



Fundació
La Marató de TV3
22è SIMPOSIUM
Diabetis i Obesitat



LES XARXES REGULADORES EN CIS DE LES CÈL·LULES BETA I LA DIABETIS TIPUS 1

Lorenzo Pasquali

HUGTiP Institut d'Investigació Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

1. Resum

La diabetis de tipus 1 (DT1) és una malaltia crònica autoimmunitària que es desenvolupa com a conseqüència d'una combinació entre la predisposició genètica i els factors ambientals. Aquesta combinació desencadena un atac autoimmunitari molt agressiu contra les cèl·lules β del pàncrees, encarregades de produir insulina, fet que provoca una inflamació local als illots pancreàtics (insulitis) i una pèrdua progressiva de cèl·lules β a causa de l'apoptosi. Tot i això, el coneixement sobre els mecanismes moleculars que desencadenen T1D continua sent limitat.

Durant els primers estadis de la insulitis, la inflamació contribueix a una inducció primària del sistema immunitari, seguida d'una amplificació secundària mitjançant mediadors inflamatoris, la qual cosa contribueix a la supressió i a l'apoptosi de les cèl·lules β . En aquest context s'estableix un «diàleg» entre les cèl·lules immunitàries invasores i les cèl·lules β diana, mediat per citocines/quimiocines alliberades per ambdues poblacions cel·lulars, i mantingut posteriorment per senyals immunogènics enviats per les cèl·lules β apoptòtiques o alterades. Tot i que certs avenços han permès un coneixement parcial de la fisiopatologia d'aquesta malaltia, els mecanismes principals pels quals s'inicia i s'agreuja l'autoimmunitat a la DT1 encara resten sense explicació.

En aquest projecte vam demostrar que l'estrès immunitari té un impacte important en l'estructura de la cromatina de les cèl·lules β . Hem trobat que la resposta de les cèl·lules β a les citocines està mediada per la inducció de noves regions reguladores, així com per l'activació d'elements reguladors *primed* y prelligats per factors de transcripció específics dels illots pancreàtics.

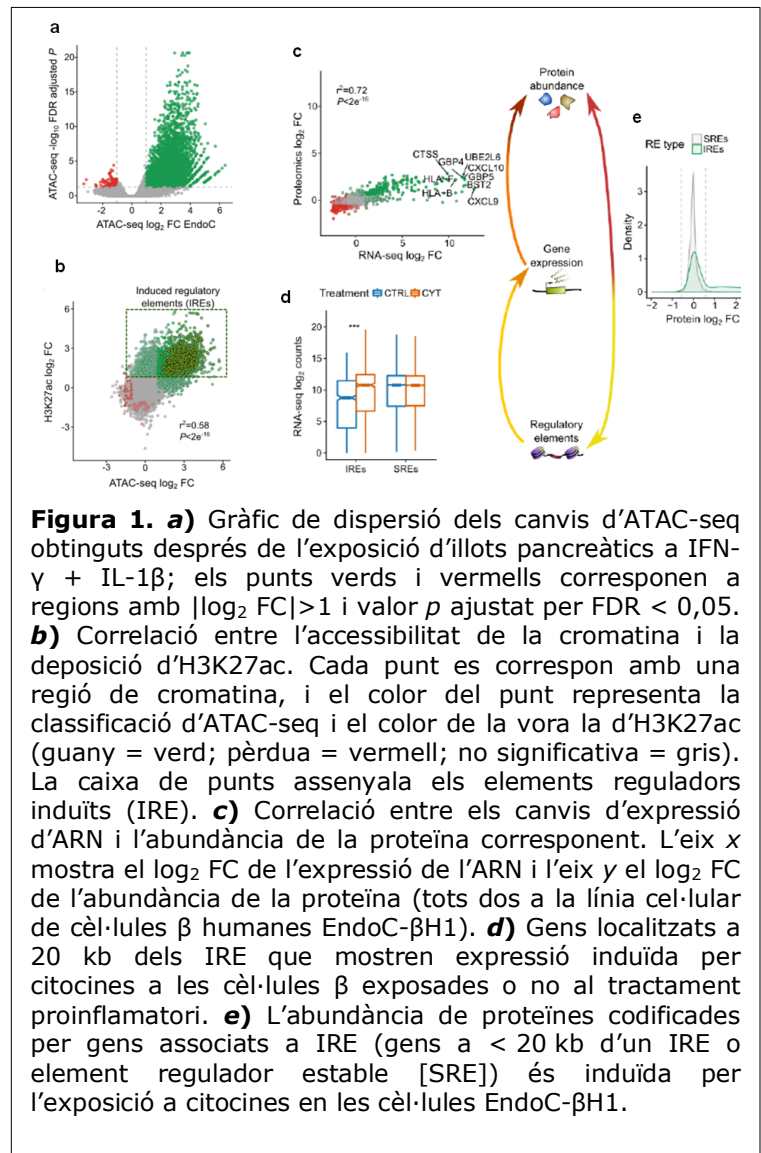
Sorprenentment, vam observar que les variants associades a la DT1 eren enriquides en els elements reguladors que responien a citocines en els illots humans i vam identificar aquelles variants associades a la DT1 que alteren l'activitat dels *enhancers* que responen a citocines en les cèl·lules β .

