

Les souris mutantes dépourvues d'IRS-2 ont la même résistance périphérique à l'insuline et le même défaut de sécrétion d'insuline que les diabétiques humains de type 2

Les diabètes de type 2 (non insulino-dépendants) se caractérisent par la coexistence d'une résistance à l'insuline dans les tissus périphériques (muscle, foie, tissu adipeux) et d'une incapacité ou défaillance de la cellule pancréatique β à sécréter de façon chronique les quantités relativement abondantes d'insuline qui permettraient de compenser cette résistance [1, 2]. L'importance relative et l'ordre d'apparition de la résistance à l'insuline et de la déficience sécrétoire sont controversés, mais il semble clair qu'une insulino-résistance n'engendre pas un diabète avéré tant que la cellule β reste capable de la compenser. Cette complexité physiopathologique et des arguments d'ordre épidémiologique ont engendré le consensus que la forme commune du diabète de type 2 est une entité hétérogène d'origine multigénique, c'est-à-dire requiert l'action concertée de plusieurs gènes dits diabétogènes, ainsi que de facteurs liés à l'environnement et au style de vie (obésité, manque d'exercice) [1, 3]. De fait, malgré de nombreuses recherches, il n'a pas été possible de détecter jusqu'ici chez l'homme de « gène candidat » dont la mutation isolée expliquerait le syndrome diabétique [4, 5]. Il y a bien des formes familiales monogéniques de diabète comme le MODY (*maturity onset diabetes of the young*) avec des mutations de la glucokinase (*m/s n° 6, vol. 8, p. 600*), de facteurs nucléaires hépatiques (*m/s n° 12, vol. 12, p. 1465; n° 3, vol. 14, p. 364*) ou de IPF-1 (*m/s n° 5, vol. 14, p. 647*), ou encore de rares syndromes liés à des mutations, soit de l'insuline, de la pro-insuline ou du

récepteur insulinaire (*voir plus loin*), soit de protéines mitochondriales [6]. Il s'agit là de phénotypes clairement distincts de la variété commune de diabète de type 2.

Transmission intracellulaire du signal insuline

La résistance à l'insuline peut avoir des causes très diverses. Elle peut être, en théorie, due au défaut de n'importe quel élément de la transmission intracellulaire du signal déclenché par l'activation du récepteur membranaire de l'insuline (IR) lors de la liaison de l'hormone [7]. Le premier élément en est l'induction de l'activité tyrosine kinase de IR. La phosphorylation de résidus tyrosine concerne d'abord le récepteur lui-même (transphosphorylation), mais aussi toute une série de protéines immédiatement en aval dans la chaîne de transmission intracellulaire. On a découvert il y a une douzaine d'années que le premier chaînon en aval du récepteur, IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*), était une molécule pivot, dépourvue elle-même d'activité enzymatique mais comportant un grand nombre de résidus tyrosine dont la phosphorylation par IR activé induisait la liaison à IRS-1 de molécules effectrices diverses, seconds chaînons de signalisation. On a d'abord cru qu'il y avait là une voie éfférente unique et très spécifique du signal insuline, mais le tableau s'est rapidement compliqué. Tout d'abord, il existe d'autres molécules d'ancrage intermédiaires se liant à IR activé. C'est le cas de Shc, dont le rôle dans la chaîne d'activation Ras - MAP-

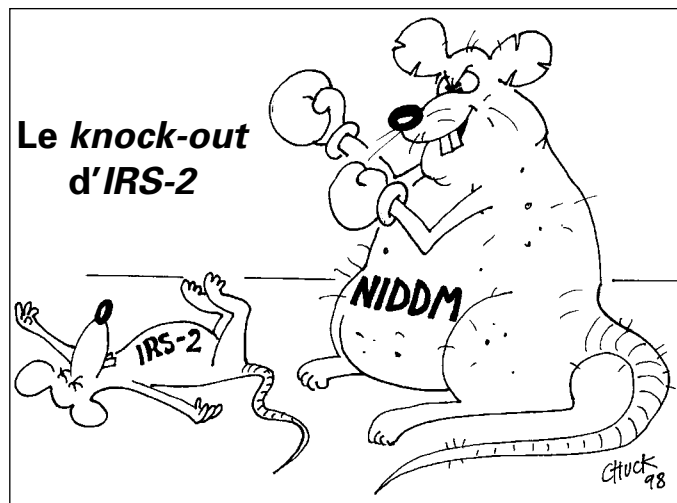
kinase avait été reconnu, ou de Gab1. On a découvert plus récemment que IRS-1 appartient à une famille de protéines dont on connaît à ce jour quatre membres (IRS-1 à -4). Puis, on s'est aperçu que les IRS ne sont pas nécessairement spécifiques de l'insuline (ou des facteurs de croissance semblables à l'insuline, IGF-I et IGF-II) mais sont également activés par d'autres stimulus extracellulaires tels que certaines cytokines comme IL-4 ou l'hormone de croissance [7]. Par ailleurs, certains effecteurs sont aussi capables de se lier directement à IR, activant peut-être des voies de signalisation qui court-circuitent les IRS.

