



**HAL**  
open science

# Inhibiteur de Tpl2 et agoniste du récepteur GLP-1 : Une nouvelle combinaison thérapeutique prometteuse pour lutter contre le diabète de type 2 ?

Morgane Delobel

## ► To cite this version:

Morgane Delobel. Inhibiteur de Tpl2 et agoniste du récepteur GLP-1 : Une nouvelle combinaison thérapeutique prometteuse pour lutter contre le diabète de type 2?. Sciences agricoles. Université Montpellier, 2021. Français. NNT : 2021MONTT055 . tel-03558246

**HAL Id: tel-03558246**

**<https://theses.hal.science/tel-03558246v1>**

Submitted on 4 Feb 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Biologie-Santé

École doctorale Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé (CBS2)

Unité de recherche Institut de Génomique Fonctionnelle

## Inhibiteur de TPL2 et agoniste du récepteur GLP-1 : une combinaison thérapeutique prometteuse pour lutter contre le diabète de type 2.

Présentée par Morgane DELOBEL

Le 24 Septembre 2021

Sous la direction de Stéphane DALLE et Magalie RAVIER

Devant le jury composé de

Mme Catherine OIRY-CUQ, Professeur, Université de Montpellier

M. Stéphane DALLE, Docteur, Université de Montpellier

Mme Magalie RAVIER, Docteur, Université de Montpellier

Mme Jamileh MOVASSAT, Professeur, Université de Paris

M. Jean-François TANTI, Docteur, Université de Nice

M. Amar ABDERRAHMANI, Professeur, Université de Lille

Président

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse

Rapporteur

Rapporteur

Examinateur



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

# REMERCIEMENTS

---

*Aux membres du Jury,*

Merci à Jamileh Movassat et Jean-François Tanti d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse.

Merci à Amar Abderrahmani d'avoir suivi ce travail depuis le début avec les comités de suivi de thèse et pour tous les conseils sur ce projet ainsi que pour notre collaboration. Nos échanges scientifiques ont été un réel plaisir. Merci d'avoir accepté d'être examinateur de ce travail.

Merci à Catherine Oiry-Cuq d'avoir répondu présente à chaque comité de suivi de thèse et pour tous les conseils donnés. Je suis ravie que vous présidiez ce jury de thèse, je vous remercie pour ça.

*Aux collègues et amis du laboratoire,*

Merci à Eric Renard qui m'a permis d'avoir cette bourse de thèse et accepté de financer ces trois années.

Merci à Isabelle Vachier pour vos réponses à chacune de mes questions et votre réactivité. Mais également pour votre bienveillance.

Stéphane, je te remercie de m'avoir accueilli au sein de cette équipe lors de mon stage de Master 2 et de m'avoir proposé ce projet ensuite. Je te remercie pour l'autonomie et la liberté que tu m'as accordées. Tu as rapidement perçu mon manque de confiance en moi et je te remercie de m'avoir encouragée et soutenue, notamment pour les prises de parole en public. Merci pour ta confiance et ton côté toujours positif qui aide à relativiser quand on est face à des résultats difficilement interprétables !

Magalie, tu m'as beaucoup apporté autant sur le plan scientifique qu'humain. Ta pétillance donne envie de travailler à tes côtés. Tu es une personne que j'admire beaucoup, toujours là pour les autres... qui a le cœur sur la main. Merci pour tout, l'apprentissage des techniques, l'ensemble de tes conseils, ta bienveillance et ton soutien... Le bruit rythmé de tes petits pas va me manquer !

Safia, un grand merci. Tu ne peux savoir tout ce que tu m'as apporté au cours de toutes ces années. C'est un plaisir de travailler avec toi, de parler de tout et de rien avant de se recentrer sur les choses qui fâchent ! Si l'efficacité devait porter un nom, ce serait le tien ! Peu importe le sujet, lorsque l'on en discute, tout paraît finalement si simple. Merci pour tout et surtout pour ton soutien au quotidien !

Gyslaine, je te remercie pour tes encouragements pour que je passe au-dessus de ma timidité et pour les discussions scientifiques que nous avons pu avoir qui m'ont permis de réfléchir davantage à mes protocoles ! Mais également de toujours m'avoir donné confiance en moi en me disant que j'en étais capable !

Nour, merci pour toutes les bêtises que tu as pu dire ou faire ! Le laboratoire sans toi serait moins fun, tu apportes la bonne humeur et nos conversations philosophiques étaient plus que passionnantes. Tout ça va me manquer.

Sabrina, merci pour ton soutien depuis le début de ma thèse. Nos pauses déjeuner (quand on en prenait !) étaient parfois un défouloir et faut dire que ça fait du bien ! J'ai envie de croire que de nous raconter nos vies pour se libérer l'esprit nous a rendu plus productives :P !

*A mes amis,*

Anne, Juliette, Sofie, Micka et Kévin je vous suis sincèrement reconnaissante pour votre soutien sans faille depuis toujours ! Si je suis celle que je suis c'est aussi grâce à vous. Plus que des amis vous êtes ma famille. Merci d'être toujours là !

Camille et Claire... que dire ?? Mille merci pour votre soutien ! Mieux que quiconque vous savez.. vous connaissez toutes les galères car on les a traversées ensemble.. du Master jusque-là.. Même si c'est parfois difficile de se voir avec nos emplois du temps de ministre, notre amitié sincère fait que rien ne nous arrête ! Pour compléter ce groupe de Master, je te remercie Maxime, pour toutes nos conversations profondes, ton soutien et ton amitié.

Marion, je ne pensais pas que mes premiers jours à la fac me feraient rencontrer une si belle personne. Dès les premiers instants, c'était comme si on s'était toujours connues ! Nos sorties m'ont permis de respirer quand ça devenait compliqué. Merci pour tout !

Nassim, si quelqu'un m'avait dit qu'on pouvait se faire un ami comme ça à partir d'un jeu en ligne, je ne l'aurais pas cru. Merci pour tes encouragements et ton soutien !

*A ma famille,*

Je ne saurais comment vous remercier et ces quelques lignes ne seront jamais à la hauteur de ma gratitude envers vous... Vous avez toujours cru en moi et sans ça, je ne serais certainement pas allée si loin. A mes parents, mes frères et sœurs (beauf compris :P), mes neveux et ma belle-famille, un immense merci pour votre soutien, votre amour et pour tous ces moments partagés qui m'ont fait m'évader, prendre du recul sur les choses, prendre confiance en moi et réussir.

Lucas, mon fiancé (et oui je suis fière :P), merci pour tout depuis douze ans... Si tu as pu me supporter tout ce temps, c'est que tu ne peux qu'être quelqu'un d'exceptionnel ! Ton réconfort, ton aide dans les moments les plus durs, tes moments de folies et tout simplement ta présence à mes côtés m'ont permis d'en arriver là, je n'aurais pu y arriver sans toi c'est certain. Toi qui me permets de m'épanouir chaque jour de plus en plus et qui m'a permis d'avoir notre merveilleux Liam. Merci à vous deux, vous qui me remplissez chaque jour de bonheur !

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

### A

Aa : acides aminés

AGE : produits finaux de glycation avancée

AGNE : acide gras non estérifié

ADP : adénosine diphosphate

AMPK : protéine kinase activée par l'AMP

Apaf : facteur d'activation de la peptidase apoptotique

ARNm : aide ribonucléique messenger

ATF : « activating transcription factor »

ATP : adénosine triphosphate

ASK : kinase régulatrice du signal d'apoptose

### B

Bax : « Bcl2-Associated X Protein »

Bcl : lymphome à cellule B

### C

Caspase : « cysteine aspartyl specific proteases »

CAT : catalase

CCK : cholécystokinine

CHOP : « C/EBP-Homologous Protein »

CRE : élément de réponse à l'AMPc

CREB : protéine de liaison à la CRE

CuZnSOD : « copper zinc superoxide dismutase »

### D

DISC : complexe de signaux induisant la mort

DLK : « dual leucine zipper kinase »

DPP-4 : dipeptidyl peptidase-4

DT1 : diabète de type 1

DT2 : diabète de type 2

### E

EGFR : récepteur du facteur de croissance épidermique

eIF2 : facteur d'initiation de la traduction eucaryote

ERK : protéine kinase régulée par les signaux extracellulaires

### G

GIP : polypeptide insulino-trope glucose-dépendant

GKA : activateur de la glucokinase

GLP-1 : « Glucagon Like Peptide-1 »

GLP-1R : récepteur du GLP-1

GPx : glutathion peroxydase

### H

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxide d'hydrogène

HO-1 : hème oxygénase 1

### I

IAPP : polypeptide amyloïde de l'îlot pancréatique

ICAD : inhibiteur de la désoxyribonucléase active par la caspase

ICER : répresseur transcriptionnel inducible par l'AMPc

iDPP-4 : inhibiteur DPP-4

IRE1 : enzyme 1 nécessitant l'inositol

IRS-2 : substrat 2 du récepteur à l'insuline

## **J**

JNK : protéine kinase N-terminale c-jun

## **L**

LPS : Lipopolysaccharide

## **M**

MafA: « musculoaponeurotic fibrosarcoma A »

MAPK : protéine kinase activée par les mitogènes

MAP2K : MAPK Kinase

MAP3K : MAP2K Kinase

MAPKAPK : protéine kinase activée par les MAPKs

MnSOD : manganèse superoxide dismutase

MODY : « maturity onset diabetes of the young »

## **N**

NADPH : « nicotinamide adenine dinucleotide phosphate »

NeuroD1 : facteur de différenciation neurogénique 1

NFκB : facteur nucléaire kappa B

NOD : diabétique non obèse

NPY : neuropeptide Y

NQO1 : NADPH quinone déshydrogénase 1

## **O**

O<sub>2</sub><sup>-</sup> : anion superoxide

OH<sup>-</sup> : anion hydroxide

## **P**

PACAP : polypeptide activateur de l'adénylate cyclase hypophysaire

PARP : poly(ADP-ribose)polymérase

Pb : paire de base

PDX-1 : « Pancreatic duodenal homeobox-1 »

PERK : protéine kinase du réticulum endoplasmique pancréatique

PKA : protéine kinase A

PLC : Phospholipase C

## **R**

RAGE : récepteur des protéines AGE

RCPG : récepteur couplé aux protéines G

RE : réticulum endoplasmique

ROS : espèce réactive de l'oxygène

RSK : kinase ribosomale S6

## **S**

SN : système nerveux

## **T**

TNF : facteur de nécrose tumorale

TRADD : domaine de mort associé au TNF

## **U**

UCP2 : protéine de découplage 2

UPR : réponse aux protéines non repliées

## **V**

VDCC : canaux calciques voltage dépendant

## **X**

XBP1 : « X-box binding protein-1 »

# TABLE DES FIGURES

---

<b>Figure 1</b> : Voies de régulation de la glycémie.....	12
<b>Figure 2</b> : Anatomie du pancréas.....	14
<b>Figure 3</b> : Différence organisationnelle de l'îlot de Langerhans humain et murin.....	15
<b>Figure 4</b> : Interaction des cellules de l'îlot de Langerhans : les effets paracrines des hormones sécrétées au sein de l'îlot pancréatique.....	16
<b>Figure 5</b> : Représentation de la région proximale du promoteur du gène de l'insuline.....	18
<b>Figure 6</b> : Biosynthèse de l'insuline au sein de la cellule $\beta$ pancréatique.....	19
<b>Figure 7</b> : Effets de l'insuline sur ses tissus cibles.....	20
<b>Figure 8</b> : Voies de signalisation de l'insuline.....	21
<b>Figure 9</b> : Déclenchement de la sécrétion d'insuline par le glucose.....	24
<b>Figure 10</b> : La grande famille des MAPKs : signalisation et réponses biologiques.....	26
<b>Figure 11</b> : Voies de régulation de la masse fonctionnelle des cellules $\beta$ pancréatiques par le glucose.....	29
<b>Figure 12</b> : Voies de signalisation des récepteurs couplés aux protéines G.....	31
<b>Figure 13</b> : Effets du GLP-1 sur la cellule $\beta$ pancréatique.....	34
<b>Figure 14</b> : Répartition mondiale du diabète.....	39
<b>Figure 15</b> : Systèmes de compensation et décompensation du pancréas.....	41
<b>Figure 16</b> : Régulation de la glycémie : mécanismes physiologique et physiopathologique.....	44
<b>Figure 17</b> : Mécanisme d'apoptose : voies intrinsèque et extrinsèque.....	46
<b>Figure 18</b> : Mécanismes impliqués dans la mort des cellules $\beta$ pancréatiques .....	48
<b>Figure 19</b> : Relation entre macrophage et cellule $\beta$ pancréatique, par le biais de l'inflammasome et de la production d'IL-1 $\beta$ .....	50
<b>Figure 20</b> : Effets physiologiques et physiopathologiques de l'IAPP.....	52
<b>Figure 21</b> : Voies du stress du réticulum endoplasmique.....	54
<b>Figure 22</b> : Pharmacothérapie du diabète de type 2.....	64
<b>Figure 23</b> : Mécanisme d'activation de TPL2.....	67
<b>Figure 24</b> : Boucle de régulation de l'expression de TPL2 par p38.....	68
<b>Figure 25</b> : TPL2 et récepteurs couplés aux protéines G.....	73
<b>Figure 26</b> : Inhibiteurs de TPL2.....	75

