

## Stress du réticulum endoplasmique et apoptose de la cellule bêta dans le diabète

### Chronique d'une mort annoncée

Decio L. Eizirik, Isabelle Millard

> Les cellules sécrétrices, telles que les cellules bêta pancréatiques, doivent faire face en permanence au défi que représente une synthèse protéique accrue. C'est ainsi que des cellules bêta exposées à de fortes concentrations de glucose augmentent de plus de dix fois leur production d'insuline, avec une synthèse hormonale représentant près de 50 % de la synthèse protéique totale. La traduction de la (pro)insuline et d'autres protéines sécrétées a lieu dans les ribosomes situés sur la surface cytosolique du réticulum endoplasmique (RE). La (pro)insuline nouvellement synthétisée est ensuite dirigée vers le réticulum endoplasmique, où elle va former des ponts disulfures et se replier selon sa structure tridimensionnelle caractéristique [1, 2]. Cette synthèse protéique très importante représente, à court et à long terme, une charge considérable pour le réticulum endoplasmique de la cellule bêta. D'une part, ces cellules doivent répondre à des exigences de production et de libération d'insuline en fonction des apports alimentaires [2], et, d'autre part, elles ont, chez l'homme, une durée de vie très longue (la population de cellules bêta est pratiquement établie dès l'enfance). Les cellules bêta de sujets obèses présentant une résistance à l'insuline doivent développer des mécanismes compensatoires sur de très longues périodes, afin de répondre aux besoins sans cesse croissants en insuline. Cela oblige les cellules bêta, tout comme d'autres cellules sécrétrices, à mettre en place des dispositifs de contrôle et de régulation de fonctionnement du réticulum endoplasmique.

### L'UPR (*unfolded protein response*) : une réponse au stress du réticulum endoplasmique

Les dispositifs de régulation du réticulum endoplasmique constituent une réponse adaptative, connue sous le nom de réponse UPR (*unfolded protein response*), et régie par des capteurs (protéines) transmembranaires du réticulum endoplasmique, dont le domaine luminal détecte de manière indirecte les protéines mal repliées dans le réticulum endoplasmique (stress du réticulum endoplasmique) tandis que le domaine cytosolique transmet l'information à des effecteurs cytosoliques et nucléaires (Figure 1). La réponse UPR a pour fonction de ralentir temporairement l'arrivée de nouvelles protéines dans le réticulum endoplasmique, d'augmenter les capacités de repliement de l'organite en stimulant la synthèse de protéines chaperones, et d'accroître la dégradation des protéines mal repliées. Néanmoins, lorsque ces différents mécanismes ne permettent pas de restaurer l'homéostasie normale du réticulum endoplasmique, un processus d'apoptose de la cellule bêta peut être déclenché (Figure 2) via l'activation de la voie mitochondriale de la mort cellulaire [3]. Pourquoi et comment les cellules bêta subissent-elles cette transition entre une réponse UPR physiologique et une réponse pathologique, la chose reste à élucider, mais de récentes découvertes suggèrent qu'une défaillance progressive dans l'activation de XBP-1 (*X-box binding protein 1*) et ATF-6 (*activating*

Laboratoire de médecine expérimentale et centre de recherche sur le diabète, Faculté de médecine, Université Libre de Bruxelles (ULB) Route de Lennik, 808, CP618, 1070 Bruxelles, Belgique.  
deizirik@ulb.ac.be

*transcription factor 6*) pourrait contribuer à la mort des cellules bêta [4].

