

RÉFÉRENCES

- Schumacher FR, Siew K, Zhang J, et al. Characterisation of the cullin-3 mutation that causes a severe form of familial hypertension and hyperkalaemia. *EMBO Mol Med* 2015 ; 7 : 1285-306.
- Agbor LN, Ibeawuchi SRC, Hu C, et al. Cullin-3 mutation causes arterial stiffness and hypertension

through a vascular smooth muscle mechanism. *JCI Insight* 2016 ; 1 : doi:10.1172/jci.insight.91015.

- Pelham CJ, Ketsawatsomkron P, Groh S, et al. Cullin-3 regulates vascular smooth muscle function and arterial blood pressure via PPAR γ and RhoA/Rho-kinase. *Cell Metab* 2012 ; 16 : 462-72.
- Abdel Khalek W, Rafael C, Loisel-Ferreira I, et al. Severe arterial hypertension from cullin-3 mutations

is caused by both renal and vascular effects. *J Am Soc Nephrol* 2019 ; 30 : 811-23.

- Barelli H, Camonis J, de Gunzburg J. Pierre Chardin, un pionnier de la découverte des gènes et protéines de la super famille Ras. *Med Sci (Paris)* 2020 ; 36 : 394-8.

NOUVELLE

Surexpression de PAX4 par thérapie génique Un espoir pour le traitement du diabète de type 1

Kevin Perge^{1,2}, Assia Eljaafari^{2,4}

➤ Dans un rapport de 2016, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) reconnaît que le diabète est devenu un problème majeur de santé publique, du fait de la hausse spectaculaire du nombre de personnes diabétiques dans le monde durant les dernières décennies (estimé à 108 millions d'adultes en 1980, et 422 millions en 2014) associée à une morbidité et une mortalité très importantes [1]. Divers variants génétiques (mutations) du gène *PAX4* (*Paired Box gene 4*), codant pour un facteur de transcription, ont été associés à la susceptibilité de développer un diabète de type 1, un diabète de type 2, ou un diabète monogénique de type MODY (*maturity onset diabetes of the young*) [2]. Du fait de son rôle essentiel dans la prolifération et la maturation des cellules pancréatiques sécrétrices d'insuline (cellules β) lors du développement [2], *PAX4* apparaît comme une cible de choix pour une thérapie génique dans le diabète de type 1 (qui représente environ 10 % de tous les cas de diabète), contre lequel il n'existe pas encore de traitement spécifique permettant de rétablir la fonction des cellules β , et qui a un impact considérable sur la qualité de vie [1]. Cette nouvelle étude offre un aperçu des trois mécanismes impliquant *PAX4* dans les îlots endocrines du pancréas

(îlots de Langerhans) afin de proposer une éventuelle piste thérapeutique dans le traitement du diabète de type 1.

Rôle de PAX4 dans la prolifération et la survie des cellules β pancréatiques

L'expression de *PAX4* dans les cellules β pancréatiques de l'adulte est faible comparativement à son expression embryonnaire. *PAX4* joue cependant un rôle important dans le contrôle de la plasticité des cellules β au cours de la vie, en partie lié à la prolifération et la survie de ces cellules [3]. En effet, la destruction sélective des cellules β induite par la streptozotocine stimule l'expression du gène *PAX4*, suggérant que dans des conditions de stress, *PAX4* est induit en tant que mécanisme adaptatif de protection des cellules β contre les agressions de l'environnement. L'effet protecteur de *PAX4* sur les cellules β passe par trois voies de signalisation [3-5]. La première est la voie *c-myc/bcl-xl* [3]. Chez le rat, la surexpression constitutive de *PAX4* dans les îlots de Langerhans au moyen d'un vecteur de type adénovirus recombinant stimule la prolifération et la survie des cellules β grâce à la régulation concomitante de l'oncogène *c-myc* et du gène anti-apoptotique *bcl-xl* [3]. L'oncogène *c-myc* est un important

¹Hospices civils de Lyon, Hôpital femme mère enfant, Service d'endocrinologie pédiatrique, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex, France.

²Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.

³Laboratoire CarMeN, Inserm U1060, Université Claude Bernard Lyon 1, INRAE U1397, INSA-Lyon, Lyon, France *Clinical Research Department*, Hospices civils de Lyon, Centre hospitalier Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France.