# TABLE DES MATIERES

---

REMERCIEMENTS.....	1
LISTE DES ABREVIATIONS.....	3
TABLE DES FIGURES.....	5
TABLE DES MATIERES.....	6
SITUATION DU PROJET.....	9
INTRODUCTION.....	11
CHAPITRE 1 : Physiologie de la cellule $\beta$ pancréatique – du pancréas à la cellule $\beta$ –.....	11
I. Régulation de la glycémie.....	11
II. Le pancréas : une glande mixte.....	13
1. Organisation, vascularisation et innervation.....	13
a) Organisation macroscopique.....	13
b) Organisation microscopique.....	13
c) Vascularisation et innervation.....	14
2. Anatomie fonctionnelle de l'îlot de Langerhans.....	15
a) Les différents types cellulaires.....	16
b) Vascularisation et innervation.....	17
III. La cellule $\beta$ pancréatique : cellule sécrétrice de l'insuline.....	18
1. L'insuline.....	18
a) Biosynthèse et structure.....	18
b) Fonction de l'insuline.....	19
c) Dégradation de l'insuline.....	21
2. La sécrétion d'insuline.....	22
a) Voies déclenchantes.....	22
b) Voies amplificatrices.....	23
c) Voies inhibitrices.....	23
3. Modulation de la fonction et de la masse des cellules $\beta$ par le glucose.....	23
a) Effets du glucose sur la fonction.....	23
b) Effets du glucose sur la masse.....	27
4. Modulation de la réponse au glucose par les récepteurs couplés aux protéines G....	30
a) Généralités et description.....	30
b) Les incrétines.....	32
c) Effets du GLP-1 sur la fonction et la masse.....	33
d) Autres récepteurs couplés aux protéines G.....	36
5. Modulation de la réponse au glucose par les récepteurs à activité tyrosine kinase....	36
a) Généralités.....	36
b) Effets du récepteur de l'insuline sur la fonction et la masse des cellules $\beta$ .....	37
c) Autres récepteurs à activité tyrosine kinase.....	38



CHAPITRE 2 : Physiopathologie de la cellule $\beta$ pancréatique - Le diabète - .....	39
I. Le diabète : une véritable pandémie.....	39
1. Diabète de type 1.....	39
2. Diabète de type 2.....	40
3. Autres diabètes.....	41
a) Diabète monogénique.....	41
b) Diabète néonatal (<6 mois).....	42
c) Diabète gestationnel.....	42
II. Le diabète de type 2 : facteurs favorisants et mécanismes impliqués.....	43
1. Définition.....	43
2. Facteurs de risque et comorbidités.....	43
3. Mécanismes impliqués.....	44
a) L'apoptose.....	45
b) La glucolipotoxicité ou nutri-stress.....	47
c) Le stress inflammatoire.....	49
d) La protéotoxicité.....	51
e) Le stress du réticulum.....	53
f) Le stress oxydant.....	56
g) La perturbation du flux autophagique.....	58
III. Stratégies thérapeutiques actuelles contre le diabète de type 2.....	60
1. Action sur l'insulinosensibilité : la metformine.....	60
2. Action sur la sécrétion d'insuline et effets trophiques .....	61
a) Les sulfamides hypoglycémiantes.....	61
b) Les glinides.....	61
c) Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4.....	61
d) Les inhibiteurs du co-transporteur sodium/glucose de type 2.....	62
e) Les agonistes du récepteur GLP-1.....	63
3. Combinaisons thérapeutiques.....	64
a) Accumulation de molécules.....	64
b) Les multiagonistes.....	65
CHAPITRE 3 : Inhibition de TPL2 : une nouvelle piste thérapeutique contre le diabète de type 2.....	66
I. Généralités et description de TPL2 .....	66
II. Mécanisme d'activation de TPL2 .....	67
III. Rôles de la protéine TPL2.....	69
1. Dans les cancers.....	69
2. Dans l'inflammation.....	70
3. Dans les maladies métaboliques.....	71
4. Autres rôles de TPL2.....	73
IV. Invalidation et inactivation de TPL2.....	74
1. Invalidation de TPL2.....	75

2. Inactivation de TPL2.....	75
a) 1-7-naphthyridine-3-carbonitriles.....	76
b) Quinoléine-3-carbonitriles.....	76
c) Thieno[2-3-c]pyridines.....	76
PROBLEMATIQUES ET OBJECTIFS.....	78
RESULTATS.....	80
DISCUSSION.....	116
PERSPECTIVES.....	121
CONCLUSION.....	124
BIBLIOGRAPHIE.....	125
ANNEXES.....	157

## SITUATION DU PROJET

---

Le diabète est considéré comme une véritable pandémie. C'est un problème majeur de santé publique puisque cette pathologie touche 463 millions de personnes et représente l'une des dix principales causes de décès dans le monde (Atlas du diabète 2019). Il existe plusieurs formes de diabète dont le Diabète de Type 1 (DT1) et le Diabète de Type 2 (DT2) qui sont majoritaires. Le DT2 est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'une résistance à l'insuline de ses tissus cibles et de la dysfonction et destruction progressive des cellules  $\beta$  pancréatiques, productrices de la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme. Malgré l'existence de nombreux traitements, il n'en existe actuellement aucun curatif et efficace dans le temps permettant de protéger la masse fonctionnelle des cellules  $\beta$  pancréatiques. L'étude et la compréhension des mécanismes intracellulaires sont donc nécessaires pour envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques. Les agonistes du récepteur GLP-1 (GLP-1RAs) sont largement prescrits pour stimuler la sécrétion d'insuline et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques afin de contrôler efficacement la glycémie et prévenir des complications liées au diabète (Doyle et Egan 2008). Cependant, leur efficacité diminue avec le temps et certains patients montrent une résistance à ce traitement (Knop et al. 2007). Il serait intéressant d'utiliser un agent complémentaire aux GLP-1RAs permettant d'améliorer les effets de ces molécules. TPL2 est une MAP3 kinase impliquée dans l'inflammation et l'utilisation d'un inhibiteur de TPL2 dans le cadre du DT1 a montré *in vitro* une réduction de l'inflammation associée à une meilleure fonction et survie des cellules  $\beta$  (Varin et al. 2016). Le blocage des effets délétères de l'environnement diabétique (hyperglycémie chronique) au sein de l'îlot par l'inhibiteur de TPL2 suppose une amélioration de la masse fonctionnelle des cellules  $\beta$  et une meilleure réponse au GLP-1 dans le cadre du DT2.

Après description de la physiologie de la cellule  $\beta$  pancréatique, de la physiopathologie du diabète comprenant mécanismes impliqués et thérapies actuelles, une nouvelle piste thérapeutique est proposée.



# INTRODUCTION

---

## CHAPITRE 1 : Physiologie de la cellule $\beta$ pancréatique

### - Du pancréas à la cellule $\beta$ -

#### I. Régulation de la glycémie

La principale source d'énergie de l'organisme est le glucose. Son taux dans le sang est finement régulé et permet le maintien d'un équilibre glycémique autour de 1g/L chez l'Homme. La modulation de la glycémie se fait à tout moment et est impactée par nos actions. Elle peut être augmentée lors d'une prise alimentaire ou bien diminuée par des exercices physiques par exemple. La régulation de la glycémie est fondamentale pour la survie de l'organisme, puisqu'une hypoglycémie ou à l'inverse une hyperglycémie ont des effets néfastes sur l'organisme. Cette régulation est permise par de nombreux organes dont le cerveau, le foie, les tissus adipeux, les muscles et le pancréas. Au niveau cérébral, c'est plus précisément l'hypothalamus et le tronc cérébral qui ont un rôle dans l'homéostasie du glucose par sa détection et sa régulation dans le sang via le contrôle de la prise alimentaire et de la balance énergétique. La connexion entre le système nerveux autonome et les organes passent par les nerfs vagues et splanchniques qui transmettent et reçoivent de nombreux signaux (De Vadder et Mithieux 2015). Lors d'une prise alimentaire, l'absorption des nutriments se réalise majoritairement dans l'intestin et permet l'augmentation de la glycémie. Cela entraîne une augmentation de la sécrétion d'insuline et une diminution de la sécrétion du glucagon, hormones produites respectivement par les cellules  $\beta$  et  $\alpha$  pancréatiques. La sécrétion de l'insuline permet : le stockage du glucose sous forme de glycogène (glycogénogenèse) dans le muscle, le stockage du glucose en excès sous forme de glycogène dans le foie et la production de triglycérides à partir de glucose (lipogenèse) qui sont stockés sous forme de gouttelettes lipidiques représentant une réserve énergétique importante dans le tissu adipeux. L'ensemble de ces mécanismes permettent l'augmentation de la capture du glucose et la diminution de la production de glucose hépatique, ramenant l'organisme à un équilibre glycémique (Han et al. 2016) (**Figure 1**).

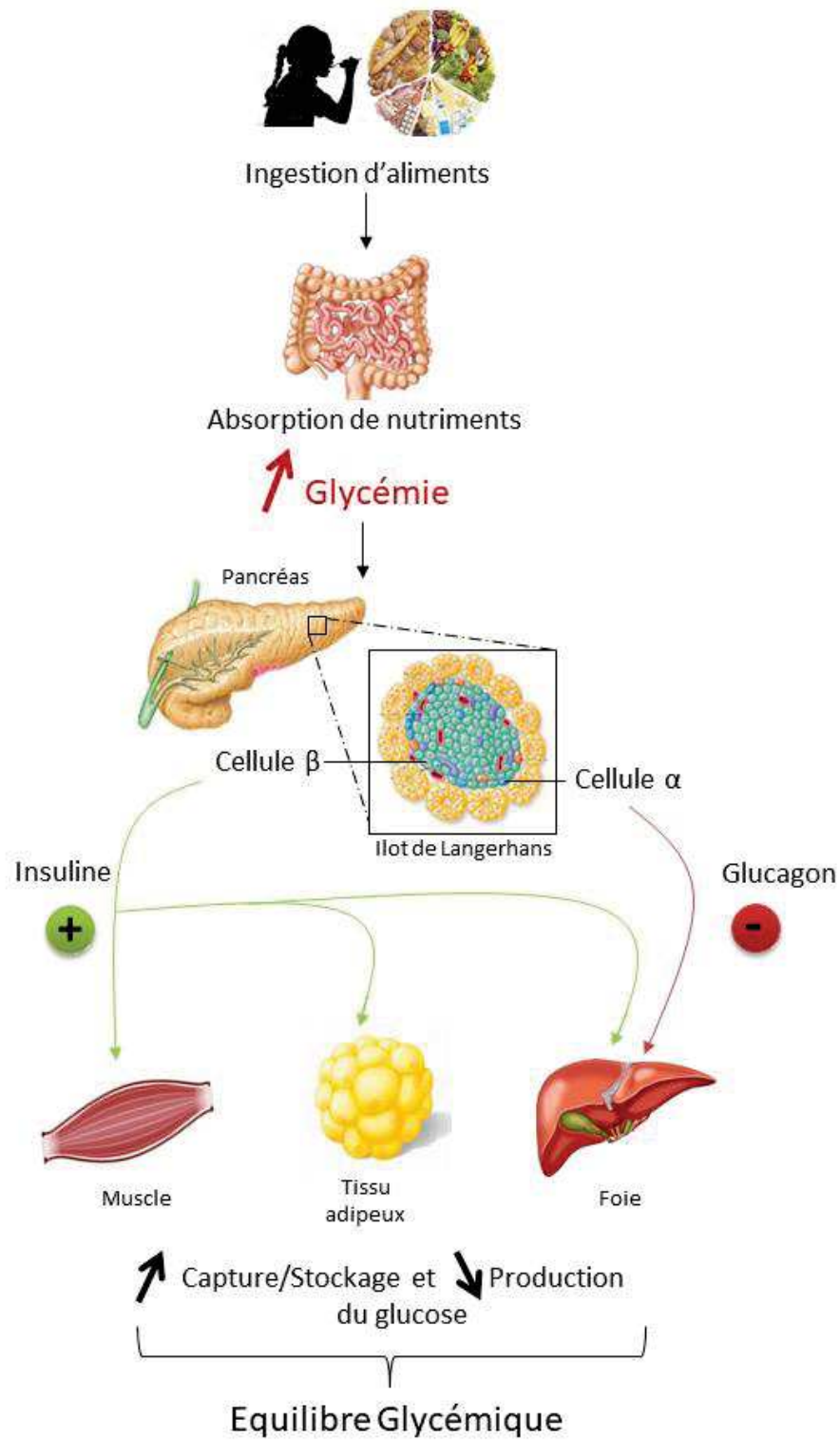


Figure 1 : Voies de régulation de la glycémie.