Les invalidations géniques

La création de mutations nulles dans des gènes, chez la souris, a apporté la possibilité de tester expérimentalement le rôle effectif de ces molécules dans l'action de l'insuline [8]. La mutation nulle du récepteur de l'insuline chez la souris entraîne dès la naissance un diabète avec hyperinsulinisme rapidement mortel en quelques jours [9, 10]. Curieusement, chez l'homme, des mutations du récepteur de l'insuline qui inactivent le récepteur ou en entravent la fonction ou l'expression (y compris quelques cas de mutation nulle des deux allèles) ont été décrites dans plus d'une cinquantaine de cas et ne présentent généralement pas une létalité précoce, mais une résistance sévère à l'insuline associée à des phénotypes divers (*m/s n° 10, vol. 9, p. 1139*) (léprechaunisme, syndrome d'insulino-résistance avec acanthosis nigricans type A [11], et un cas de

myopathie congénitale avec disproportion des types de fibres (CFTDM) [12]. Certains patients peuvent survivre jusqu'à l'âge adulte.

On a trouvé chez l'homme quelques polymorphismes dans la séquence d'*IRS-1* dans un faible pourcentage de diabètes de type 2, mais la signification physiopathologique de cette observation reste à établir [13-15]. Dans la mesure où *IRS-1* était censé au départ représenter un chaînon aussi essentiel et spécifique dans la transmission du signal insulínique que le récepteur lui-même, on s'attendait à ce que sa mutation nulle chez la souris entraîne également un diabète sévère. En fait, celle-ci n'a eu que des effets relativement mineurs [16, 17]: un retard de croissance intra-utérin (expliqué par le fait qu'*IRS-1* est aussi un relais du signal du récepteur des IGF), accompagné d'une résistance modérée à l'insuline et d'une hyperinsulinémie compensatrice, avec hypertrophie des cellules β [18]; la résistance périphérique à l'insuline est essentiellement le fait du muscle, le signal insulínique est quasiment normal dans le tissu hépatique [19]. Ces observations ont été interprétées comme la manifestation d'une redondance fonctionnelle de plusieurs des IRS, l'absence de l'une étant masquée ou compensée par l'activité d'un ou des autres membres de la famille. Cette conviction qu'il existe des situations d'équilibre a été renforcée par une autre observation: alors que chacune des deux mutations nulles de *IR* et de *IRS-1* à l'état hétérozygote est silencieuse [20], on note l'existence d'un diabète sévère chez une souris ayant les deux mutations nulles à l'état hétérozygote. De même, la combinaison chez la souris d'une mutation homozygote d'*IRS-1* (entraînant une résistance à l'insuline) et d'un allèle de la glucokinase (entraînant une défaillance dans la sécrétion d'insuline en réponse au glucose) engendre un diabète avéré de type 2 [18]. Ces résultats apportent de l'eau



au moulin des défenseurs d'une étiologie polygénique du diabète de type 2.

Invalidation de *IRS-2*

C'est dans ce contexte que Whitters *et al.* (Boston, MA, USA) [21] révèlent de manière surprenante que l'introduction d'une mutation nulle de *IRS-2* chez la souris, contrairement à celle de *IRS-1*, induit à elle seule un diabète de type 2. C'est un diabète qui s'aggrave progressivement, avec acidocétose; les mâles meurent dans un tableau de déshydratation et d'hyperosmolarité après quelques mois, tandis que les femelles, tout en étant atteintes, survivent généralement. Les tests de clamp euglycémique avec injection d'insuline, couplés à l'utilisation de traceurs radioactifs, révèlent une résistance marquée à l'insuline, tant dans le muscle que dans le foie. Les explorations biochimiques du foie et du muscle indiquent que le récepteur de l'insuline y est normalement phosphorylé, tandis que l'activité PI3-kinase co-immunoprécipitée avec *IRS-1* chez les mutants *IRS-2*^{-/-} est inférieure de 50 % à celle co-précipitée chez l'animal normal. En revanche, l'activité PI3-kinase co-précipitée avec *IRS-2* chez les mutants *IRS-1*^{-/-} est plus élevée que celle co-précipitée chez les animaux normaux. Il est donc possible que les défauts de l'activation de la PI3-kinase soient responsables de l'anomalie du métabolisme du glucose

chez les animaux mutants *IRS-2*^{-/-}.