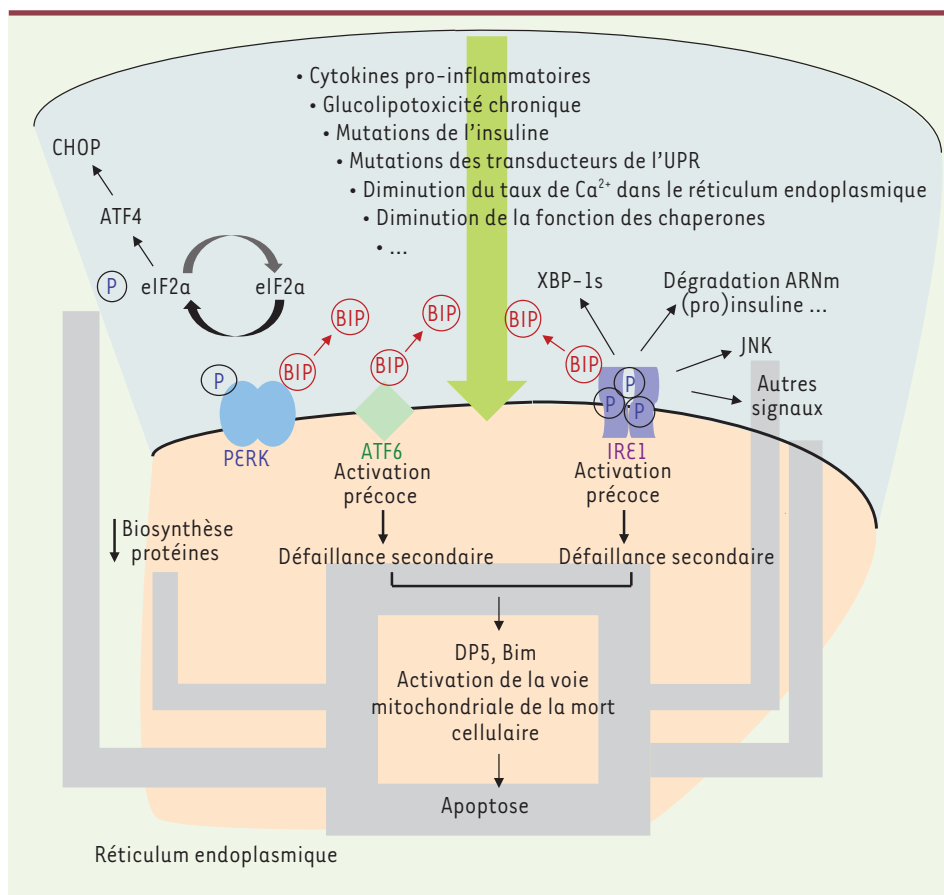
### Stress du réticulum endoplasmique et diabète de types 1 et 2

Une réponse UPR excessive ou prolongée, en raison d'une résistance à l'insuline et d'une concentration élevée en acides gras saturés (secondaires à de l'obésité), participe probablement au dysfonctionnement et à la mort des cellules bêta dans le diabète de type 2 (DT2)<sup>1</sup> [1, 5, 11]. Il existe cependant un autre aspect de la réponse UPR qui présente un intérêt tout particulier dans le diabète de type 1 (DT1). Il s'agit du dialogue croisé entre l'UPR et l'immunité naturelle. Ce dialogue est à l'origine d'une augmentation des phénomènes inflammatoires locaux, de l'initiation/amplification de l'insulite et de la mort des cellules bêta pancréatiques [6]. Les composants de ce dialogue sont décrits ci-dessous.

### Le rôle des cytokines inflammatoires dans l'altération de la réponse UPR

L'interleukine-1 bêta (IL-1 $\beta$ ) et l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), deux cytokines pro-inflammatoires produites au cours de l'insulite [7], ont pour effet d'induire, chez le rat, *in vitro*, une déplétion en Ca<sup>2+</sup> du réticulum endoplasmique, un stress de ce dernier et l'apoptose des cellules bêta. La raison principale en est l'inhibition de la pompe calcique du

<sup>1</sup> Voir le numéro thématique que *médecine/sciences* a consacré au « diabète : approches thérapeutiques émergentes » en 2013 (vol 29, n° 8/9).