## II. Le pancréas : une glande mixte

Le pancréas est situé en position rétropéritonéale, dans la partie supérieure de l'abdomen. C'est une glande mixte hétérotypique, composée à la fois de tissu exocrine (98-99%) et endocrine (1-2%). Les substances produites par le pancréas exocrine sont délivrées par un canal excréteur dans le milieu extérieur alors que les hormones produites par le pancréas endocrine sont directement délivrées dans la circulation sanguine et permettent le maintien de l'homéostasie glucidique (Röder et al. 2016).

### 1. Organisation, vascularisation et innervation du pancréas

Il existe des variations d'organisation macroscopiques et microscopiques du pancréas entre les espèces. Le pancréas murin, qui est le modèle le plus étudié dans la recherche, est comparé ci-dessous avec le pancréas humain.

#### *a) Organisation macroscopique*

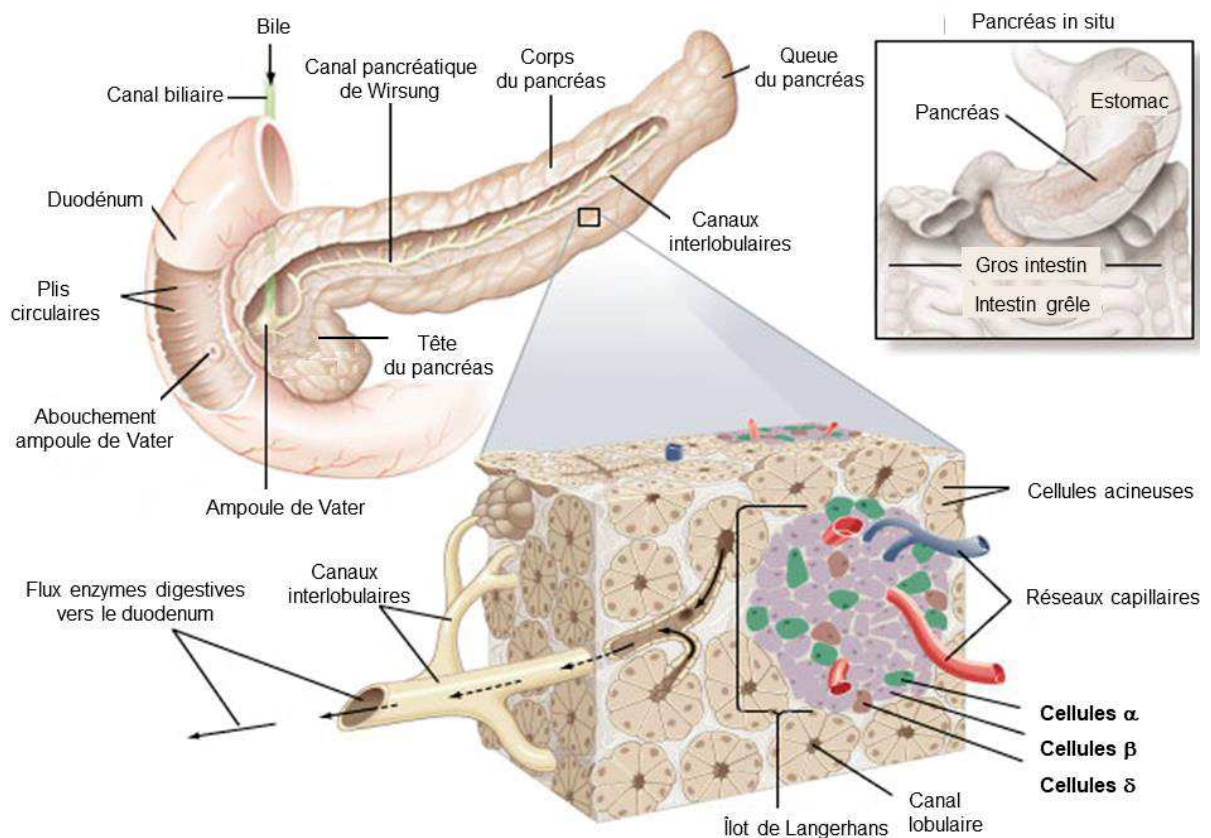
Le pancréas humain est un organe compact divisé en trois régions : la tête, le corps et la queue (Dolenšek et al. 2015). La tête du pancréas se situe au niveau du duodénum de l'intestin (**Figure 2**). Le corps, qui correspond à la majeure partie du pancréas, est formé de trois parties : la face antéro-supérieure (liée à l'estomac), la face postérieure (liée à la veine splénique, l'aorte et le rein gauche) et la face antéro-inférieure (liée au jéjunum de l'intestin). Enfin, la queue du pancréas est la partie terminale qui est adjacente à la rate. Le pancréas est organisé en lobules, séparés par du tissu conjonctif, mesurant 1-10 mm de diamètre chez l'homme et 0.5-1.5 mm chez la souris (Yaginuma et al. 1986).

A la différence du pancréas humain, le pancréas de rongeur est diffus dans le mésentère. Il est également composé de trois parties : le lobe duodéal (homologue de la tête du pancréas humain), splénique et gastrique (tous deux similaires au corps du pancréas humain) (Dolenšek et al. 2015).

#### *b) Organisation microscopique*

Chaque lobule du pancréas exocrine est constitué de nombreux acini et d'une plus faible proportion de cellules ductales. Les acini sont eux-mêmes constitués de plusieurs cellules acineuses sécrétant des enzymes digestives telles que des protéases, lipases ou amylases qui

sont excrétées via les canaux excréteurs. Parmi ces canaux, se trouvent les canaux intercalaires, interlobulaires et collecteurs : canal de Wirsung et canal de Santorini. Ces derniers traversent totalement ou partiellement le pancréas pour rejoindre le duodénum. Le suc pancréatique, constitué d'ions bicarbonates et de proenzymes digestives, déversé par les canaux pancréatiques permet de neutraliser l'acidité du chyme et la digestion des lipides, glucides et protides. Il semblerait que ce soit dans ces lobules que se trouvent les îlots de Langerhans, constitutifs du pancréas endocrine (Henry et al. 2019). Prédominant dans la queue du pancréas, les îlots pancréatiques sont composés de différents types cellulaires : les cellules  $\alpha$ , les cellules  $\beta$ , les cellules  $\delta$ , les cellules du polypeptide pancréatique (PP) et les cellules  $\epsilon$  qui sécrètent respectivement du glucagon, de l'insuline, de la somatostatine, du polypeptide pancréatique et de la ghréline (Figure 2).



**Figure 2 :** Anatomie du pancréas (Tiré et adapté de l'encyclopédie britannique, 2010).

### *c) Vascularisation et innervation*

Le pancréas est très largement vascularisé, avec une vascularisation artérielle, veineuse et lymphatique. La vascularisation artérielle est permise par l'artère liénale, hépatique et mésentérique supérieure qui amènent l'apport artériel du pancréas. Ces trois artères



possèdent plusieurs portions dont les artères pancréatico-duodénales qui donnent naissance à de nombreux rameaux amenant à une vascularisation complète du pancréas (Henry et al. 2019). Dans la continuité de la tête du pancréas se trouvent des veines spléniques et mésentériques qui s'unissent pour former la veine porte. Il existe également plusieurs nœuds lymphatiques pancréatiques permettant le renouvellement du milieu intérieur. Le système lymphatique est représenté comme un compartiment de stockage et de redistribution grâce à sa perméabilité et distensibilité plus importante que les capillaires veineux (Hidden 1979). Enfin, le pancréas possède des innervations sympathiques et parasympathiques, notamment par les nerfs splanchniques et le nerf vague respectivement, qui permettent la transmission des signaux physiologiques modulant la sécrétion hormonale et enzymatique du pancréas (Dolenšek et al. 2015).

## 2. Anatomie fonctionnelle de l'îlot de Langerhans

Les îlots pancréatiques sont des amas cellulaires arrondis de 50 à 500  $\mu\text{m}$  de diamètre, au nombre d'un million environ chez l'Homme (Ionescu-Tirgoviste et al. 2015). Selon l'espèce, le nombre, la taille et l'organisation des îlots sont différents (Brissova et al. 2005 ; Cabrera et al. 2006 ; Bosco et al. 2010). Chez l'humain, il existe une hétérogénéité des îlots avec de petits îlots (40-60  $\mu\text{m}$ ) faiblement vascularisés, similaires d'un point vu organisationnel aux îlots murins et de gros îlots (>100  $\mu\text{m}$ ) plus vascularisés (Ricordi et al. 1990 ; Brissova et al. 2005; Bosco et al. 2010). L'organisation des îlots murins montre une architecture distincte composée de cellules  $\beta$  au centre, entourées de cellules  $\alpha$  à la périphérie. En comparaison, l'îlot pancréatique humain semble peu structuré (**Figure 3**).

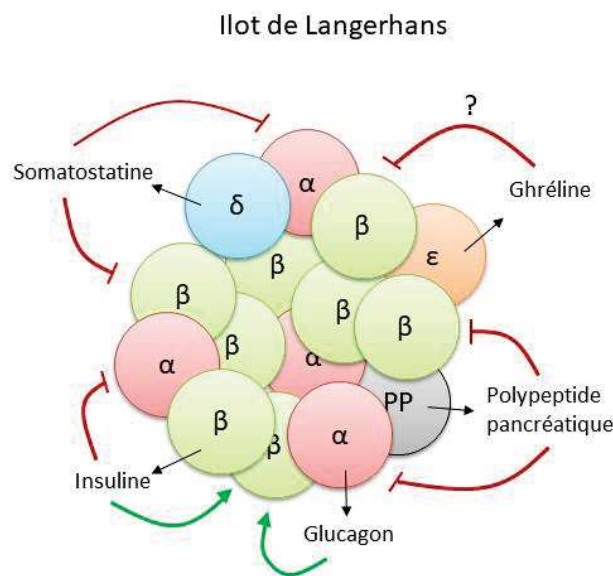


**Figure 3 :** Différence organisationnelle de l'îlot de Langerhans humain **(a)** et murin **(b)** (Tiré de Abdulreda et al. 2016). Microscopie confocale de l'îlot avec en rouge les cellules à insuline (cellule  $\beta$ ), en vert les cellules à glucagon (cellule  $\alpha$ ) et en bleu les cellules à somatostatine (cellule  $\delta$ ). Echelle = 50 $\mu\text{m}$ .

Cependant, ce n'est qu'une apparence puisque l'analyse micro-architecturale par coupes histologiques d'îlot montre des subdivisions de l'îlot en sous-unités, composées d'un noyau de cellules  $\beta$  entouré de cellules  $\alpha$  qui s'organisent le long du réseau vasculaire (Bosco et al. 2010). Alors que les contacts cellules  $\beta/\alpha$  chez l'Homme sont favorisés, ce sont les contacts  $\beta/\beta$  qui sont majoritaires chez les rongeurs (Lavallard et al. 2016).

a) Les différents types cellulaires

Les différents types cellulaires des îlots de Langerhans précédemment évoqués ont la capacité de moduler le taux de glucose dans le sang par plusieurs hormones (**Figure 4**).



**Figure 4** : Interaction des cellules de l'îlot de Langerhans : les effets paracrines des hormones sécrétées au sein de l'îlot pancréatique.

Les cellules  $\beta$  constituent 75-80% de l'îlot de Langerhans chez le rongeur et 50-55% chez l'Homme (Brissova et al. 2005 ; Cabrera et al. 2006). En cas d'hyperglycémie (excès de sucre dans le sang) suite à un repas par exemple, ces cellules sécrètent la seule hormone hypoglycémisante connue à ce jour qu'est l'insuline. Cette hormone agit de manière endocrine au niveau de ses tissus cibles (muscles, tissu adipeux et foie) pour réduire la glycémie et de manière paracrine en inhibant la sécrétion de glucagon (Samols et al. 1986), et pourrait agir de manière autocrine en régulant sa propre sécrétion.

Les cellules  $\alpha$  représentent 15-20% des cellules qui composent l'îlot de Langerhans chez le rongeur et 40-50% chez l'Homme (Brissova et al. 2005 ; Cabrera et al. 2006). En situation d'hypoglycémie (faible taux de sucre dans le sang), elles produisent du glucagon qui exerce une action endocrine au niveau du foie permettant l'augmentation de la glycémie (Müller et al.

2019) et pourrait exercer une action paracrine sur la sécrétion d'insuline (Samols et al. 1986). L'effet sur la cellule  $\delta$  n'est pas clairement défini, puisque certaines études proposent une stimulation de la sécrétion de somatostatine par le glucagon (Rodriguez-Diaz et al. 2020) alors que d'autres montrent un rétrocontrôle négatif réciproque entre la cellule  $\alpha$  et  $\delta$  (Svendsen et Holst 2021).

Les cellules  $\delta$  composent 3-6% l'îlot de Langerhans chez le rongeur et 8-12% chez l'humain (Brissova et al. 2005). Ces cellules sécrètent une hormone appelée somatostatine qui exerce une action inhibitrice sur la libération d'insuline et de glucagon (Rorsman et Huisling 2018 ; Arrojo e Drigo et al. 2019).

Les cellules PP représentent seulement 1 à 2% de l'îlot de Langerhans. Ces cellules sécrètent le polypeptide pancréatique qui exerce une action similaire à la somatostatine, en inhibant de manière paracrine les sécrétions pancréatiques. Le polypeptide pancréatique a également une action inhibitrice sur la vidange gastrique et ralentit l'absorption du glucose (Morisset 2008).