Jusqu'à l'âge de quatre semaines, les mutants *IRS-2*^{-/-} ont une sécrétion d'insuline normale en réponse à une charge en glucose, mais cette réponse sécrétoire devient plus modeste quand les animaux sont plus âgés, ce que les auteurs attribuent à une toxicité du glucose due à l'hyperglycémie chronique croissante. Le fait remarquable est que les études morphométriques démontrent une réduction, significative, de plus de la moitié de la masse des cellules β dans les îlots pancréatiques des souris *IRS-2*^{-/-} à l'âge de quatre semaines. Les auteurs signalent avoir retrouvé cette réduction de la masse des cellules β dès la naissance, ce qui oriente vers un effet de la mutation indépendant des troubles métaboliques chroniques. L'incrimination de l'absence d'*IRS-2* dans les cellules β dans le défaut de la réponse insulínique est renforcée par l'observation par immunocytochimie de la co-localisation d'*IRS-2* et de l'insuline.

Les souris *IRS-2*^{-/-} permettent également d'affirmer que des molécules homologues comme *IRS-1* et *IRS-2* n'ont pas une redondance fonctionnelle absolue. Le phénotype de ces souris réunit les deux caractéristiques essentielles que l'on reconnaît aux diabètes de type 2 chez l'homme: la résistance à l'insuline et une insuffisance de production de l'insuline circulante. A ce titre, ce résultat encourage la recherche active d'anomalies fonctionnelles d'*IRS-2* dans les diabètes de type 2 dans l'espèce humaine. Les premiers résultats chez l'homme (une étude portant sur une population de 252 sujets danois) n'ont cependant pas confirmé un rôle génétique pour *IRS-2* dans le diabète commun de type 2, aucune association entre les quelques polymorphismes détectés et le diabète n'ayant pu être mise en évidence [22]. Certains facteurs non génétiques ou secondaires à d'autres altérations génétiques pourraient cependant affecter le niveau d'expression d'*IRS-2*.

Quelle est la nature de ces facteurs responsables d'un effet trophique sur la cellule β via IRS-2? Il paraît peu probable qu'il s'agisse de l'insuline elle-même, bien que la présence de récepteurs de l'insuline dans la cellule β ait été rapportée. Étant donné les concentrations élevées d'insuline dans l'environnement de l'îlot, ces récepteurs seraient probablement saturés et même désensibilisés en permanence, ce qui laisse peu de place à un effet régulateur. Mais le rôle des IGF est à considérer, ainsi que celui de certaines cytokines comme l'hormone de croissance dont l'effet sur les cellules β est déjà bien documenté [23]. Ces résultats devraient donner un nouvel élan à l'étude des mécanismes de transmission du signal dans les îlots de Langerhans.

**R.L.J.
D.B.
J.J.
P.D.M.**

1. Kahn CR. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994; 43: 1066-84.
2. Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, Knowler WC, Bennett PH, Bogardus C. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 1988-92.
3. De Meyts P. The diabetogenes concept of NIDDM. *Adv Exp Med Biol* 1993; 334: 89-100.

4. Froguel P. Tracking down genes to cure diabetes; an achievable task for the 21st century? *Diabetes Metab* 1997; 23 (suppl 2): 8-13.
5. Kahn BB. Type 2 diabetes: when insulin secretion fails to compensate for insulin resistance. *Cell* 1998; 92: 593-6.
6. Froguel P, Vionnet N, Gauguier D, Vaxillaire M, Zouali H, Passa P, Velho G. Génétique du diabète non insulino-dépendant. *Med Sci* 1994; 10: 795-804.
7. De Meyts P, Christoffersen CT, Tornqvist H, Seedorf K. Insulin receptors and insulin action. *Curr Opin Endocr Diabet* 1996; 3: 369-77.
8. Joshi RL, Jami J. Invalidation chez la souris de gènes susceptibles d'être impliqués dans les diabètes non insulino-dépendants. *Med Sci* 1996; 12: 620-3.
9. Joshi RL, Lamothe B, Cordonnier N, Mesbah K, Monthieux E, Jami J, Bucchini D. Targeted disruption of the insulin receptor gene in the mouse results in neonatal lethality. *EMBO J* 1996; 15: 1542-7.
10. Accili D, Drago J, Lee EJ, Johnson MD, Cool M, Salvatore P, Asico LD, Jose PA, Taylor SI, Westphal H. Early neonatal death in mice homozygous for a null allele of the insulin receptor gene. *Nat Genet* 1996; 12: 106-9.
11. Taylor SI, Accili D, Haft CR, Hone J, Imai Y, Levy-Toledano R, Quon MJ, Suzuki Y, Wertheimer E. Mechanisms of hormone resistance: lessons from insulin-resistant patients. *Acta Paediatr Suppl* 1994; 399: 95-104.
12. Vorwerk P, Vestergaard H, Christoffersen CT, De Meyts P, Pedersen O. Insulin receptor mutation in a novel syndrome of insulin resistance. *Diabetologia* 1998; 37 (suppl 1): A29-107 (abstract).
13. Almind C, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Eschwald S, Pedersen O. Amino acid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1993; 342: 828-32.
14. Armstrong M, Haldane F, Taylor R, Alberti

KGMM. Human insulin receptor substrate-1: variant sequences in familial non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet Med* 1996; 13: 133-8.