⁴Do-it team, Hospices Civils de Lyon, Bâtiment CENS-ELI, CHU Lyon Sud, Lyon, France.

kevin.perge@chu-lyon.fr

régulateur de la prolifération des cellules β , mais paradoxalement, il favorise simultanément leur apoptose [3]. *Bcl-xl* prévient l'apoptose induite par *c-myc* et favorise la prolifération des cellules β en supprimant la voie mitochondriale de l'apoptose [3]. Il existe donc un couplage intime, régulé par *PAX4*, entre *c-myc* et *bcl-xl* dans la promotion de la prolifération et de la survie des cellules β . Le deuxième mécanisme est l'inhibition de la voie NF- κ B (*nuclear factor-kappa B*) [4]. La surexpression constitutive de *PAX4* dans les cellules β chez la souris, induit une réduction du taux de transcrits codant pour l'interleukine 1 β (IL-1 β), la principale cytokine responsable de l'activation de la voie NF- κ B et des transcrits de *Nos2* (*nitric oxide synthase 2*), un gène cible de NF- κ B [4]. Par ce mécanisme, *PAX4* prévient les dommages exercés sur les cellules β par l'hyperglycémie [4]. Enfin, *PAX4* cible de nombreux gènes impliqués dans la protéostase, la translocation des protéines du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi, et l'homéostasie du calcium [5]. L'ensemble de ces régulations font de *PAX4* un acteur essentiel de l'homéostasie du réticulum endoplasmique, d'autant plus importante en cas de stress, prévenant par ce biais la

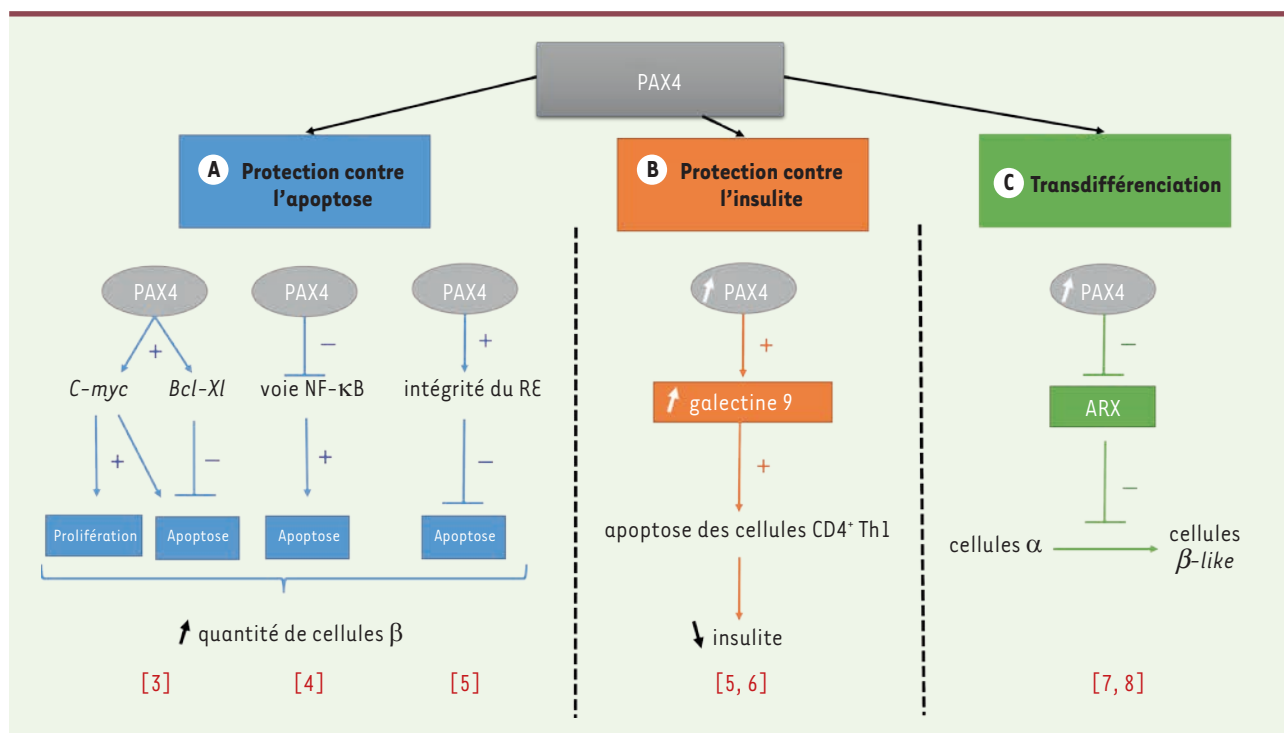


Figure 1. Mécanismes d'action de PAX4 sur le pancréas endocrine, offrant une éventuelle piste thérapeutique dans le traitement du diabète de type 1. **A.** PAX4 amplifie la quantité de cellules β en stimulant leur prolifération et en améliorant leur survie en cas de stress. RE : réticulum endoplasmique. **B.** PAX4, en augmentant l'expression de Gal-9, freine l'activation des lymphocytes T auxiliaires Th1 auto-réactifs, entrave partiellement l'insulite, et améliore la survie des cellules β pancréatiques. **C.** PAX4 induit la transdifférenciation des cellules α en cellules β, via la régulation négative du gène codant ARX.

dégénérescence des cellules β [5]. Ainsi, PAX4 amplifie la quantité de cellules β en stimulant leur prolifération et en améliorant leur survie en cas de stress.