Les cellules  $\epsilon$  sécrètent la ghréline. Malgré de nombreuses études, l'action de cette dernière sur les cellules endocrines n'est pas clairement définie. Il semblerait qu'elle agisse directement sur les cellules  $\beta$  pancréatiques en inhibant la sécrétion d'insuline entraînant alors l'augmentation de la glycémie (Dezaki 2013 ; Raghay et al. 2013 ; Sakata et al. 2019), tout en agissant sur le système vasculaire puisqu'elle joue un rôle de vasoconstricteur pendant le jeûne (Drott et al. 2019).

#### *b) Vascularisation et innervation*

Ces îlots sont fortement vascularisés et innervés par les systèmes nerveux (SN) sympathique et parasympathique. La vascularisation des îlots pancréatiques est permise par des artérioles provenant de vaisseaux interlobulaires donnant des branches à chaque îlot. Dans ces îlots se trouvent des capillaires fenestrés qui sont au contact direct des cellules endocrines. Dans le tissu endocrine, le réseau capillaire y est cinq fois plus dense et dix fois plus fenestré que dans le tissu exocrine (Carlsson et al. 2002). L'ensemble de cette vascularisation permet le recrutement des hormones dans le flux sanguin.

L'innervation de l'îlot par le SN autonome a un effet sur la fonction de la cellule  $\beta$  pancréatique et donc sur la sécrétion d'insuline. En effet, alors que le SN sympathique inhibe la sécrétion d'insuline par la présence de noradrénaline, le SN parasympathique stimule cette

sécrétion ainsi que celle du glucagon par la présence d'acétylcholine (Ahrén 2000 ; Magnan et Ktorza 2005). Alors que chez le rongeur, les axones neuronaux sont en contact direct avec les cellules  $\alpha$  et  $\beta$  de l'îlot de Langerhans permettant la modulation des hormones. Chez l'Homme, il semblerait que la modulation des hormones de l'îlot passerait par le flux sanguin plutôt que par un contact direct avec les cellules endocriniennes de par le contact étroit entre innervation et vascularisation au sein de l'îlot (Aamodt et Powers 2017).

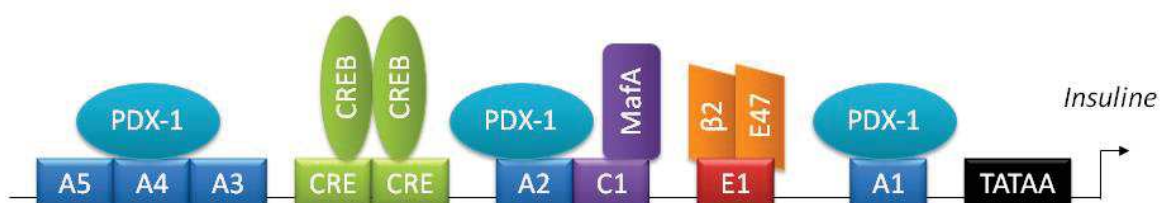
### III. La cellule $\beta$ pancréatique : cellule sécrétrice de l'insuline

La cellule  $\beta$  pancréatique a pour principale fonction de synthétiser, stocker et sécréter l'insuline (Henquin et Gilon 1995).

#### 1. L'insuline

##### a) Biosynthèse et structure

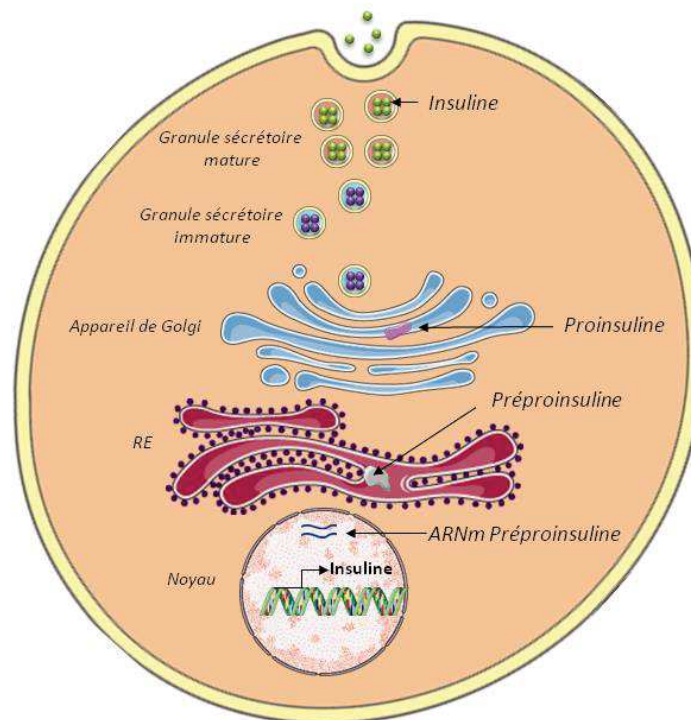
Le gène de l'insuline (*ins*) est situé sur le bras court du chromosome 11 chez l'Homme et est constitué de 1355 paires de base (pb), de trois exons séparés de deux introns. A la différence de l'Homme, le rongeur possède deux gènes : *ins1* et *ins2* (Clark et Steiner 1969). Le(s) gène(s) est(sont) constitué(s) de nombreuses boîtes (A, E, C2, CRE...) qui sont régulées en *cis* et *trans* via leur liaison avec des facteurs de transcription (**Figure 5**). PDX1 (Pancreatic Duodenal homeobox 1), MafA (MusculoAponeurotic Fibrosarcoma A) et NeuroD1 (Neurogenic Differentiation 1,  $\beta$ 2-E47) sont trois facteurs de transcription importants dans la transcription du gène de l'insuline et finement régulés par le glucose (Andrali et al. 2008). PDX-1 se lie aux boîtes A de l'insuline et CREB (CRE binding protein) à la CRE (cAMP response element) afin d'obtenir une cellule  $\beta$  fonctionnelle. Les boîtes E permettent de réprimer la transcription de ces gènes par différentes interactions (c-Jun,  $\beta$ 3...) (Magnan et Ktorza 2005 ; Andrali et al. 2008) (**Figure 5**).



**Figure 5** : Représentation de la région proximale du promoteur du gène de l'insuline.

Après transcription dans le noyau, l'ARNm est traduit en protéine appelée pre-pro-insuline de 86 acides aminés (aa). Dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE), cette protéine subit des protéolyses entraînant son clivage amenant à la production de pro-insuline transportée dans des microvésicules au niveau de l'appareil de Golgi (**Figure 6**). Après un second clivage, l'insuline et le peptide C sont produits et stockés dans des granules d'insuline. C'est après une stimulation que les deux molécules sont libérées en quantité équimolaire (Magnan et Ktorza 2005 ; Tokarz et al. 2018 ; Vakilian et al. 2019).

L'insuline, hormone de 51 aa, est un hétérodimère constitué de deux chaînes polypeptidiques : A (21 aa) et B (30 aa) reliées par deux ponts disulfures, avec un pont disulfure intra-caténaire dans la chaîne A (Steiner et al. 1969). Sa structure, très conservée au cours de l'évolution, possède un fort pourcentage d'homologie entre les espèces (Magnan et Ktorza 2005).



**Figure 6** : Biosynthèse de l'insuline au sein de la cellule  $\beta$  pancréatique. De bas en haut, se trouve le cheminement de l'insuline du stade de gène jusqu'à celui de protéine fonctionnelle, en passant par les différents organites intracellulaires.

### b) Fonction de l'insuline

L'insuline participe au contrôle du métabolisme énergétique en agissant sur le métabolisme glucidique, lipidique et protéique (**Figure 7**) et est considérée comme une hormone anabolique par sa capacité à favoriser la synthèse de ces molécules (Dimitriadis et al. 2011).

- **Sur le métabolisme glucidique**

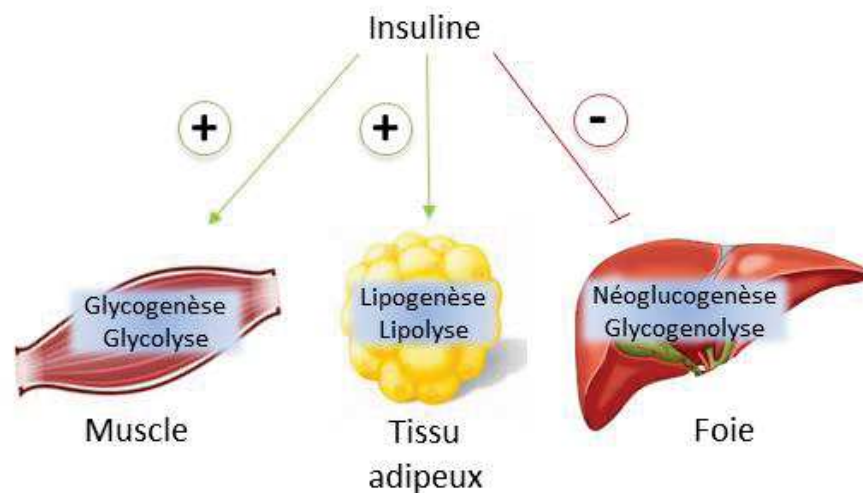
L'insuline stimule le stockage du glucose et réduit sa dégradation dans le muscle, le foie et le tissu adipeux. L'insuline favorise la glycogénèse dans le muscle et réduit la glycémie en inhibant la néoglucogénèse et la glycogénolyse hépatique. De plus, la liaison de l'insuline à son récepteur entraîne la translocation à la surface cellulaire de GLUT4 chez l'Homme, le rendant actif dans les muscles et le tissu adipeux, permettant la captation et l'accumulation du glucose sous forme de glycogène ou triglycérides (Dimitriadis et al. 2011 ; Tokarz et al. 2018) (**Figure 7**).

- **Sur le métabolisme lipidique**

L'insuline diminue le taux plasmatique d'acides gras par lipolyse dans le tissu adipeux et stimule la synthèse et l'absorption des triglycérides dans le tissu adipeux et le muscle (Dimitriadis et al. 2011).

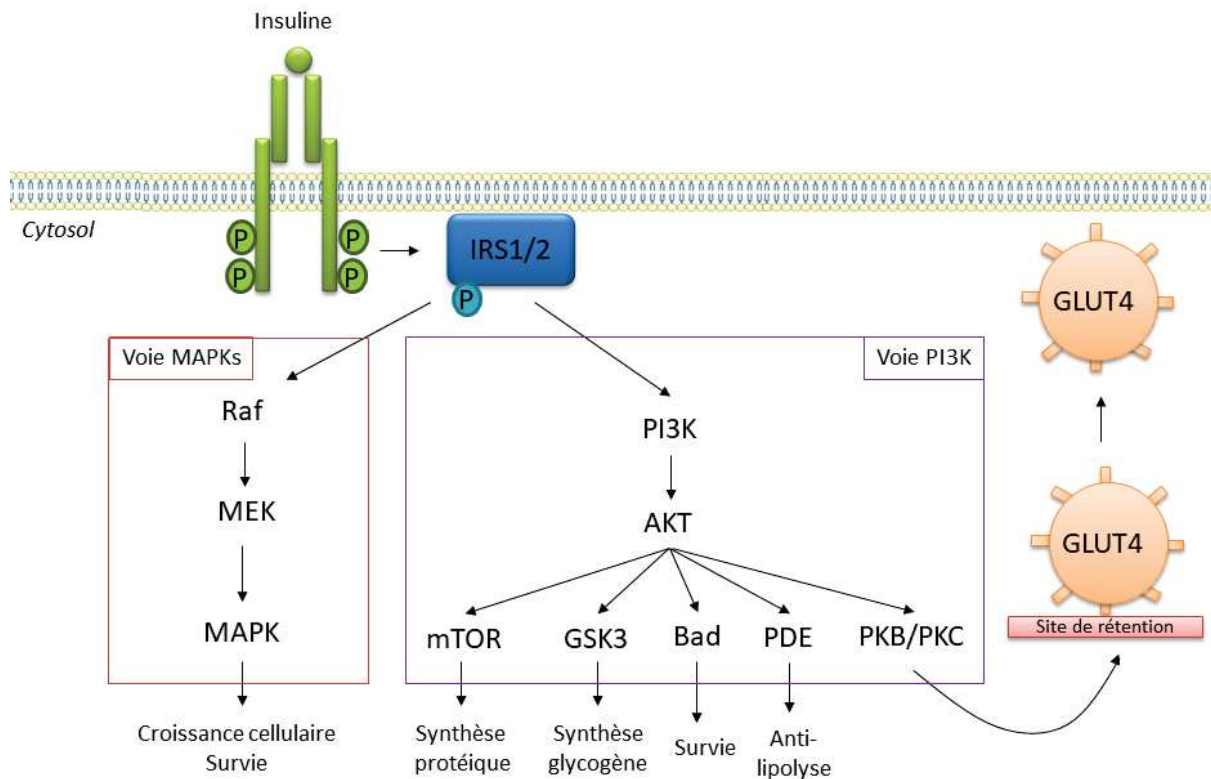
- **Sur le métabolisme protéique**

L'insuline stimule la synthèse et diminue la dégradation des protéines dans l'ensemble de ses tissus cibles (Dimitriadis et al. 2011).



