

Philippe Froguel, directeur
 de l'UMR 8090, Institut
 Pasteur de Lille

Gènes de prédisposition au diabète, une belle avancée !

La question du diabète est actuellement très préoccupante, partout dans le monde. Cette maladie touche aujourd'hui 200 millions de personnes sur tout le globe et sa prévalence devrait doubler d'ici vingt ans. Cette augmentation fulgurante est liée aux modifications de notre mode de vie et à l'obésité. Les messages de prévention se généralisent mais rien n'y fait. Si tout le monde sait qu'il faut avoir une alimentation saine et faire du sport, cela n'empêche pas la mauvaise hygiène de vie de faire des ravages sur notre santé. Mais le mode de vie n'explique pas tout, il y a une base héréditaire à cette affection. Quatre gènes de prédisposition au diabète, qui élucident une grande part du risque, ont été découverts très récemment grâce à une collaboration franco-anglo-canadienne des équipes de Philippe Froguel, qui dirige l'UMR 8090 du CNRS à l'Institut Pasteur de Lille, Génétique des maladies multifactorielles, et professeur de médecine génomique à l'Imperial College de Londres, et de Robert Sladek de l'Université McGill de Montréal.

Il existe deux sortes de diabète : le diabète de type 1 (DT1), et le diabète de type 2 (DT2). Le DT1 touche 10 % des malades. Ce diabète, dit « sucré », est une maladie auto-immune qui détruit intégralement les cellules qui produisent l'insuline. Le DT2 est aussi appelé diabète « gras » car il est souvent associé à l'obésité. C'est principalement cette forme de la maladie qui augmente. Elle concerne classiquement des gens légèrement âgés, mais de plus en plus de jeunes sont atteints. Le DT2 a une base familiale : une personne ayant un père ou une mère diabétique a un risque de développer la maladie de 30 %. Cette part héréditaire est loin d'être négligeable. Il existe plusieurs formes de DT2. Les formes monogéniques apparaissent très tôt

dans la vie, soit à la naissance, soit dans l'enfance ou pendant l'adolescence. En général, ces formes monogéniques qu'on appelle diabète néonatal ou diabète MODY, Maturity onset type diabetes of the young, incriminent des gènes responsables du trouble primitif de la sécrétion d'insuline. Ces jeunes, dont le pancréas est incapable de sécréter de l'insuline, deviennent hyperglycémiques. Une quinzaine de gènes responsables de ces formes sont répertoriés à ce jour.

Les formes communes de DT2 sont des maladies polygéniques et multifactorielles. L'environnement, la sédentarité, la mauvaise nutrition et l'obésité jouent un rôle important dans cette maladie, mais ces facteurs sont d'autant plus déterminants que le sujet a une prédisposition familiale à devenir diabétique. Tous les obèses ne sont pas diabétiques, les 20 % à 30 % d'entre eux qui le deviennent sont ceux qui portent des gènes de prédisposition. « De nombreuses équipes dans le monde ont travaillé pour découvrir ces gènes. Pour certains, ils sont aussi responsables de la forme monogénique, mais leur effet est très faible dans les formes courantes. Jusqu'à très récemment, les résultats n'étaient pas très probants, tout le monde était un peu découragé ! », explique Philippe Froguel.