15. Laakso M, Malkki M, Kekäläinen J, Kuusisto J, Deeb SS. Insulin receptor substrate-1 variants in non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1994; 94: 1141-6.
16. Araki E, Lipes MA, Patti ME, Brüning JC, Haag BI, Johnson RS, Kahn CR. Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 1994; 372: 176-90.
17. Tamemoto H, Kadowaki T, Tobe K, Yagi T, Sakura H, et al. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature* 1994; 372: 182-6.
18. Terauchi Y, Iwamoto K, Tamemoto H, Kameda K, Ishii C, et al. Development of non-insulin-dependent diabetes mellitus in the double knock-out mice with disruption of insulin receptor substrate-1 and beta-cell glucokinase genes: genetic reconstitution of diabetes as a polygenic disease. *J Clin Invest* 1997; 99: 861-6.
19. Yamauchi T, Tobe K, Tamemoto H, Ueki K, Kaburagi Y, et al. Insulin signalling and insulin actions in the muscles and livers of insulin-resistant, insulin receptor substrate 1-deficient mice. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 3074-84.
20. Brüning JC, Winnay J, Bonner-Weir S, Taylor SI, Accili D, Kahn CR. Development of a novel polygenic model of NIDDM in mice heterozygous for *IR* and *IRS-1* null alleles. *Cell* 1997; 88: 561-72.
21. Withers D, Sanchez-Gutierrez J, Towery H, Burks D, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman G, Bonner-Weir S, White MF. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 1998; 391: 900-4.
22. Bernal D, Almind K, Yenush L, Ayoub M, Zhang I, Rosshani L, Larsson C, Pedersen O, White MF. IRS-2 amino acid polymorphisms are not associated with random type 2 diabetes among caucasians. *Diabetes* 1998 (sous presse).
23. Sarvetnik N. *Pancreatic growth and regeneration*. Basel, Switzerland: Karger Landes Systems, 1997: 250p.

Deuxième conférence Louis Pasteur sur les maladies infectieuses SIGNAUX MOLÉCULAIRES ET MALADIES INFECTIEUSES 8-10 octobre 1998 • Institut Pasteur, Paris, France

La conférence portera sur la pathogénie des maladies infectieuses (parasites, bactéries, virus) dans le cadre des développements récents en biologie cellulaire. L'accent sera placé sur les voies de signalisation intracellulaires et les signaux solubles produits par les microbes et leurs hôtes

Organisateurs
Organizers

J.L. Virelizier
(Institut Pasteur, coordinateur)
R.R. Kiberg

K. Joiner
(Yale University)

S. Pellegrin
(Institut Pasteur)

INSTITUT PASTEUR
Centre d'Information Scientifique
28, rue du Docteur-Roux
75015 Paris, France

Conférence inaugurale
Peter C. Doherty (États-Unis)

**Signalisation et invasion par les micro-organismes
(adhésion, entrée, fusion, événements précoces)**

Norma Andrews (États-Unis), Joan Brugge (États-Unis), Pascale Cossart (France), Jorge E. Calan (États-Unis), Keith Joiner (États-Unis), Dan Littman (États-Unis), Robert Menard (États-Unis), Philippe Samsonetti (France), John Skehel (Royaume-Uni).

**Vie et mort des cellules infectées
(immortalisation, apoptose, transmission des signaux, influences réciproques sur la survie)**

Guy Cornelis (Belgique), Michael Donnenberg (États-Unis), Paul Farrell (Royaume-Uni), Alan Hall (Royaume-Uni), Gordon Langsley (France), Thomas Meyer (Allemagne), David Russel (USA), Jürg Tschopp (Suisse), Samuel Tereza (États-Unis).

**Signaux solubles
(cytokines, chimiokines, récepteurs solubles, leurres, mécanismes de protection et d'échappement)**

Fernando Arenzana (France), Marco Baggiolini (Suisse), James X. (États-Unis), David Sacks (États-Unis), Louis Scheffeld (Australie), Geoffrey Smith (Royaume-Uni)

Présentation des affiches sélectionnées

Conférences de clôture
Daniel Louvard (France), Stanley Falkow (États-Unis)