**Figure 7** : Effets de l'insuline sur ses tissus cibles

L'insuline agit sur le métabolisme par l'activation de la voie de signalisation de la PI3 Kinase, et jouerait un rôle sur la survie cellulaire, notamment par l'activation de la voie des MAP (Mitogen Activating Protein) Kinases (**Figure 8**).



**Figure 8** : Voies de signalisation de l'insuline. Suite à la liaison de l'insuline à son récepteur, ce dernier s'autophosphoryle et phosphoryle IRS1/2 engageant la voie des MAPKs et la voie de la PI3K. L'activation de ces voies permet la prolifération cellulaire, la synthèse de glycogène, la régulation de gènes et la survie des cellules. Adapté de Capeau, 2003.

### c) Dégradation de l'insuline

L'insuline a une demi-vie relativement courte (6 min) dans la circulation et n'est plus détectable 30 min après le début de sa libération (Tokarz et al. 2018). C'est tout au long de son chemin que l'insuline est dégradée. Dans un premier temps, sa quantité est réduite par le foie : après deux passages dans l'organe, elle est relarguée en quantité optimale pour agir sur ses différents tissus cibles. En effet, la quantité d'insuline circulante après son passage par le foie correspond au tiers de la quantité détectée à la veine porte. C'est ensuite dans les myoblastes et les adipocytes qu'une autre partie de l'insuline est dégradée par voie lysosomale après internalisation de l'hormone. Enfin, l'insuline est endocytée par les cellules épithéliales (au niveau des glomérules) et tubulaires du rein puis dégradée par la voie lysosomale également. Seule une petite partie de l'insuline est réabsorbée dans la circulation rénale permettant de



maintenir une faible quantité d'insuline dans la circulation sanguine (Rabkin et al. 1984 ; Tokarz et al. 2018).

## 2. La sécrétion d'insuline

La sécrétion d'insuline induite par le glucose est biphasique et résulte de la présence de différents pools de granules d'insuline. La première phase de cette sécrétion, correspond à un pic de sécrétion qui est relativement court (5 min) puisqu'il est la conséquence de la libération de granules nouvellement formés se situant proches de la membrane plasmique de la cellule  $\beta$  pancréatique (environ 1% des vésicules sécrétoires). En comparaison avec la première phase de la sécrétion d'insuline, la seconde est réduite en termes de concentration mais plus longue dans le temps (2-3h), elle est présente jusqu'à l'obtention de la normoglycémie. Elle est le résultat de la libération de granules d'insuline recrutés dans la cellule qui nécessite l'implication du cytosquelette (Cerasi 1975 ; Henquin et Gilon 1995 ; Rorsman et Renström 2003 ; Magnan et Ktorza 2005 ; Kalwat et Cobb 2017).

La sécrétion d'insuline fluctue en fonction de la glycémie et est influencée par différents agents : déclencheurs, amplificateurs ou inhibiteurs ; sous forme de nutriments, d'hormones et de neurotransmetteurs (Jones 1998) (**Table 1**).

	Déclencheurs	Amplificateurs	Atténuateurs
Substrats énergétiques	Glucose	Glucose AGNEs Aa	
Hormones		GLP-1 GIP CCK (Glucagon)	Somatostatine GH Prolactine Leptine ?
Neuromédiateurs		Acétylcholine PACAP	Noradrénaline Galanine NPY

**Table 1** : Agents déclencheurs, amplificateurs et atténuateurs de la sécrétion d'insuline.

### a) Voies déclenchantes

Les agents primaires déclenchent à eux-seuls la sécrétion d'insuline. Le glucose est le signal physiologique déclencheur de la sécrétion d'insuline. Il joue un rôle initiateur et permissif puisqu'il conditionne l'action des autres stimuli : en absence de glucose, l'insuline ne peut être sécrétée (Jones 1998).



### b) Voies amplificatrices

Les agents secondaires (ou potentialisateurs) amplifient la sécrétion d'insuline induite par les agents déclencheurs mais n'ont pas la capacité d'induire à eux-seuls cette sécrétion, au contraire des stimuli primaires. Ce sont des facteurs de croissances, des neurotransmetteurs ainsi que des hormones (Jones 1998 ; Magnan et Ktorza 2005). Les hormones ayant un rôle majeur dans cette amplification de sécrétion d'insuline induite par le glucose sont le GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1) (Campbell et Drucker 2013), le GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide) ou encore la CCK (Cholecystokinine). L'acétylcholine et PACAP (Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide) sont des neuromédiateurs provenant du SN parasympathique permettant également l'amplification de la sécrétion d'insuline (Magnan et Ktorza 2005 ; Kalwat et Cobb 2017).

### c) Voies inhibitrices

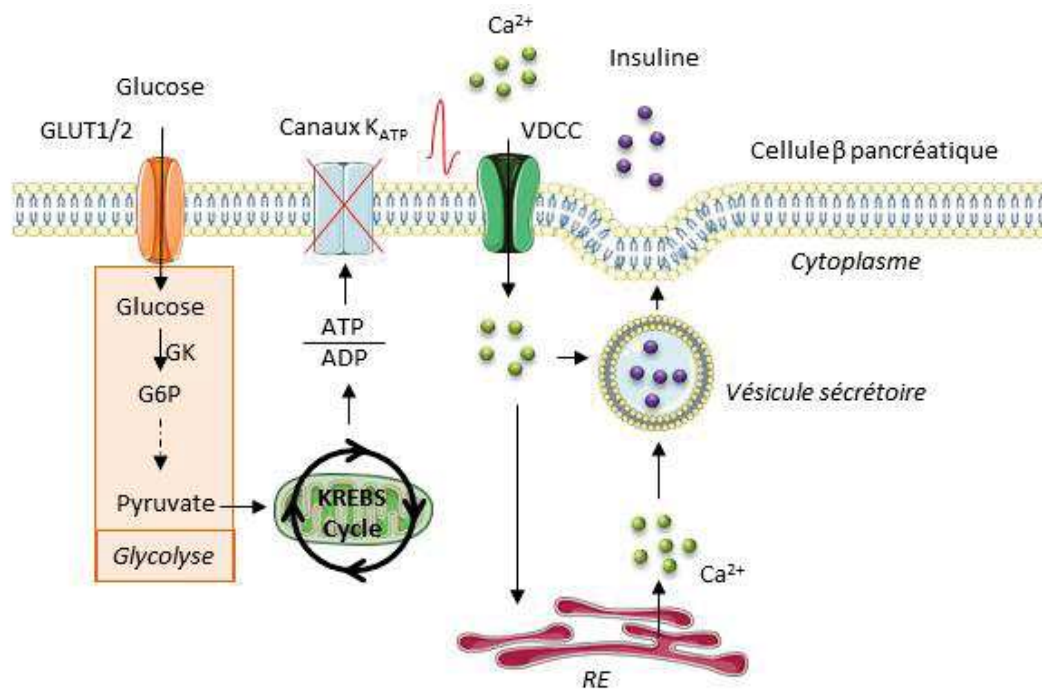
A l'inverse des agents amplificateurs, les agents inhibiteurs réduisent la sécrétion d'insuline induite par le glucose. Dans cette catégorie, se trouvent plusieurs hormones telles que la somatostatine qui est sécrétée par les cellules  $\delta$  pancréatiques (Kailey et al. 2012) et l'adrénaline. La leptine semble également avoir un rôle atténuateur de la sécrétion d'insuline via la régulation du trafic des canaux  $K_{ATP}$  (Cochrane et Shyng 2019). Les neuromédiateurs connus pour inhiber la sécrétion d'insuline passent par le SN sympathique et sont la noradrénaline (Thorens 2014), la galanine et le NPY (NeuroPeptide Y) (Magnan et Ktorza 2005 ; Kalwat et Cobb 2017).

## 3. Modulation de la fonction et de la masse des cellules $\beta$ par le glucose

### a) Effets du glucose sur la fonction

Le déclenchement de la sécrétion d'insuline est induit par l'entrée de glucose dans la cellule  $\beta$  via le transporteur GLUT1 (et GLUT3) chez l'Homme (McCulloch et al. 2011) et GLUT2 chez le rongeur (De Vos et al. 1995). Dans le cytoplasme, le glucose, phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P) via la glucokinase, est amené à être transformé en pyruvate par la glycolyse. Ce dernier intègre le cycle de KREBS de la mitochondrie entraînant une augmentation du ratio ATP/ADP induisant alors la fermeture des canaux potassiques dépendant de l'ATP. La membrane plasmique est alors dépolarisée, entraînant une entrée massive de calcium via l'ouverture des canaux calciques dépendant du voltage (VDCC). Cette entrée de calcium agit

positivement sur l'exocytose des granules d'insuline. Ceci est la voie déclenchante de la sécrétion d'insuline induite par le glucose (Henquin 2000). Au niveau du réticulum endoplasmique, l'entrée de calcium induite par la présence de glucose entraîne la libération des réserves de calcium du RE, renforçant la stimulation la sécrétion d'insuline (Bensellam et al. 2012) (**Figure 9**). Le glucose agit également sur les flux ioniques (potassique et calcique) et l'exocytose d'insuline (Rebelato et al. 2018).



**Figure 9** : Déclenchement de la sécrétion d'insuline par le glucose. Tiré et adapté de Delobel et Dalle, 2020.

De plus, le glucose a un effet sur la biosynthèse de l'insuline. Soit directement en agissant à long terme sur la transcription du gène de l'insuline puis au niveau traductionnel en agissant à court terme, sur la préproinsuline puis à long terme sur la protéine d'insuline (Bensellam et al. 2012). Soit indirectement en modulant la transcription de molécules impliquées dans la voie insulinaire telles que le transporteur GLUT2, la biosynthèse des acides gras ou encore les sous-unités des canaux K<sub>ATP</sub> (Flamez et al. 2002) ; mais aussi la traduction de nombreux facteurs transcriptionnels tels que PDX-1, MafA et NeuroD1 qui sont les régulateurs majoritaires du gène de l'insuline. En plus de leur action individuelle sur ce gène, ces trois facteurs interagissent ensemble (Bensellam et al. 2012 ; Andrali et al. 2008). Au-delà des effets du calcium, le glucose permet la régulation de la sécrétion d'insuline par les facteurs de transcription et par les MAP kinases.

- **Régulation de la fonction par des facteurs de transcription**

PDX-1 est le principal facteur de transcription impliqué dans la transcription du gène de l'insuline stimulée par le glucose. Sa présence au sein de la cellule  $\beta$  est essentielle pour le maintien de l'identité cellulaire. Une perte de PDX-1 entraînerait une perte de production d'insuline (Ahlgren et al. 1998 ; Andrali et al. 2008). PDX-1, en se liant à la boîte A du gène de l'insuline, engendre des modifications épigénétiques en fonction des concentrations de glucose (Babu et al. 2007 ; Andrali et al. 2008 ; Wang et al. 2016). En physiologie, lors d'une hyperglycémie aiguë (<12h de culture), PDX-1 améliore l'expression du gène de l'insuline par son association avec NeuroD1 mais agit également sur le promoteur du gène de l'insuline par son recrutement de SET9 et JMJD3. Cela favorise la biosynthèse de l'insuline pour un retour à une normoglycémie (Andrali et al. 2008 ; Wang et al. 2016).

MafA est également un facteur de transcription régulé par le glucose et important dans le contrôle du gène de l'insuline. Il se lie à l'élément C1 du promoteur de l'insuline de manière glucose dépendante. Dans le cas d'une stimulation aiguë, le haut glucose entraîne une accumulation de MafA bénéfique pour l'obtention d'une cellule  $\beta$  pancréatique fonctionnelle. A l'inverse, dans le cas d'une stimulation chronique, le haut glucose entraîne une diminution de l'expression de MafA corrélée à une perte de fonction des cellules  $\beta$  (Vanderford 2011 ; Zhu et al. 2017). En l'absence de MafA, les souris ont une diminution de sécrétion d'insuline associée à une altération de l'architecture de l'îlot pancréatique et une perte de masse des cellules  $\beta$  menant au développement d'un diabète avec l'âge (Zhang et al. 2005).

NeuroD1 est le troisième facteur de transcription ayant un rôle important dans la régulation de la sécrétion d'insuline induite par le glucose. Il exerce son action par la modulation de l'expression de gènes tels que Neuronatine et Sur1, connus pour leur fonction au niveau des canaux (Chu et Tsai 2005). NeuroD1 se fixe au niveau de la boîte E du promoteur de l'insuline (Qiu et al. 2002). En cas d'hyperglycémie, NeuroD1 est transloqué dans le noyau et peut être phosphorylé par plusieurs protéines telles que ERK1/2, GSK3 $\beta$  ou CaMKII (protéine kinase calcium calmoduline dépendante). Sa phosphorylation par ERK1/2 permet l'augmentation de la synthèse de l'insuline (Khoo et al. 2003 ; Andrali et al. 2008).