De nouveaux outils

Une petite révolution a eu lieu en l'an 2000 quand le consortium HapMap a reséquéncé le génome humain afin d'avoir un inventaire le plus exhaustif possible de toutes les différences de séquences d'ADN qui font la diversité de l'espèce humaine, l'inventaire de tous les SNP (Single nucleotide polymorphism) du génome. En moyenne, un SNP est détecté toutes les 500 bases nucléotidiques, et le consortium en a isolé environ 2,5 millions. Il les a analysés et a tenté de comprendre comment ces SNP se transmettent les uns par rapport aux autres, à travers les générations. Lorsque 2 SNP sont situés l'un à côté de l'autre, ils se transmettent ensemble, c'est ce qu'on appelle un bloc de déséquilibre de liaison. Si un bloc, constitué de 30 000 nucléotides, comporte 40 SNP qui ne sont pas indépendants, il suffit d'en typer un seul pour avoir une idée de la diversité génétique correspondant au bloc entier. Le consortium en a conclu qu'il y a environ 300 000 variants chez l'homme. En conséquence, il suffit de génotyper ces 300 000 variants, pour se faire une idée de la diversité génétique humaine sur le génome entier. Mais pour cela, encore faut-il avoir les outils ! La technologie ad hoc a fait son apparition l'année dernière. Il s'agit des puces à ADN pur. Des morceaux de séquences qui correspondent au polymorphisme mis en évidence par HapMap sont collés sur des petites billes, puis hybridés à l'ADN génomique des populations étudiées.

L'analyse

« Ce dispositif nous a permis d'ausculter le génome entier de personnes

diabétiques. Nous avons sélectionné 700 diabétiques français ayant des antécédents familiaux, c'est-à-dire des parents, un frère ou une sœur atteints, avec un indice de masse corporelle (IMC) inférieur à 30. Nous voulions éviter la grande obésité, pour diminuer l'hétérogénéité de la maladie, et cibler les gènes pancréatiques. En choisissant des gens avec un IMC normal ou en surpoids, nous avons plus de chances de détecter des anomalies du pancréas, hypothèse qui s'est révélée juste par la suite ! Nous avons très soigneusement choisi les sujets contrôles, c'est très important dans ce genre d'étude. Nous avons sélectionné des gens d'âge moyen, qui avaient une glycémie très normale, inférieure à 1 gramme par litre de sang. Nous les avons suivis pendant neuf ans et avons conservé comme témoins ceux dont la glycémie n'a jamais franchi la barre de 1 gramme par litre. Après analyse des 300 000 SNP chez les sujets diabétiques, nous avons trouvé un fort taux de corrélation entre certains SNP et le diabète. Nous avons sélectionné les SNP pour lesquels la chance qu'ils soient associés au diabète par hasard est inférieure à 1 pour 100 000. Puis nous les avons réétudiés chez 5 000 autres sujets diabétiques. Cette fois-ci nous avons choisi des gens dont l'IMC est de 35 et des sujets contrôles dont la glycémie n'est pas aussi stricte que pour la première cohorte, pour nous rapprocher des conditions de la vie réelle. Nous avons trouvé des associations avec certains gènes, et ce sont ces résultats que nous avons publiés dans Nature », raconte le chercheur.

Les gènes de prédisposition au diabète

Ce sont des gènes du développement et de la différenciation. Ils interviennent dans la voie Wnt, une voie de croissance très importante, qui est aussi un carrefour entre la croissance, la différenciation et l'apoptose, la mort programmée. Les facteurs de croissance de cette voie sont différents selon les tissus, et lorsqu'ils la stimulent, ils induisent une prolifération cellulaire. C'est la raison pour laquelle ce sont souvent des oncogènes ou des suppresseurs de tumeur.

Si on inhibe la voie Wnt, on aiguille généralement la cellule vers la différenciation ou, plus rarement vers l'apoptose. La découverte de l'association entre les gènes impliqués dans cette voie et le diabète est importante car il y a débat autour de la création des cellules qui fabriquent l'insuline, les cellules bêta. Le pancréas est constitué à 99 % du pancréas exocrine, qui sert à la digestion, et à 1 % du pancréas endocrine qui fabrique l'insuline, constitué des îlots de Langerhans, situé au beau milieu du pancréas. La question était de savoir si les cellules bêta sont créées à partir de celles du pancréas exocrine ou non. La réponse est probablement oui. Certaines cellules acinaires du pancréas exocrine prolifèrent et se mettent à fabriquer des cellules bêta à un moment donné. En résumé, pour qu'il y ait création de cellules bêta qui fonctionnent convenablement, qui sécrètent de l'insuline, il faut une multiplication cellulaire, puis un arrêt et une différenciation correcte.