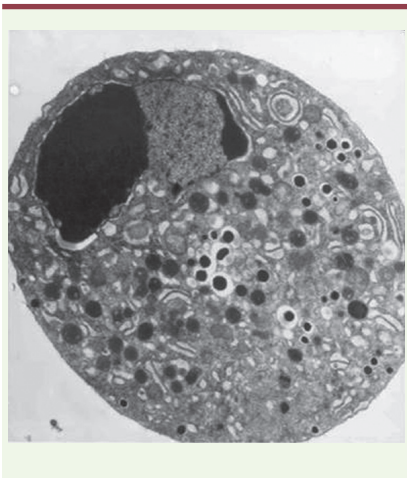
**Figure 1. Signalisation UPR dans les cellules bêta pancréatiques exposées à un stress sévère du réticulum endoplasmique.** Dans des conditions d'homéostasie, la chaperone BIP est liée au domaine luminal des protéines transmembranaires ATF6 (*activating transcription factor 6*), PERK (*protein kinase RNA- like endoplasmic reticulum kinase*) et IRE1, les maintenant ainsi dans un état d'inactivité. En réponse à une accumulation de protéines mal repliées dans le lumen du réticulum endoplasmique, BIP va se lier préférentiellement à ces protéines dans le but de leur faire adopter une structure de repliement correcte. Ceci a pour effet d'activer les trois branches de la réponse UPR. (1) L'activation de PERK par autophosphorylation conduit à la phosphorylation et à l'inactivation de eIF2 $\alpha$ . eIF2 $\alpha$  est un initiateur clé de la traduction, et sa phosphorylation inhibe le processus

global de traduction protéique, diminuant ainsi la charge du réticulum. Paradoxalement, la traduction de certains ARNm comme ATF4 s'en trouve en revanche augmentée. ATF4 active CHOP (*C/EBP homologous protein*) qui peut, en retour, contribuer à l'inflammation et à l'apoptose induites par un stress du réticulum. (2) ATF6 migre dans l'appareil de Golgi, où elle subit un clivage par les protéases SP1 et SP2. Le fragment ainsi généré, ATF6(f), est un facteur transcriptionnel qui module l'expression de chaperones telles que BIP et d'enzymes indispensables au fonctionnement du réticulum endoplasmique. (3) La branche la plus conservée de la réponse UPR est sous l'influence de IRE1, elle-même activée par autophosphorylation. IRE1 activée possède une activité endoribonucléasique et induit l'épissage du facteur transcriptionnel XBP1 (*X-box binding protein 1*). XBP1 ainsi épissé (XBP1s) déclenche la transcription d'autres gènes impliqués dans le repliement et la maturation des protéines, ainsi que dans la dégradation des protéines anormales. IRE1 peut aussi dégrader des ARNm comme l'insuline, diminuant ainsi la charge de travail du réticulum. IRE1 active également TRAF2 (*TNF receptor-associated factor 2*), contribuant de cette façon à l'activation de JNK et de NF- $\kappa$ B. Dans des conditions de stress sévère ou chronique du réticulum, l'activation de JNK ou d'autres gènes, médiée par IRE1 $\alpha$ , ainsi que l'induction du facteur transcriptionnel pro-apoptotique CHOP en aval de PERK, activent DP5, Bim et d'autres signaux mitochondriaux déclenchant l'apoptose mitochondriale. Parallèlement, on assiste à une défaillance progressive de l'activation d'ATF6, ce qui a pour conséquence directe de priver la cellule bêta d'une réponse protectrice via la synthèse de la chaperone BIP dépendante d'ATF6.