- Régulation de la fonction par les MAP Kinases

Au-delà de ces facteurs de transcription, il a été mis en évidence l'impact des MAPKs (Mitogen Activating Protein Kinase) dans le maintien de la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques. La famille des MAPKs est composée de protéines sérine-thréonine kinases activées en réponse à des stimuli tels que des mitogènes, un environnement stressant, des facteurs de croissance ou l'activation de récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs). Une cascade d'activation permet l'activation de MAP3Ks (MAPK kinase kinases) qui phosphorylent et activent des MAP2Ks (MAPK kinases), qui à leur tour phosphorylent et activent des MAPKs. Cette dernière étape amène à la régulation de substrats tels que des MAPKAPKs (MAPK – Activating Protein Kinase) et facteurs de transcription proposant alors différentes réponses biologiques (prolifération, différenciation, production de cytokines, apoptose...) (Pearson et al. 2001 ; Cargnello et Roux 2011) (Figure 10).

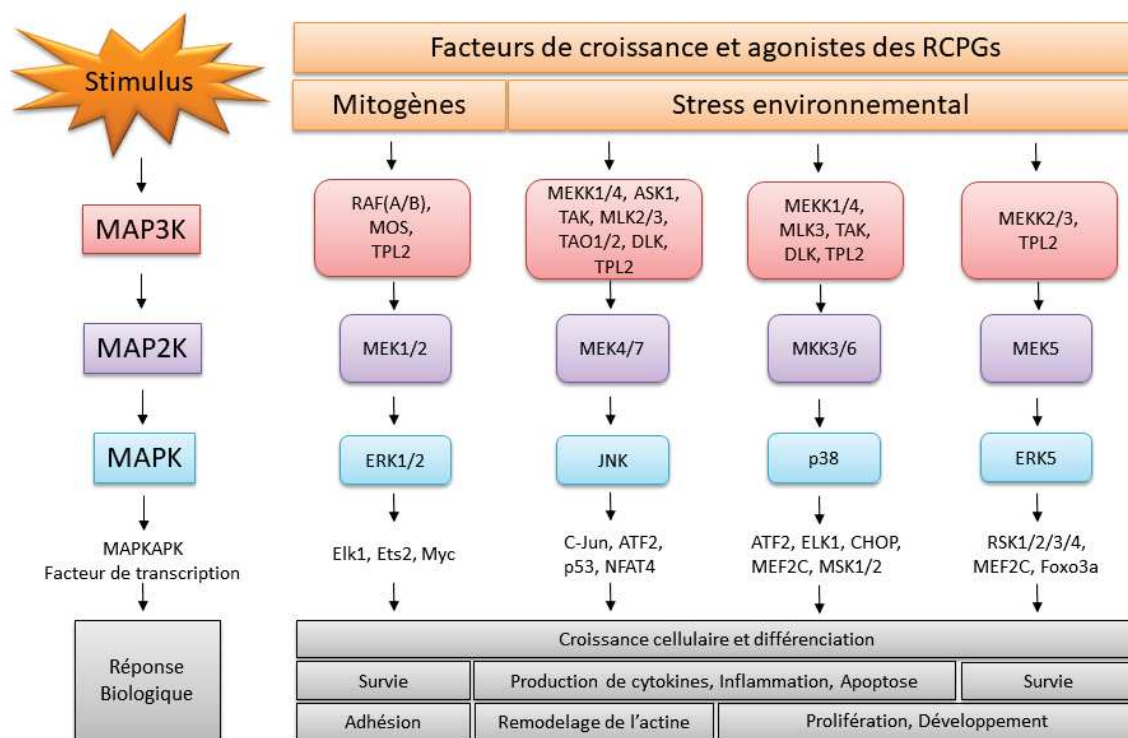


Figure 10 : La grande famille des MAPKs : signalisation et réponses biologiques.

Il a été montré que la majorité des MAPKs ERK1/2 précédemment évoquées induites par le glucose reste dans le cytoplasme et régule la sécrétion d'insuline (Longuet et al. 2005). A long terme, une partie des MAPKs subit une translocation nucléaire pour aboutir à la phosphorylation du facteur de transcription CREB (Costes et al. 2006 ; Kassouf et Sumara 2020).

De plus, il semblerait qu'ERK1 soit nécessaire pour une activation complète de CREB par le glucose, mais cet isoforme n'est cependant pas indispensable pour la fonction des cellules  $\beta$  (Leduc et al. 2017).

### b) Effets du glucose sur la masse

La concentration du glucose ainsi que le temps d'exposition affectent les cellules  $\beta$  de différentes manières et sont déterminants pour leur survie. Il a été montré qu'une forte exposition des cellules au glucose est délétère en stimulation chronique (Bensellam et al. 2012) mais peut être bénéfique en aigüe par la modulation des flux ioniques et de l'exocytose, qui permet alors aux cellules  $\beta$  d'améliorer leurs réponses (Rebelato et al. 2018).

La masse cellulaire est finement régulée par le glucose qui agit sur plusieurs mécanismes : la néogenèse et la prolifération entraînant une hypertrophie (augmentation de la masse) et l'apoptose (cf. Chap.2.II.3.a)) entraînant une hypotrophie (diminution de la masse) (Bonner-Weir et al. 1989 ; Bensellam et al. 2012 ; Costes et al. 2006). La nécrose et la sénescence sont également présentes mais ces processus sont moins fréquents que celui de l'apoptose. A l'inverse de l'apoptose, en présence de glucose la sénescence permet la maturation fonctionnelle des cellules  $\beta$  (Helman et al. 2016). Plusieurs études ont montré que le glucose peut induire une hyperplasie (augmentation du nombre de cellules) (Topp et al. 2004) en passant par la glucokinase (Terauchi et al. 2007), associée à une hypertrophie des cellules  $\beta$  et des îlots de Langerhans. En effet, il a été montré *in vivo*, que l'injection de glucose pendant 96h chez des rongeurs entraîne une augmentation de la masse des cellules  $\beta$  de 50% associée à une hyperplasie (Bonner-Weir et al. 1989). La plasticité du pancréas est mise en évidence par l'existence d'équilibre entre ces mécanismes (Bernard et al. 1999). Une perturbation de cet équilibre entraîne l'apparition de pathologies comme le diabète.

- **La néogenèse**

La majorité de la masse des cellules  $\beta$  pancréatiques est définie à la naissance par la néogenèse. Ce processus correspond à la formation de nouvelles cellules à partir de précurseurs, qui est stoppé peu de temps après la naissance. La masse  $\beta$  cellulaire continue d'augmenter très progressivement jusqu'à l'adolescence, puis à l'âge adulte, l'activation de ce processus de néogenèse ne se fait que dans des situations pathologiques (personnes obèses non diabétiques par exemple) (Bouwens et Rooman 2005) ou dans des cas physiologiques exceptionnels telle

qu'une grossesse par un processus de transdifférenciation ou de différenciation des cellules souches (Baeyens et al. 2016 ; Guney et al. 2020).

- **La prolifération cellulaire**

De nombreuses études montrent que le glucose stimule la prolifération cellulaire (réplication de cellules pré-existantes) permettant l'augmentation de la masse des cellules  $\beta$  pancréatiques (Bouwens et Rooman 2005 ; Moullé et al. 2017). De plus, il a été montré que le SN central peut jouer un rôle dans la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatiques. En effet, le SN sympathique diminue la prolifération de ces cellules alors que le SN parasympathique le stimule à travers le nerf vague suite à une injection de glucose associé à des acides gras non estérifiés (AGNEs). Cependant, lors d'un excès de nutriments dans le sang ce serait une diminution de l'activité du SN sympathique qui entrainerait une augmentation de la prolifération cellulaire (Moullé et al. 2019).

- **Mécanismes d'action du glucose**

Le glucose initie plusieurs voies de signalisation induisant l'expression de différents gènes impliqués dans la survie cellulaire (**Figure 11**). Il a été montré que le glucose active, par phosphorylation, le facteur de transcription CREB via la voie ERK1/2 amenant à des effets anti-apoptotiques (Costes et al. 2006). ERK1/2 permet également la survie cellulaire, par la phosphorylation de facteurs pro-apoptotiques entraînant leur inactivation tel que Bad (Quoyer et al. 2010 ; Sidarala et Kowluru 2017). Plusieurs études montrent l'implication d'ERK5 dans la prolifération cellulaire, notamment l'étude *in vivo*, sur des souris gestantes montre que l'inhibition de cette MAPK entraîne une diminution de la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatiques associée à une augmentation de la glycémie (Chen et al. 2018 ; Kassouf et Sumara 2020). ERK5 est également connue pour protéger les cellules  $\beta$  en empêchant la mise en place de l'apoptose médiée par le stress du réticulum (Nam et al. 2017). De plus, outre l'activation des MAPKs, le glucose permet l'activation d'Akt entraînant l'augmentation de l'expression de PDX-1 favorisant la prolifération et donc l'augmentation de la masse des cellules  $\beta$  (Srinivasan et al. 2002 ; Babu et al. 2007 ; Jara et al. 2020). D'autre part, le glucose agit sur les GKAs (Glucokinase Activators) qui facilitent la prolifération cellulaire, réduisent l'apoptose tout en modulant négativement l'expression de gènes relatifs au stress du RE tels que Chop (C/EBP-homologous protein) ou Bax (Bcl2-associated X protein) (Porat et al. 2011 ; Oyadomari et Mori



2004 ; Shirakawa et Terauchi 2020). Enfin, Raf-1 et Raf-B (MAP3Ks) qui font partis de la grande famille des MAPKs sont impliquées dans la régulation de la survie et de la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatiques (Alejandro et Johnson 2008 ; Langfermann et al. 2018). Ce sont des kinases anti-apoptotiques qui modulent l'expression d'Erk et Bad et sont essentielles dans la régulation de la transcription de l'insuline par l'inhibition de FoxO (Alejandro et Johnson 2008 ; Beith et al. 2008 ; Alejandro et al. 2011). L'utilisation de souris KO pour *Rkip1* (inhibiteur de la protéine Raf-1) a montré l'implication de Raf-1 dans l'amélioration de la tolérance au glucose ainsi que dans la prolifération et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques (Pardo et al. 2012).

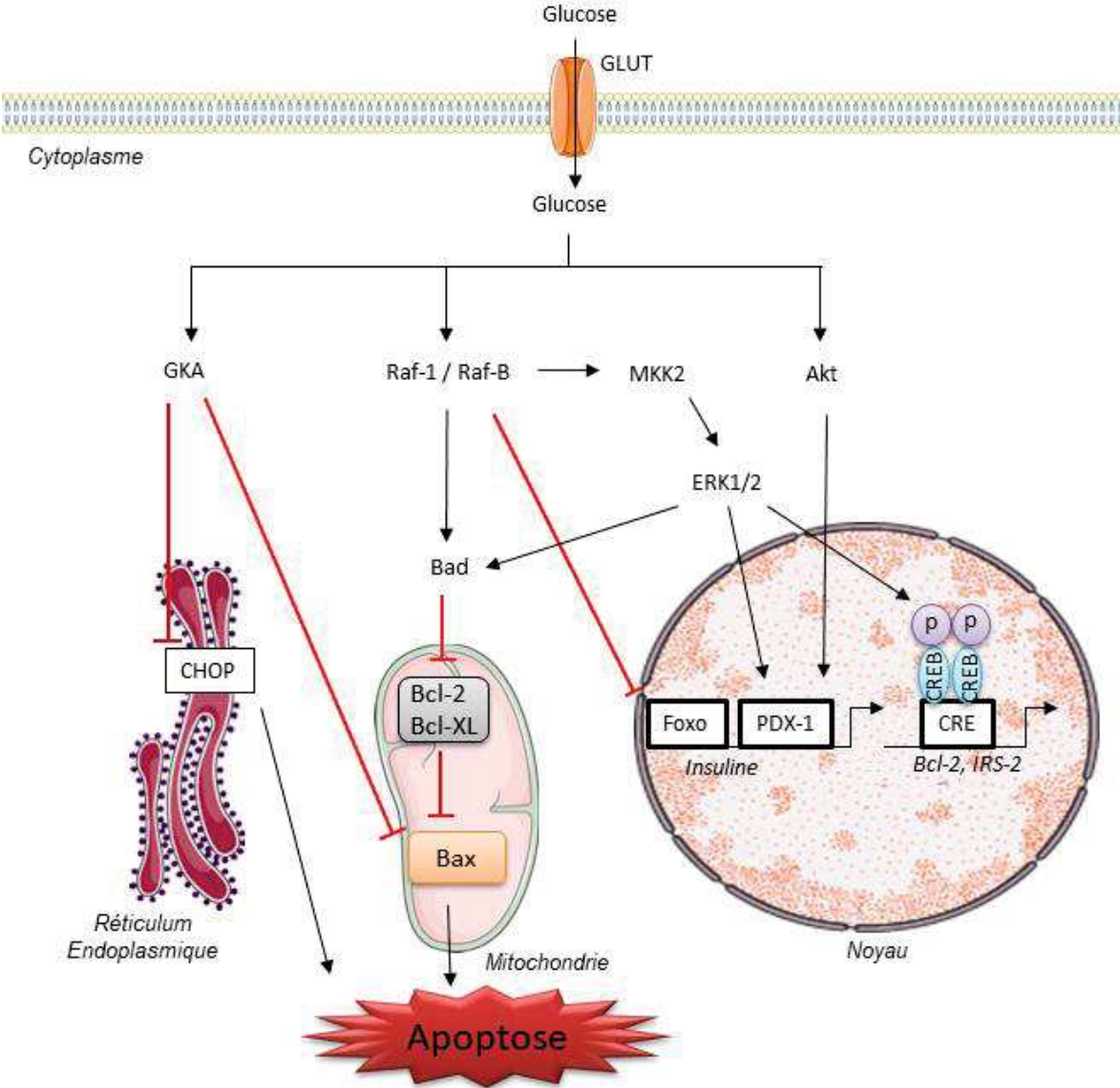


Figure 11 : Voies de régulation de la masse fonctionnelle des cellules  $\beta$  pancréatiques par le glucose.