Parmi ces gènes figure TCF7L2, le principal facteur de transcription de la voie

Wnt. Il est activé par la bêta-caténine, protéine essentielle dans cette voie, qui rentre dans le noyau. HHEX est un autre facteur de transcription, cible de TCF7L2, qui prédispose au diabète. Il est primordial pour tout ce qui est endothélium. Le troisième gène associé à cette maladie est EXT2. Il code l'enzyme qui permet de fabriquer les héparanes sulfates protéoglycanes, des protéines de régulation de plusieurs voies, dont la voie Wnt, mais aussi la voie FGF (Fibroblast growth factor) et de différents facteurs de croissance. Donc, EXT2 joue probablement un rôle dans la croissance du pancréas, tout comme EGF (Epidermal growth factor). Ce genre de protéine n'intervient pas seulement dans la croissance osseuse mais aussi dans l'organisation de la matrice extracellulaire. La matrice, c'est comme une toile d'araignée où se déposent les cellules. Elle est très importante dans un grand nombre de tissus, tissus gras, tissus pancréatique, mais probablement beaucoup d'autres encore. Ces cellules ont une façon de communiquer très rapide, un peu comme des neurones. C'est la façon dont elles sont placées dans cette matrice qui leur permet cette vitesse de communication. De nombreux arguments laissent penser que les anomalies de la matrice modifient le réseau de communication entre les cellules qui s'y trouvent et peut notamment modifier la sécrétion d'insuline. « Il est important de noter qu'on trouve des gènes de développement embryonnaire associés à la prédisposition au diabète. Nous postulons qu'ils jouent un rôle dans la vie adulte, même s'il est plus compliqué à mettre en évidence qu'au cours du développement. Quant à la possibilité d'en faire une cible thérapeutique, cela semble difficile. Je ne pense pas qu'on pourra les attaquer directement, il faudra s'en prendre à leurs cibles », indique Philippe Froguel.

Les équipes françaises et canadiennes ont découvert un quatrième gène associé au risque de diabète, qui code pour un transporteur de zinc, oligo-élément indispensable à la vie et au fonctionnement d'environ 10 % des protéines du corps humain. Plusieurs millions de personnes meurent directement ou indirectement d'un déficit en zinc chaque année dans le monde, notamment dans les pays en voie de développement. Les scientifiques et les médecins savent depuis quarante ans que cette insuffisance est associée à un risque de diabète. Dans tout l'organisme, la concentration intracellulaire en zinc est très élevée et doit être maintenue par des transporteurs de zinc qui le font entrer dans la cellule. Mais certains d'entre eux ont un rôle différent, ils introduisent l'oligo-élément dans des granules de sécrétion d'hormones. C'est le cas du Zinc Transporteur 8, ZnT8, codé par le gène SLC30A8, qui est associé au diabète. « Nous avons vérifié après publication qu'il est présent uniquement dans les cellules pancréatiques », complète Philippe Froguel. Les cellules bêta contiennent des granules d'exocytose renfermant un hexamère d'insuline, 6 molécules fixées au milieu par une molécule de zinc. ZnT8 fait entrer l'oligo-élément dans la granule, où il est apparemment plus concentré que dans le cytoplasme. Donc sans zinc ou sans concentrateur de zinc, pas de granule correcte, pas de sécrétion d'insuline.