PAX4 protecteur des cellules β pancréatiques contre l'insulite dans le diabète de type 1

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune du pancréas endocrine caractérisée par l'infiltration de lymphocytes T CD4⁺ auto-réactifs de type Th1 (*T helper 1*), responsable de l'insulite¹ qui détruit spécifiquement les cellules β [6]. Un traitement optimal contre le diabète de type 1 devrait donc également agir à l'interface entre le pancréas et l'auto-immunité. Il a été montré, dans

un modèle murin de diabète auto-immun expérimental, que la sur-expression de PAX4 dans les cellules β leur confère une protection contre l'apoptose liée à l'attaque auto-immune, en réduisant l'insulite de façon significative [5]. Ce mécanisme pourrait passer par une augmentation de l'expression du gène de la galectine 9 (Gal-9), un puissant immunomodulateur, qui est l'une des cibles principales de PAX4 dans les îlots pancréatiques [5]. En effet, Gal-9 régule les lymphocytes T CD4⁺ Th1 et induit leur apoptose par l'intermédiaire de son récepteur, Tim-3 (*T-cell immunoglobulin and mucin-containing protein-3*), qui est principalement exprimé par ces cellules [6]. La surexpression de Gal-9 chez la souris NOD (*non-obese diabetic*) réduit l'insulite et l'hyperglycémie [6]. Cette protection est directement due à la diminution du nombre de lymphocytes T auxiliaires Th1, sans modification

d'autres sous-populations de lymphocytes T (Th2 et T régulateurs) [6]. L'activation des lymphocytes Th1 est impliquée dans les rejets de greffe. La protéine Gal-9, en diminuant cette « voie Th1 » sans perturber la « voie Th2 », pourrait donc permettre de prolonger la survie de greffons d'îlots pancréatiques. Ainsi, la voie Gal-9/Tim-3 joue un rôle pivot dans le contrôle de l'auto-immunité Th1, et il est donc plausible qu'en augmentant l'expression de Gal-9, PAX4 puisse freiner l'activation des lymphocytes Th1 auto-réactifs, entraver partiellement l'insulite, et améliorer la survie des cellules β dans le diabète de type 1 [6].

PAX4, un acteur de la transdifférenciation des cellules pancréatiques

Au cours du développement du pancréas, un réseau complexe de facteurs de transcription, dont PAX4 et ARX

¹ Terme médical pour désigner le processus inflammatoire d'origine auto-immune qui endommage les îlots endocrines du pancréas (îlots de Langerhans), et qui aboutit généralement à la destruction des cellules productrices d'insuline (cellules β).

(*aristaless-related homeobox*), favorise la différenciation des cellules progénitrices vers leurs différentes destinées endocriniennes [7]. Les îlots pancréatiques des souris déficientes en ARX sont dépourvus de cellules α matures et ont en revanche un plus grand nombre de cellules β et δ , alors que ceux des souris déficientes en PAX4 ont un phénotype inverse ; cela suggère que durant les premiers stades du développement du pancréas endocrine, ARX et PAX4 exercent l'un sur l'autre une inhibition réciproque [7]. Dans un modèle de souris exprimant le gène *Pax4* de manière conditionnelle et ectopique, la surexpression de PAX4 dans le pancréas en développement favorise la genèse d'îlots surdimensionnés composés en grande majorité de cellules β [7]. Cet effet n'est pas dû à la prolifération des cellules β , mais à un mode particulier de différenciation des cellules progénitrices du pancréas endocrine, la transdifférenciation des cellules α en cellules β [7], qui résulte, entre autres, de la régulation négative d'*Arx* [7, 8]. En effet, l'inactivation du gène *Arx* dans les cellules α du pancréas chez le rat entraîne une transdifférenciation de ces cellules α en cellules β , indépendamment du niveau d'expression de *Pax4*, ce qui fait de la répression du gène codant ARX le principal déclencheur de la conversion des cellules α en cellules β [8]. Pour compenser la perte des cellules α , le facteur de transcription neurogénine 3 (Ngn3) est réactivé, induisant une néogenèse continue à partir de cellules précurseurs des cellules α , qui sont elles-mêmes converties continuellement en cellules β lors de l'expression ectopique de PAX4 [7]. La surexpression de PAX4 dans un modèle murin de déplétion en cellules β pancréatiques induite par la streptozotocine entraîne la réapparition d'un grand nombre de cellules β , une normalisation progressive de la glycémie, et une durée de vie prolongée des souris [7]. Plus récemment, il a été montré *in vivo* chez la souris que le neurotransmetteur GABA (*gamma-aminobutyric acid*), par l'intermédiaire de son récepteur, déclenche