#### 4. Modulation de la réponse au glucose par les récepteurs couplés aux protéines G

Un grand nombre de récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs) joue un rôle essentiel dans la fonction et la survie des cellules. Ils représentent d'ailleurs des cibles thérapeutiques majeures pour lutter contre de nombreuses pathologies.

##### *a) Généralités et description*

Les RCPGs sont exprimés dans de nombreux tissus et types cellulaires. Il existe plus de 800 RCPGs qui peuvent être classés selon différents critères (en fonction de leur structure, de la fixation du ligand ou de la fonction du récepteur) (Kolakowski 1994). Les deux caractéristiques communes à ces récepteurs sont les suivantes :

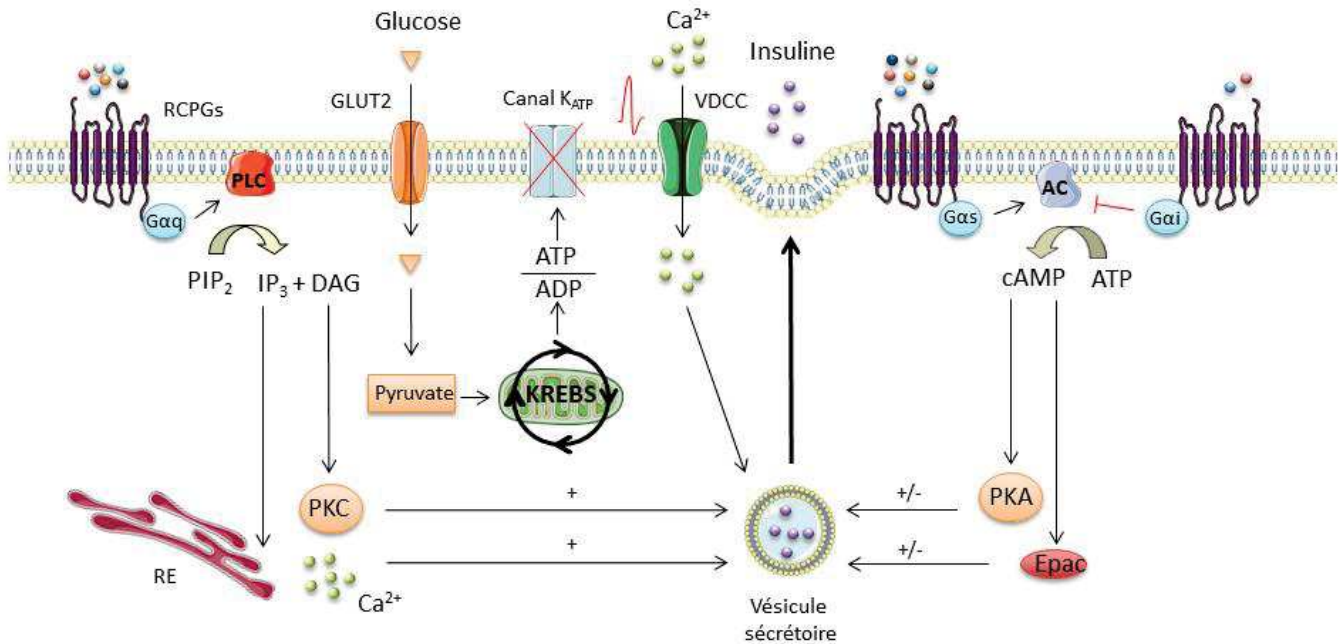
- Ces récepteurs sont de grosses protéines à sept domaines transmembranaires très hydrophobes reliés entre eux par trois boucles intracellulaires, trois boucles extracellulaires et un pont disulfure. Ils possèdent deux extrémités : N-terminale au niveau extracellulaire et C-terminale au niveau intracellulaire.
- Ces récepteurs interagissent avec une protéine G.

La classification qui a été choisie ici est celle composée par Kolakowski qui classe les récepteurs en sept groupes selon leurs propriétés pharmacologiques dont les trois classes principales sont : la classe A qui correspond à des récepteurs de type rhodopsine, qui se lient à des hormones, polypeptides, amines biogènes, photons et lipides. La classe B qui est formée de récepteurs de type sécrétine, qui se lient à des grands peptides tels que des hormones ou des neuropeptides. La classe C qui est celle des récepteurs métabotropiques, qui sont les récepteurs du glutamate, du calcium, de GABA-B, du goût et des phéromones qui ont pour caractéristiques de posséder un N-terminal long (500 aa) (Kolakowski 1994).

L'activation des RCPGs peut être totale, partielle, inverse ou biaisée, en fonction des différents ligands. L'agoniste partiel entraîne un effet modéré du récepteur, l'agoniste inverse entraîne l'effet opposé à celui constitutif du récepteur et l'agoniste biaisé permet de sélectionner certaines voies de signalisation du récepteur. En réponse à différents stimuli tels que des hormones, des neurotransmetteurs, des ions etc, les RCPGs engagent les voies de signalisations des protéines G et des arrestines jouant de nombreux rôles en physiologie et physiopathologie (Hilger et al. 2018).



La famille des protéines G se compose de trois grands groupes en fonction de leur sous-unité :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . Chacun de ces groupes se divise également en sous-famille. Les  $G\alpha$  sont particulièrement étudiées et il est montré que les  $G\alpha_s$  permettent l'activation de l'adénylate cyclase alors que les  $G\alpha_{i/o}$  permettent son inhibition. Les  $G\alpha_{q/11}$  sont activatrices de la PLC (Phospholipase C) et les  $G\alpha_{12/13}$  activatrices de la PLD (**Figure 12**).



**Figure 12 :** Voies de signalisation des récepteurs couplés aux protéines G. Tiré et adapté de Delobel et Dalle, 2020.

Lorsque les RCPGs sont activés, ils entraînent différentes voies de signalisation mais régulent également leur activité afin d'éviter une stimulation prolongée qui pourrait entraîner des effets néfastes. Il est question de désensibilisation. Dans ce mécanisme, intervient des kinases GRKs qui phosphorylent le récepteur en C-terminal permettant alors le recrutement à la membrane de la  $\beta$ -arrestine, protéine échafaudage. A ce stade, la signalisation du récepteur est interrompue et se met en place l'endocytose du récepteur par la formation de puits recouverts de clathrine. Une fois les récepteurs désensibilisés, plusieurs options s'offrent à eux. Soit ils sont dégradés dans le lysosome par des protéases, soit ils sont resensibilisés et replacés à la membrane, soit ils engagent de nouvelles voies de signalisation. En effet, la  $\beta$ -arrestine est connue pour son implication dans la fonction et dans la survie des cellules, par la modulation de l'AMPc, d'Epac2, du calcium et des MAPKs. De plus, il a été montré que le modèle souris double KO pour les  $\beta$ -arrestines 1 et 2 est léthal et par conséquent suggère l'importance de ces protéines dans les cellules (Kohout et al. 2001).

### b) Les incrétines

Les incrétines permettent d'amplifier la sécrétion d'insuline induite par le glucose. L'effet incrétine est défini par une augmentation de la sécrétion d'insuline plus importante lorsque le glucose est pris oralement plutôt que par une prise intraveineuse de par son passage à travers l'appareil digestif (Elrick et al. 1964). Il existe plusieurs molécules responsables de cet effet incrétine, les principales étant le GLP-1 et le GIP (Drucker 2006).

Le GLP-1 est synthétisé à partir du pro-glucagon. Il possède deux formes actives : GLP-1 (7-36) et GLP-1(7-37). Il est sécrété par des cellules L de l'intestin et agit directement sur l'îlot pancréatique en se fixant à son récepteur GLP-1R (Glucagon Like Peptide-1 Receptor) couplé aux protéines G présent sur les cellules. La demi-vie du GLP-1 est courte (2 min) puisqu'il est rapidement dégradé par la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), protéine ubiquitaire. La prise alimentaire stimule la sécrétion de GLP-1. Ce dernier exerce ses effets sur plusieurs tissus cibles : le cœur, le cerveau, l'estomac, le foie, le tissu adipeux, les muscles et le pancréas. Au niveau du pancréas, il exerce son activité à la fois sur la fonction et la masse des cellules  $\beta$  en activant la biosynthèse de l'insuline, la prolifération cellulaire et en inhibant l'apoptose (Kim et Egan 2008 ; Campbell et Drucker 2013). Il est intéressant de noter que le GLP-1 n'agit pas uniquement sur les cellules  $\beta$ , mais sur l'îlot entier, notamment en réduisant le taux de glucagon par son action sur la cellule  $\alpha$  (Sandoval et D'Alessio 2015).

Le GIP est un peptide de 42 aa principalement sécrété par les cellules K du duodénum. Sa forme active possède une demi-vie courte (quelques minutes) puisqu'elle est rapidement dégradée par l'enzyme DPP-4. Sa sécrétion est stimulée par la prise alimentaire (Kim et Egan 2008 ; Campbell et Drucker 2013). Les études menées sur le GIP montrent des effets principalement sur le pancréas et le tissu adipeux (Nauck et Meier 2018). Le GIP semble avoir peu d'effet sur la sécrétion d'insuline chez les patients diabétiques de type 2 (DT2) mais également sur la sécrétion du glucagon et du tissu adipeux chez les patients obèses DT2 (Bailey 2019). *In vivo*, il a été montré que le GIP permet une augmentation de la lipoprotéine lipase favorisant la libération de triglycérides et donc le stockage sous-cutané du tissu adipeux. D'autres études chez l'Homme sain et le patient DT2 sont nécessaires pour déterminer les rôles du GIP sur d'autres organes et tissus (Nauck et Meier 2018).

### c) Effets du GLP-1 sur la fonction et la masse

- **Sur la fonction**

La liaison du GLP-1 à son récepteur engage plusieurs voies de signalisation permettant la stimulation de la sécrétion d'insuline (**Figure 13**). Dans un premier temps, il y a l'activation de l'adénylate cyclase via la protéine  $G\alpha_s$  qui permet le passage de l'ATP à l'AMPc activant alors la PKA (Protéine Kinase A) et Epac2B (Exchange protein activated by cAMP 2), un facteur d'échange nucléotidique (Light et al. 2002 ; Dzhura et al. 2010 ; Drucker 2018). L'action dépendante d'Epac est plus rapide et plus importante que celle dépendante de la PKA, puisque cette dernière nécessite le recrutement des granules de réserve (Ma et al 2014).

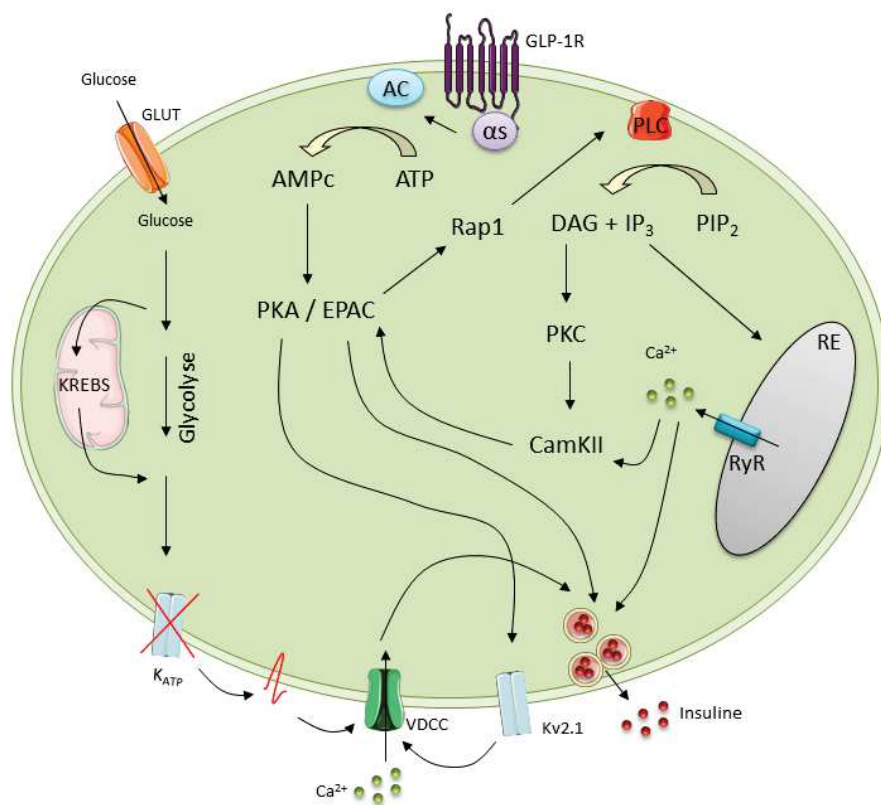
L'activation de la PKA entraîne la fermeture des canaux potassiques voltage dépendant (Kv2.1) et ATP dépendant ( $K_{ATP}$ ) qui agissent à la fois sur l'ouverture des canaux calciques voltage dépendant entraînant alors une augmentation de la concentration cytosolique de calcium ainsi que sur l'activation des syntaxines qui régule l'exocytose indépendamment de l'activité électrique membranaire (Tomas et al. 2020). La PKA agit également sur PDX-1 (Müller 2019) qui comme décrit précédemment joue un rôle dans la biosynthèse de l'insuline en agissant directement sur son gène. L'augmentation de l'expression du gène de l'insuline passerait par l'axe BTG2-PDX-1 dans les cellules  $\beta$  pancréatiques, avec BTG2 (B-cell translocation gene 2) qui semblerait jouer un rôle important dans la sécrétion d'insuline induite par le GLP-1 puisque sa surexpression augmente la sécrétion d'insuline et son absence la réduit (Hwang et al, 2013).

