d'IL-2RA

L'analyse des données que nous avons obtenues confirme notre hypothèse. Nous avons démontré qu'en effet, dans la sous-population de lymphocytes T CD4⁺ mémoires, le nombre de récepteurs IL-2RA augmente avec la pré-

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Wellcome Trust case control consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007 ; 447 : 661-78.
2. Dendrou C, Plagnol V, Fung E, et al. Cell-specific protein phenotypes for the autoimmune locus IL2RA using a genotype-selectable human bioresource. *Nat Genet* 2009 ; 41 : 1011-5.
3. Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, et al. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet* 2009 ; 41 : 703-7.
4. Lowe CE, Cooper JD, Brusko T, et al. Large-scale genetic fine mapping and genotype-phenotype associations implicate polymorphism in the IL2RA region in type 1 diabetes. *Nat Genet* 2007 ; 39 : 1074-82.
5. Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Froguel P. Avancées dans la génétique de la glycémie à jeun : quelles leçons pour le diabète ? *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 897-902.

NOUVELLE

L'acétylation des cohésines

Un sésame pour le passage des fourches de réplication

Marie-Émilie Terret

UMR7622, CNRS/université
Pierre et Marie Curie, bâtiment C,
9, quai Saint-Bernard, 75005 Paris, France.
marie-emilie.terret@snv.jussieu.fr

La cohésion entre les chromatides sœurs : le cycle des cohésines

Pour distribuer de manière égale le matériel génétique dans leur descendance, les cellules dupliquent leurs chromosomes en phase S du cycle cellulaire, reconnaissent le produit dupliqué en tant que chromatides sœurs, puis les ségrégent entre les deux cellules filles lors de la mitose [13]. À la fin de la période de réplication, les chromatides dupliqués sont appariés sur toute leur longueur. Ce lien, appelé cohésion, assure leur identification en tant que chromatides sœurs. D'un point de vue moléculaire, la cohésion dépend d'un complexe composé de quatre protéines, les cohésines Scc1, Scc3, Smc1, et Smc3 (Figure 1A). Les cohésines constituent un anneau qui promeut la proximité physique des molécules d'ADN synthétisées lors de la réplication. Les cohésines s'associent à l'ADN en phase G1, lors de la phase d'initiation de la cohésion. À ce stade, les cohésines associées à l'ADN ne sont pas encore fonctionnelles. Elles doivent être activées lors de la phase d'établissement de la cohésion. Ceci a lieu en phase S lors du passage de la fourche de réplication (Figure 1C) [14]. Chez les verté-

brés, les cohésines sont dissociées de l'ADN lors de la mitose en deux temps : en prophase au niveau des bras des chromosomes, puis lors de la transition métaphase-anaphase après clivage par la séparase. Le cycle des cohésines (association à l'ADN, activation, dissociation) peut alors recommencer (Figure 1B). Des protéines comme Wapl et Pds5 peuvent s'associer aux cohésines et réguler leur fonction, notamment en les déstabilisant. Le travail présenté dans cette nouvelle porte sur les liens entre établissement de la cohésion et réplication.

L'établissement de la cohésion entre les chromatides sœurs : rôle d'Eco1 et du complexe RFC^{Ctf18}

L'établissement de la cohésion se fait en phase S de façon concomitante à la fourche de réplication. Établissement de la cohésion et réplication sont donc deux processus intimement liés, même si peu de choses sont connues sur ce lien. Le diamètre de l'anneau formé par les cohésines est supposé être assez grand pour laisser passer la fourche de réplication (Figure 1A et C). Cependant, rien ne permet de déterminer si la fourche passe à travers l'anneau, ou

bien si l'anneau est ouvert puis refermé au passage de la fourche. Les protéines impliquées dans l'établissement de la cohésion sont connues, essentiellement grâce aux cribles génétiques menés chez la levure. Deux d'entre elles font l'objet de cette étude (pour une revue générale des autres facteurs, voir [1]).

Eco1

Eco1 est la seule protéine essentielle à l'établissement de la cohésion chez la levure. Chez l'homme, ses deux homologues, Eco1 et Eco2, sont aussi essentiels à ce processus [2]. Une corrélation a été établie entre la mutation d'Eco2 et une maladie touchant le développement des membres et associée à un retard mental : le syndrome de Roberts [3]. Eco1 est une acétyl transférase dont la cible est Smc3. C'est l'acétylation de Smc3 qui permet d'établir la cohésion [4-6]. Eco1 et l'acétylation de Smc3 s'opposent à l'activité déstabilisatrice de Wapl et Pds5a sur les cohésines [4, 7, 8].

Le complexe RFC^{Ctf18}

Les complexes RFC canoniques sont des composants des fourches de réplication, capables de fixer un clamp autour