réticulum sarco(endo)plasmique SERCA-2b via la synthèse d'oxyde nitrique (NO) [8]. SERCA-2b a pour fonction de pomper le calcium dans le réticulum endoplasmique, et toute inhibition chimique de cette pompe (par de la thapsigargine ou de l'acide cyclopiazonique CPA) se traduit, comme avec les cytokines, par un épuisement des réserves en  $Ca^{2+}$  du réticulum endoplasmique, un stress de ce

dernier et la mort des cellules bêta. Les médiateurs intervenant dans le stress du réticulum induit par les cytokines dans les cellules bêta pancréatiques, semblent être spécifiques des espèces considérées. Le NO joue un rôle prépondérant dans l'apparition du stress du réticulum endoplasmique dans les cellules bêta de rat, alors que le mécanisme à la base du stress du réticulum induit par les

cytokines chez l'homme et la souris est largement indépendant de la production de NO [6]. La nature précise de ce(s) mécanisme(s) reste encore largement méconnue, mais il est intéressant de noter que le palmitate induit également une inhibition de SERCA-2b, un stress du réticulum endoplasmique et l'apoptose des cellules bêta, et ce indépendamment de la formation de NO [5].



**Figure 2. Micrographie électronique d'une cellule bêta en phase d'apoptose précoce après un stress sévère du réticulum endoplasmique.** Noter la dilatation du réticulum endoplasmique et la condensation de la chromatine (image fournie par le Dr Miriam Cnop, Laboratoire de médecine expérimentale, Centre de recherche sur le diabète, ULB).

Il semble que dans les cellules bêta, différentes cytokines pro-inflammatoires affectent préférentiellement certaines branches de la réponse UPR. Ainsi, alors que l'IL-1 $\beta$  induit l'épissage alternatif de Xbp1 (Xbp1s) et la phosphorylation de PERK/eIF2 $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  diminue l'expression de Xbp-1s, de Bip et d'autres chaperones du réticulum endoplasmique en aval de ATF6/XBP1s, sensibilisant ainsi les cellules bêta à l'apoptose induite par des agents chimiques de stress ou par l'IL-1 $\beta$  [6]. En lien avec ce qui précède, l'inhibition *in vivo* de la voie ATF6 accélère le développement d'un diabète dans des souris NOD (*non obese diabetic*) [4].

### Arguments *in vivo* en faveur d'une réponse UPR

Deux récentes études fournissent de solides indications quant à la présence de marqueurs de la réponse UPR *in vivo* dans des îlots enflammés de DT1. La première, comparant des îlots de souris NOD pré-diabétiques (âgées de 6 à 10 semaines) à ceux de souris contrôles, montre un réticulum endoplasmique anormalement gonflé (caractéristique d'un stress) et une augmentation de l'expression de

l'ARNm de Bip, Xbp1s et Chop (*C/EBP homologous protein*) [9]. La seconde étude a utilisé une approche quantitative non biaisée afin d'évaluer la présence de marqueurs de stress du réticulum dans des coupes de pancréas de 13 patients atteints de diabète de type 1 (DT1) *versus* 15 sujets contrôles. Chez les patients diabétiques, on observe une augmentation de l'expression de CHOP et de BIP dans les îlots présentant une insulite [10]. Ces résultats laissent à penser que les cellules insulaires enflammées de sujets atteints de DT1 développent une réponse partielle au stress du réticulum. Cette réponse est probablement de type dynamique, comme le suggèrent des études *time course* sur des souris NOD montrant une augmentation précoce de l'expression d'ATF6 et de XBP-1, suivie par une diminution graduelle de l'expression de ces deux marqueurs de la réponse UPR, ce qui coïncide avec la perte progressive des cellules bêta [4]. Il est important de souligner que la restauration du niveau d'expression d'ATF6 par des chaperones chimiques prévient la mort des cellules bêta et le diabète. En effet, l'administration d'acide tauroursodéoxycholique (TUDCA), une chaperone chimique utilisée en pratique clinique pour traiter certaines maladies hépatiques, réduit l'incidence du diabète et améliore la survie et la morphologie des cellules bêta dans deux modèles murins de DT1 [4].