Cibles thérapeutiques

Dans le gène SLC30A8, les chercheurs ont identifié une vraie mutation, qui transforme un acide aminé en un autre, très associée au DT2. Cette découverte donne une cible thérapeutique d'autant plus intéressante que d'autres études ont montré qu'une augmentation de la quantité de transporteur de zinc dans une cellule bêta entraîne une meilleure production d'insuline. Il faudrait trouver une molécule très spécifique de ZnT8, un activateur, qui rentrerait dans toutes les cellules, mais comme ce transporteur de zinc se trouve uniquement dans les cellules bêta, il n'y aurait pas d'effet secondaires. « Reste à trouver cette molécule, mais je ne suis pas chimiste, ça ne relève pas de ma compétence ! Nous travaillons avec des gens qui décryptent la structure cristallographique de ZnT8. Si on veut « designer » une bio-molécule, il faut bien connaître sa structure », explique le chercheur. « Nous avons mis en évidence d'autres associations, moins marquées, que nous continuons d'examiner. D'autres équipes ont fait des études similaires et vont globalement publier les mêmes résultats prochainement. De notre côté, nous allons poursuivre ces recherches avec des cohortes plus grandes, comprenant 5 000 sujets. D'ici la fin de l'année, on arrivera probablement à une liste de 15 à 20 gènes de prédisposition au diabète. Cela nous permettra d'envisager des cibles thérapeutiques différentes et de prédire le risque de devenir diabétique avec plus d'acuité. »

Dépistage et médecine à la carte

Les allèles de prédisposition au diabète mis en évidence dans l'article de Nature sont majoritairement des allèles sauvages, ancestraux, très représentés dans la population. La théorie dite du « génotype d'épargne » pourrait expliquer cette répartition. Elle postule que les gènes impliqués dans le diabète, l'obésité ou les maladies cardiovasculaires présentaient un avantage sélectif dans la situation où l'homme était très actif, où il se dépensait beaucoup physiquement sans avoir de nourriture à profusion, sinon une alimentation frugale. Alors qu'un homme préhistorique dépensait environ 5 000 calories par jour, un paysan du XVIII^e siècle, 3 000 calories, nous en dépensons péniblement entre 1 500 et 2 000 ! Avec le changement de mode de vie, les allèles stimulant l'appétit, favorisant la croissance et le stockage d'énergie plutôt que sa dépense qui conféraient un avantage sélectif dans les temps immémoriaux sont devenus nocifs aujourd'hui !

Puisque ces allèles nous concernent presque tous, est-ce qu'un message incitant à une bonne hygiène de vie, à manger sainement ne pourrait pas suffire ? « S'il est adressé à toute la population, ça ne sert à rien. Je ne crois pas aux dispositifs de prévention généraux : tout le monde sait qu'il ne faut pas fumer, pas boire, ni grossir. Résultat : l'obésité augmente, en France, de 6 % par an, nous avons encore un fort taux d'alcoolisme, et le nombre de fumeurs baisse, mais ça n'est pas spectaculaire. Le cancer du poumon n'a jamais empêché les jeunes de fumer ! Les mesures coercitives, comme

l'augmentation du prix du tabac, ont été plus efficaces. Le drame du sida nous a appris une chose : la prévention marche dans les groupes à risque », poursuit le chercheur.

Alors que faire ? L'idée de Philippe Froguel consiste à repérer des adolescents dont un parent est diabétique, au moment où ils commencent à grossir. Puis faire un test et évaluer leur risque de développer le diabète. Aujourd'hui quelques gènes de prédisposition seulement ont été découverts. Mais lorsque la liste atteindra 15 ou 20 gènes, les scientifiques pourront développer des tests permettant de dépister les jeunes qui vont réellement devenir diabétiques, dont le risque absolu, et pas seulement le risque relatif, est grand. S'il arrive à prédire 80 % des diabétiques, le test pourra être réalisé à grande échelle. Mais encore faut-il que le corps médical soit prêt à aider les sujets détectés à risque. S'il s'agit uniquement de les inquiéter, autant ne rien faire. Plusieurs stratégies peuvent être envisagées. Des études ont montré que la prise en charge d'enfants prédisposés à devenir diabétiques permet de réduire de moitié leur risque de développer la maladie, rien qu'en leur faisant pratiquer un sport, en les incitant à manger sainement et à ne pas grossir. La voie médicamenteuse n'est cependant pas à exclure, si certaines cures peuvent endiguer le développement de la maladie. « Mais on ne peut pas soigner 3 millions de diabétiques avec le même médicament. Le diabète a plusieurs étiologies : c'est cette cause qu'il faut soigner, et non la conséquence. La médecine se doit d'être personnalisée. » D'autant plus que le traitement du diabète est assez médiocre, il fonctionne correctement au début, mais cesse d'être efficace après un certain temps. On observe une détérioration progressive presque systématique de l'état des diabétiques. S'ensuivent toutes les complications de la maladie...