une transdifférenciation des cellules α en cellules β via la régulation négative d'*Arx* et l'activation concomitante de *Pax4* [9]. Cette conversion des cellules α en cellules β induit des mécanismes compensateurs de remplacement des cellules α manquantes par la mobilisation de cellules progénitrices de l'épithélium canalaire, qui adoptent une identité de cellules α avant d'être converties en cellules β , uniquement lors d'une exposition prolongée au GABA [9]. Les cellules β ainsi générées sont fonctionnelles et peuvent inverser le diabète induit chimiquement *in vivo* [9]. Le traitement d'îlots pancréatiques humains greffés chez la souris avec du GABA entraîne une perte de cellules α et une augmentation concomitante du nombre de cellules β , suggérant l'existence des processus de conversion de cellules α en cellules β également chez l'homme [9]. Ainsi, PAX4 induit la transdifférenciation des cellules α en cellules β , via la régulation négative du gène codant ARX.

PAX4 et perspectives thérapeutiques dans le diabète de type 1

Les trois mécanismes d'action de PAX4 dans le pancréas endocrine, récapitulés dans la *Figure 1*, font de ce facteur de transcription une cible thérapeutique de choix contre le diabète de type 1. La pharmacologie permet de proposer une première perspective de thérapie : l'utilisation de médicaments GABAergiques, qui modulerait positivement l'expression de PAX4, lui-même régulant négativement l'expression d'ARX, dans les îlots pancréatiques, pourrait permettre la transdifférenciation des cellules α en cellules β [9]. D'autres perspectives relèvent de la thérapie génique. Le transfert, par un vecteur de type adénovirus, de PAX4 dans les cellules α induirait leur conversion en cellules β fonctionnelles, permettant une diminution de la glycémie comme cela a été montré dans un modèle de souris diabétiques [10]. Une autre possibilité serait de surexprimer PAX4 précocement dans les cellules β afin de favoriser leur prolifération, leur protection vis-à-vis de

l'auto-immunité, ainsi que leur survie. D'autres études, chez l'animal et chez l'homme, seront nécessaires pour évaluer la faisabilité de telles approches et comparer leurs efficacités. \diamond

Overexpression of PAX4 by gene therapy for type 1 diabetes treatment

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. World Health Organization. *Global report on diabetes 2016*. Geneva : WHO, 2016 : 88 p. <https://www.who.int/diabetes/global-report/en/>
2. Panneerselvam A, Kannan A, Marijoseph-Antony LF, et al. PAX proteins and their role in pancreas. *Diabetes Res Clin Pract* 2019 ; 155 : 107792.
3. Brun T, Franklin I, St-Onge L, et al. The diabetes-linked transcription factor PAX4 promotes β -cell proliferation and survival in rat and human islets. *J Cell Biol* 2004 ; 167 : 1123-35.
4. He KHH, Lorenzo PI, Brun T, et al. In vivo conditional Pax4 overexpression in mature islet β -cells prevents stress-induced hyperglycemia in mice. *Diabetes* 2011 ; 60 : 1705-15.
5. Mellado-Gil JM, Jiménez-Moreno CM, Martín-Montalvo A, et al. PAX4 preserves endoplasmic reticulum integrity preventing beta cell degeneration in a mouse model of type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2016 ; 59 : 755-65.
6. Chou FC, Shieh SJ, Sytwu HK. Attenuation of Th1 response through galectin-9 and T-cell Ig mucin 3 interaction inhibits autoimmune diabetes in NOD mice. *Eur J Immunol* 2009 ; 39 : 2403-11.
7. Collombat P, Xu X, Ravassard P, et al. The ectopic expression of Pax4 in the mouse pancreas converts progenitor cells into α - and subsequently β -cells. *Cell* 2009 ; 138 : 449-62.
8. Courtney M, Gjernes E, Druelle N, et al. The inactivation of *Arx* in pancreatic α -cells triggers their neogenesis and conversion into functional β -like cells. *PLoS Genet* 2013 ; 9 : e1003934.
9. Ben-Othman N, Vieira A, Courtney M, et al. Long-term GABA administration induces α cell-mediated β -like cell neogenesis. *Cell* 2017 ; 168 : 73-85.
10. Zhang Y, Fava GE, Wang H, et al. PAX4 gene transfer induces α -to- β cell phenotypic conversion and confers therapeutic benefits for diabetes treatment. *Mol Ther* 2016 ; 24 : 251-60.



Abonnez-vous à médecine/sciences

Bulletin d'abonnement page 538 dans ce numéro de m/s