### Conclusions et perspectives

De plus en plus d'éléments semblent indiquer que le stress du réticulum, induit par un stress immun (DT1) ou métabolique (DT2), contribue à la perte des cellules bêta, ouvrant la voie à de nouvelles possibilités thérapeutiques. Les bénéfices apportés par des chaperones chimiques, comme le TUDCA, administrées à des modèles murins de DT1 et de DT2 ne font que renforcer cette hypothèse. Néanmoins, ces chaperones ne sont pas spécifiques, ce qui rend indispensable le développement de nouveaux modulateurs spécifiques du stress du réticulum. De plus, il serait intéressant d'observer si des

modifications du mode de vie comme une perte de poids associée à des exercices physiques, peuvent ralentir la progression du DT1 chez les jeunes obèses présentant des autoanticorps, *via* une diminution du stress du réticulum endoplasmique de leurs cellules bêta.

Il convient de garder à l'esprit qu'une prévention efficace de la perte des cellules bêta dans le DT1 doit passer par la mise en œuvre d'approches multiples et complémentaires, que les différentes voies de la réponse UPR sont essentielles au bon fonctionnement et à la survie des cellules bêta et que cette réponse, déclenchée par l'inflammation, est très hétérogène. Ainsi, moduler le stress du réticulum endoplasmique dans le but de protéger les cellules bêta devra nécessairement s'accompagner d'une stratégie visant à restaurer une certaine tolérance immunitaire, tout en tenant compte du rapport coût-bénéfice engendré par une intervention sur la réponse UPR dans des cellules hautement sécrétrices comme les cellules bêta.  $\diamond$

### Chronicle of a death foretold : endoplasmic reticulum stress and beta cell apoptosis in diabetes

#### REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été soutenus par des fonds de l'Union européenne (projets BetaBat et Naimit dans le 7<sup>e</sup> Programme cadre de la communauté européenne), par le Juvenile Diabetes Research Foundation International (JDRFI), le Fonds national de la recherche scientifique (FNRS) et l'Actions de recherche concertées de la communauté française (ARC), Belgique.

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocrine reviews* 2008 ; 29 : 42-61.
2. Ron D, Harding HP. Protein-folding homeostasis in the endoplasmic reticulum and nutritional regulation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 2012 ; 4.
3. Gurzov EN, Eizirik DL. Bcl-2 proteins in diabetes: mitochondrial pathways of beta-cell death and dysfunction. *Trends Cell Biol* 2011 ; 21 : 424-31.



## RÉFÉRENCES

- Engin F, Yermalovich A, Nguyen T, et al. Restoration of the unfolded protein response in pancreatic beta cells protects mice against type 1 diabetes. *Sci Transl Med* 2013 ; 5 : 211ra156.
- Cnop M, Fougère F, Velloso LA. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol Med* 2012 ; 18 : 59-68.
- Eizirik DL, Miani M, Cardozo AK. Signalling danger: endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in pancreatic islet inflammation. *Diabetologia* 2013 ; 56 : 234-41.
- Eizirik DL, Colli ML, Ortis F. The role of inflammation in insulinitis and beta-cell loss in type 1 diabetes. *Nat Rev Endocrinol* 2009 ; 5 : 219-26.
- Cardozo AK, Ortis F, Storling J, et al. Cytokines downregulate the sarcoendoplasmic reticulum pump Ca<sup>2+</sup> ATPase 2b and deplete endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>, leading to induction of endoplasmic reticulum stress in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2005 ; 54 : 452-61.
- Tersey SA, Nishiki Y, Templin AT, et al. Islet beta-cell endoplasmic reticulum stress precedes the onset of type 1 diabetes in the nonobese diabetic mouse model. *Diabetes* 2012 ; 61 : 818-27.
- Marfour I, Lopez XM, Lefkaiditis D, et al. Expression of endoplasmic reticulum stress markers in the islets of patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2012 ; 55 : 2417-20.
- Flamment M, Fougère F. Le stress du réticulum endoplasmique : de la physiologie à la pathogenèse du diabète de type 2. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 756-64.