Perspectives

« Ce que nous avons fait, c'est un défrichage. Nous allons maintenant vérifier nos résultats chez 5 000 sujets avec d'autres puces. Puis nous mettrons nos résultats en commun avec d'autres équipes pour former un consortium mondial d'ici la fin de l'année et travailler à grande échelle. » Viendra alors le tour d'études épidémiologiques chez 20 000 sujets collectés en Europe, qui seront suivis pendant dix ans, pour prouver que les gènes mis en cause sont essentiels au diabète. Il faudra ensuite chercher les mutations causales dans chacun de ces gènes. Si tout se déroule sans problème, ce programme sera terminé dans deux ans et les scientifiques pourront tester ces mutations en grandeur réelle. D'ici là, les puces à ADN seront moins chères et plus faciles à utiliser. « Mais est-ce que les pouvoirs publics, les assurances auront envie de payer tout cela ? Les médecins voudront-ils utiliser ce test ? Là, ça ne dépendra plus de moi ! », explique Philippe Froguel.

Recherche de biomarqueurs dans le sang

La recherche de corrélation entre ces variants de l'ADN et des biomarqueurs mesurés dans le sang constitue un autre axe de recherche de l'équipe de Philippe Froguel. Il s'agit d'essayer de trouver des protéines sériques faciles à mesurer, dont le taux indique l'état d'avancement de la maladie avant qu'elle ne se déclare, car, quand la glycémie monte, c'est un peu tard. « Trouver des marqueurs de l'état infra-clinique chez les personnes prédisposées au diabète, c'est tout l'enjeu des années à venir. Nous allons, de notre côté, travailler avec des équipes spécialistes de ces questions. Il faudra imaginer comment les gènes de prédisposition peuvent agir, conjecturer les protéines dont la quantité peut varier et développer de bons anticorps qui leur soient très spécifiques. Bien évidemment, il est nécessaire que ces marqueurs soient faciles à mesurer. Pour obtenir ces résultats, nous devons faire des paris et avoir du flair ! »

Anne de Reyniès

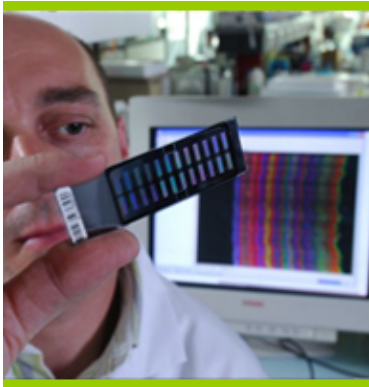
- [La protéomique au service des bébés](#)
- [Diagnostic, pronostic, thérapeutique : un programme ambitieux pour les lésions hépatiques](#)
- [IL-18 et PLA2 ou comment trouver des biomarqueurs cardiovasculaires sans vraiment les chercher](#)
- [Gènes de prédisposition au diabète, une belle avancée](#)
- [Les mutations de KRAS dans les cancers colorectaux métastatiques](#)

Bibliographie

Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, Boutin P, Vincent D, Belisle A, Hadjadj S, Balkau B, Heude B, Charpentier G, Hudson TJ, Montpetit A, Pshezhetsky AV, Prentki M, Posner BI, Balding DJ, Meyre D, Polychronakos C, Froguel P. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. Nature. 2007;445(7130):881–5.



Laboratoire UMR8090
Auteur : Patrick Allard



Puces à ADN Illumina
Auteur : Patrick Allard



Echantillon d'ADN
en azote liquide
Auteur : Patrick Allard