2. Resultats

En exposar els illots pancreàtics humans a citocines proinflamatòries, vam descobrir que es creava una remodelació profunda de la cromatina amb una activació generalitzada dels elements reguladors distals. A través d'ATACseq vam mostrar que ~12.500 llocs de cromatina es tornaven accessibles, determinats per un $\log_2\text{fold change} > 1$ amb un valor p ajustat $< 0,05$ (es mostren en verd a la figura 1a). Aquests canvis en l'accessibilitat de la cromatina es van combinar amb un conjunt de marques activadores de cromatina d'H3K27ac, fet que va desemascarar ~3.800 nous elements reguladors induïts (IRE, *induced regulatory elements*) per les citocines en illots humans (figura 1b), els quals estaven correlacionats amb l'expressió i els canvis proteics dels gens proximals (figura 1c-e).

D'altra banda, l'anàlisi de les dades de ChIP-seq als illots humans i la composició de les seqüències dels elements reguladors activats, va mostrar que $> \frac{1}{3}$ dels elements reguladors de resposta a citocines en els illots humans estaven prèviament units a factors de transcripció

(HNF1A/B, NEUROD1, PDX1, MAFB, NKX6.1, entre d'altres), i que posteriorment s'unien a factors de transcripció activats per la resposta inflamatòria, com IRF, STAT i NF- κ B, després del tractament amb citocines. Aquestes observacions, juntament amb els resultats obtinguts prèviament en altres estudis no basats en illots humans, ens van



permetre hipotetitzar que els *enhancers* units prèviament a factors de transcripció específics de teixit podrien facilitar una resposta cel·lular proinflamatòria en aquestes condicions.

Sorprenentment, hem trobat que els elements reguladors induïts per citocines estan enriquits en els *loci* associats a la DT1, fet que obre noves possibilitats a la identificació de dianes genètiques en les cèl·lules β amb un paper potencial en la patogènesi de la DT1. Aquests descobriments suggereixen un nou mecanisme de patogènesi en la DT1 que vincula la susceptibilitat genètica de la DT1 amb les respostes de les cèl·lules β a estímuls externs. En altres paraules, les variants de DT1 podrien actuar a escala de les cèl·lules β , però aquest efecte només es manifestaria en resposta a senyals inflamatoris extrínsecs. Per tant, les variants funcionals de DT1 en illots no mapen els seus elements reguladors sense pertorbar, sinó que només poden ser capturades quan estudiem mapes reguladors *cis* generats en resposta a un estímulo. Aquests resultats també suggereixen que un subconjunt de les variants funcionals de DT1 podria interferir en la regulació de les respostes induïdes per estímuls externs que produeixen estrès cel·lular.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

L'èxit limitat dels fàrmacs que bloquegen l'autoimmunitat en la DT1 és a causa principalment de dos factors. Primer, la manca de coneixement dels mecanismes moleculars que desencadenen i mantenen la destrucció autoimmunitària de les cèl·lules β limita el desenvolupament de fàrmacs amb dianes etiològiques. Segon, el poc èxit de fàrmacs que bloquegen l'autoimmunitat en el moment de la diagnosi clínica suggereix que les teràpies haurien d'iniciar-se de manera primerenca, abans del dany irreversible provocat a les cèl·lules productores d'insulina. Aquestes observacions destaquen la necessitat de trobar marcadors primerencs, genètics o moleculars, de la malaltia.

Els resultats obtinguts en el present projecte van permetre identificar variants genètiques funcionals que podrien ser emprades per permetre un diagnòstic d'hora, previ a la destrucció autoimmunitària de les cèl·lules β . La integració de les nostres dades amb el

coneixement actual de l'arquitectura genètica de la DT1 permetrà refinar els *polygenic risk scores (PRS)* per detectar individus amb risc de desenvolupar la malaltia i així influir en el maneig clínic dels pacients.

És més, la identificació dels gens diana d'aquestes variants obre la possibilitat de continuar el projecte actual mitjançant el testeig de fàrmacs que podrien prevenir la disrupció de les cèl·lules β durant la patogènesi de la DT1.

4. Bibliografia científica generada

Ramos-Rodríguez M, Raurell-Vila H, Colli ML, Alvelos MI, Subirana-Granés M, Juan-Mateu J, Norris R, Turatsinze JV, Nakayasu ES, Webb-Robertson BM, Inshaw JRJ, Marchetti P, Piemonti L, Esteller M, Todd JA4, Metz TO, Eizirik DL, Pasquali L.

The impact of proinflammatory cytokines on the β -cell regulatory landscape provides insights into the genetics of type 1 diabetes.

Nature Genetics 51(11):1588-1595. 2019.

Eizirik D, Pasquali L, Cnop M.

Pancreatic β -cells in human type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure

Nature Endocrine Reviews 16 (7), 349-362 2020.

Colli M, Ramos-Rodríguez M, Nakayasu E, Alvelos M, Lopes M, Hill J, Turatsinze JV, Coomans de Brachène A, Russell M, Raurell-Vila H, Castela A, Juan-Mateu J, Webb-Robertson BJ, Krogvold L, Dahl-Jorgensen K, Marselli L, Richardson S, Morgan N, Metz T, Marchetti P, Pasquali L, Eizirik D.

An integrated multi-omics approach identifies the landscape of interferon- α -mediated responses of human pancreatic beta cells.

Nature communications 11 (1), 1-17 25 2020.

Raurell-Vila H, Ramos-Rodríguez M, Pasquali L.

Assay for Transposase Accessible Chromatin (ATAC-Seq) to Chart the Open Chromatin Landscape of Human Pancreatic Islets.

Methods Mol Biol. 1766:197-208. 2018.