## NOUVELLE

### Les cordes mycobactériennes

#### Un nouveau moyen d'échappement au système immunitaire ?

Audrey Bernut<sup>1</sup>, Jean-Louis Herrmann<sup>3</sup>, Georges Lutfalla<sup>1</sup>, Laurent Kremer<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de dynamique des interactions membranaires normales et pathologiques (DIMNP), CNRS UMR5235, université Montpellier 2, place Eugène Bataillon, Montpellier, France ;

<sup>2</sup> Inserm, DIMNP, place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 05, France ;

<sup>3</sup> EA3647-EPIM, UFR des sciences de la santé, université de Versailles St Quentin, 2, avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

[laurent.kremer@univ-montp2.fr](mailto:laurent.kremer@univ-montp2.fr)

► On distingue deux groupes de mycobactéries : celles à croissance lente (MCL), incluant de nombreux agents pathogènes comme *Mycobacterium tuberculosis*, et celles à croissance rapide (MCR), avec environ 60 espèces répertoriées vivant en milieu hydrotellurique, dont certaines sont responsables d'infections opportunistes.

Décrite depuis 1953, *Mycobacterium abscessus* apparaît comme la principale MCR pathogène pour l'homme [1]. Parmi les symptômes qu'elle entraîne, les atteintes pulmonaires dominent le tableau clinique et se révèlent particulièrement sévères chez les patients atteints de mucoviscidose [2]. Les infections à *M. abscessus* sont associées au développement de lésions granulomateuses pseudotuberculeuses. Du fait de son extrême résistance aux antibiotiques, les possibilités de lutte contre cette bactérie restent très limitées. *M. abscessus* existe sous la forme de deux morphotypes : le variant R (*rough*) d'aspect rugueux, et le variant S (*smooth*) d'aspect lisse [3]. Des études *ex vivo* (macrophages ou cultures cellulaires pulmonaires humaines) et *in vivo*

(souris) ont montré que le morphotype R était impliqué dans des manifestations plus sévères associées à une réponse pro-inflammatoire intense [4, 5]. Malheureusement, le nombre limité de modèles animaux disponibles n'a pas encore permis de déterminer les mécanismes physiopathologiques et les facteurs de virulence nécessaires à l'installation du processus infectieux.

Très prisé des aquariophiles, le danio (*Danio rerio* ou *zebrafish*), petit poisson d'eau douce originaire d'Asie, offre de nombreux avantages qui en font un bon modèle pour l'étude des maladies infectieuses [6, 7] : (1) la transparence optique de ses embryons, qui permet un suivi spatiotemporel non invasif de l'agent infectieux *in vivo* ; (2) une vaste panoplie d'outils génétiques et immunologiques ; (3) un système immunitaire (inné et adaptatif) homologue à celui de l'homme. La réponse adaptative n'apparaissant qu'un mois après fécondation, les embryons ne possèdent qu'une immunité innée assurée par des macrophages et des granulocytes. Dans cette étude, nous avons exploité la transparence de l'embryon de danio

pour appréhender la physiopathologie de l'infection à *M. abscessus* [8].

#### Un tropisme tissulaire inattendu

Différentes techniques de microscopie permettent l'analyse dynamique *in vivo* du devenir des bactéries injectées dans l'embryon, tant en termes de prolifération que de localisation dans l'animal (Figure 1A). Nous avons pu confirmer que le variant R est plus virulent que le variant S. Seule la forme R déclenche une infection robuste et létale avec le développement précoce de foyers infectieux au niveau du système nerveux central, notamment dans le cerveau et/ou la moelle épinière (Figure 1B) [8]. Cette observation est d'autant plus intéressante que ce neurotropisme a été évoqué récemment dans des cas cliniques où *M. abscessus* traverse la barrière hémato-encéphalique et cause des lésions du système nerveux central. L'exploration ultrastructurale de ces lésions montre des abcès avec une intense division bactérienne extracellulaire (Figure 1C), ce qui est particulièrement surprenant pour des mycobactéries réputées intracellulaires.