Il est établi qu'Epac joue un rôle dans le contrôle de la sécrétion d'insuline puisqu'il régule l'activité des canaux  $K_{ATP}$  (Kang et al. 2008), sodiques et calciques (Holz et al. 2006 ; Shigeto et al. 2015). Cependant les mécanismes impliqués ne sont pas clairement définis. *In vivo*, il a été montré par l'utilisation de souris KO, que le mécanisme de libération de calcium induite par lui-même est permis par l'activation de la PKA et d'Epac2 (Dzhura et al. 2010). Toujours *in vivo*, il a été montré qu'Epac1 agit sur la tolérance au glucose et l'architecture cellulaire de l'îlot puisque son absence entraîne une dysfonction et une mort des cellules, associées à un syndrome métabolique (Kai et al. 2013). Epac joue également un rôle sur l'activité d'exocytose (Holz et al. 2006) par sa capacité à activer la PLC permettant la libération de diacylglycérol (DAG) et d'inositol triphosphate (IP3). Par ce biais, la protéine kinase C (PKC) est activée, suivie de la CaMKII amenant à l'exocytose d'insuline. L'action de l'IP3 permet de libérer des réserves de calcium présents dans le RE via les récepteurs à la ryanodine (RyRs)

amplifiant également la sécrétion d'insuline (Dzhura et al. 2010 ; Tomas et al. 2020). D'autre part, la liaison d'Epac2A à la membrane plasmique spécifiquement au niveau des granules sécrétoires entraînée par l'AMPc, suggère le rôle d'Epac2A dans le contrôle du relargage des granules d'insuline (Alenkvist et al. 2017).

De plus, la sécrétion d'insuline peut être amplifiée par la voie  $\beta$ -arrestine 1 permettant une augmentation d'AMPc (Sonoda et al. 2008) mais également d'Epac2 (Barella et al. 2019) par la liaison du GLP-1 à son récepteur. Malgré les effets avérés de la  $\beta$ -arrestine 2 sur la fonction des RCPGs, il semblerait qu'elle n'ait pas de rôle sur la sécrétion d'insuline, puisque son absence dans les îlots pancréatiques n'affecte pas cette sécrétion d'insuline induite par le glucose (Ravier et al. 2014 ; Zhu et al. 2017).

L'ensemble de ces voies mènent à une amplification de la sécrétion d'insuline (**Figure 13**). Cependant, les effets des incrétines sur cette sécrétion dépendent des altérations métaboliques et de la génétique de chaque individu (Herzberg-Schäfer et al. 2012 ; Müller et al. 2019).



**Figure 13** : Effets du GLP-1 sur la cellule  $\beta$  pancréatique. Adapté de Tomas et al. 2019.

- **Sur la masse**

Au-delà de ses effets sur la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques, le GLP-1 a également une action sur la masse de ces cellules en stimulant la prolifération et en inhibant les mécanismes impliqués dans l'apoptose des cellules  $\beta$  : stress du RE, autophagie, fonction mitochondriale et modification de l'expression génique. Pour cela, il agit sur plusieurs voies de signalisation : en passant par la PKA, il active PDX-1 qui, comme décrit précédemment joue un rôle important dans la prolifération cellulaire mais agit aussi en diminuant l'apoptose (Müller et al. 2019 ; Li et al. 2005). De plus, l'utilisation de souris déficientes dans l'activité de CREB montre que le GLP-1 active CREB, favorisant l'expression et l'activation d'IRS2 par des facteurs de croissance et une augmentation de la survie des cellules (Jhala 2003; Müller et al. 2019). Cette incrétine initie également la voie ERK1/2 permettant la phosphorylation et l'activation de la kinase RSK (Ribosomal S6 Kinase) induisant la phosphorylation et l'inactivation de Bad et FoxO1, deux protéines pro-apoptotiques. L'inactivation de ces deux protéines montre donc l'effet anti-apoptotique du GLP-1 (Quoyer et al. 2010 ; Kapodistria et al. 2018 ; Müller et al. 2019). La réduction de l'apoptose est également permise par la diminution de l'expression de TXNIP, facteur pro-apoptotique, entraînant la mort des cellules par une augmentation du stress oxydant (Chen et al. 2006). La prolifération des cellules  $\beta$  stimulées par le GLP-1 est permise non seulement par PDX-1 et la voie des MAPKs mais également par d'autres facteurs tels que les cyclines D1 et D2, la PI3K, Epac1 ou encore IRS2 (Lee et Jun 2013). Il a été montré que le GLP-1 a la capacité de faire surexprimer la cycline D2 dans le pancréas de rat rendu diabétique par un traitement à la streptozotocine et entraîne une augmentation des cellules progénitrices pancréatiques. Ces dernières expriment de nombreux gènes et sont capables de se différencier en îlots matures (Chen et al. 2012). Ces résultats montrent les effets du GLP-1 sur la différenciation et la néogenèse des cellules  $\beta$  pancréatiques chez les rongeurs. Cependant, il semblerait que ces résultats ne se retrouvent pas chez l'Homme (Lee et Jun 2014).

Récemment, il a été montré *in vitro* et *in vivo*, par l'utilisation de souris diabétiques induites par la streptozotocine, que le GLP-1 entraîne la transdifférenciation de cellules  $\alpha$  pancréatiques en cellules  $\beta$  pancréatiques fonctionnelles permettant l'augmentation de la masse  $\beta$  cellulaire. Ces études montrent que la transdifférenciation induite par le GLP-1 pourrait être médiée, en partie, par le facteur de croissance FGF21 (Lee et al. 2018) mais également par la voie PI3K/AKT/FOXO1 qui provoque une augmentation de l'expression

d'ARNm de *Pdx1* et *MafA* (Zhang et al. 2019). A nouveau ces mécanismes dans les cellules humaines restent à établir.

#### d) Autres récepteurs couplés aux protéines G

Il a été montré que plus de 30 RCPGs sont impliqués dans la régulation de la fonction  $\beta$  cellulaire (Riddy et al. 2018). En annexe de ce manuscrit, une revue dont je suis co-auteure résume les connaissances accumulées ces deux dernières années sur les RCPGs présents dans les cellules  $\beta$  pancréatiques et qui pourraient être utilisés comme cibles thérapeutiques dans le DT2 (Delobel et Dalle 2020) (**Table 2**). Leurs multiples actions et voies de signalisations font des RCPGs des cibles intéressantes et sont sources d'études approfondies.

Stimulation de la sécrétion d'insuline				Inhibition de la sécrétion d'insuline	
G $\alpha$ s		G $\alpha$ q		G $\alpha$ i	
<i>B2</i>	<i>Noradrénaline</i>	<i>AT1</i>	<i>Angiotensine II</i>	<i>A2</i>	<i>Noradrénaline</i>
<i>Gcgr</i>	<i>Glucagon</i>	<i>CCK1</i>	<i>CCK</i>	<i>CB1R</i>	<i>Cannabinoïdes</i>
<i>GIPR</i>	<i>GIP</i>	<i>FZD</i>	<i>Carbamazépine</i>	<i>GHS-R</i>	<i>Ghréline</i>
<i>GLP-1R</i>	<i>GLP-1RA</i>	<i>GPR39</i>	<i>Obestatine/Zn<sup>2+</sup></i>	<i>GPR44</i>	<i>Prostaglandine D2</i>
<i>GPR30</i>	<i>Estrogène</i>	<i>GPR40</i>	<i>Acide gras</i>	<i>NPYR</i>	<i>Peptide YY</i>
<i>GPR39</i>	<i>Obestatine/Zn<sup>2+</sup></i>	<i>GPR43</i>	<i>Acide gras</i>	<i>SSTR2</i>	<i>Somatostatine</i>
<i>GPR56</i>	<i>Collagène II</i>	<i>GPR54</i>	<i>Kisspeptine</i>	<i>Y1</i>	<i>Neuropeptide Y</i>
<i>GPR119</i>	<i>Acides gras</i>	<i>GPR55</i>	<i>Cannabinoïdes</i>		
<i>GPR120</i>	<i>Acides gras</i>	<i>GPR142</i>	<i>Rhodopsine</i>		
<i>TGR5</i>	<i>Acide oléanique</i>	<i>IL-6R</i>	<i>IL-6</i>		
<i>TAAR1</i>	<i>Trace amine</i>	<i>M3R</i>	<i>Acétylcholine</i>		
<i>PAC1</i>	<i>PACAP</i>	<i>OLFR15</i>	<i>Acide octanoïque</i>		
<i>P2Y</i>	<i>ATP/ADP</i>	<i>HTR2B</i>	<i>Sérotonine</i>		
<i>VPAC2</i>	<i>VIP/PACAP</i>	<i>V1B</i>	<i>Vasopressine</i>		

**Table 2** : RCPGs dans la cellule  $\beta$  pancréatique. Tiré et adapté de la revue Delobel et Dalle, 2020.

## 5. Modulation de la réponse au glucose par les récepteurs à activité tyrosine kinase

### a) Généralités

Il existe 20 familles de récepteurs à activité tyrosine kinase (RTKs), qui les différencient selon leur structure. Les RTKs sont des glycoprotéines transmembranaires qui possèdent une région cytoplasmique à activité tyrosine kinase très conservée entre eux. Facteurs de croissances, cytokines, hormones ou encore facteurs neurotrophiques sont des molécules

pouvant activer les RTKs. Lorsqu'un ligand se fixe à son récepteur, celui-ci se dimérise et s'autophosphoryle entraînant son activation. Un même ligand peut activer plusieurs RTKs. Un RTK peut engager les voies des MAPKs, de la PI3K ou encore de SCR (sarcome prot-oncogène) (Regad 2015). L'activation de ces voies impacte différents processus tels que la survie, la prolifération ou la différenciation cellulaire (Lemmon et Schlessinger 2010).

#### *b) Effets du récepteur de l'insuline sur la fonction et la masse des cellules $\beta$*

Seul le récepteur de l'insuline (IR) est décrit plus précisément dans cette partie car ses rôles importants dans l'insulinorésistance, le développement et la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques, font de ce récepteur, l'un des plus étudiés. Sous l'effet de l'insuline, les sous-unités  $\alpha$  de l'IR autophosphorylent les sous-unités  $\beta$  sur des résidus tyrosines. Cela permet la phosphorylation des substrats du récepteur, appelés IRS (Insulin Receptor Substrates). Ces derniers activent la voie PKB/Akt via la PI3K, qui entraîne l'augmentation du transporteur GLUT à la membrane amenant à la stimulation du transport du glucose. Une courte stimulation à l'insuline, entraîne sur ses tissus cibles, la phosphorylation en Ser-612 et Ser-632 d'IRS et dépend de l'action des MAPKs. Une stimulation de longue durée permet la phosphorylation en Ser-307 d'IRS et dépend de l'action de PI3K/mTOR (Gual et al. 2003). Il existe une voie régulatrice négative de l'insuline qui passe par les RTKs. Une dérégulation de cette voie peut amener à l'insulinorésistance et au diabète. Par exemple, l'activation chronique de mTOR entraîne une insulinorésistance (Tanti et Jager 2009). C'est le cas également de l'hyperglycémie chronique qui entraîne une régulation négative de IRS (Tanti et al. 2004) par sa phosphorylation exacerbée en Ser-307 favorisant le développement d'une insulinorésistance. Le rôle des RTKs et notamment de l'IR, a été étudié dans le développement et la fonction de la cellule  $\beta$  ainsi que dans l'exocytose d'insuline. Il a été montré que la  $\beta$ -arrestine 2 joue un rôle dans la plasticité de la masse cellulaire des îlots pancréatiques (Ravier et al. 2014). IR et IRS permettent de moduler le flux calcique et d'induire des effets autocrines de l'insuline (Oakie et Wang 2018). Il est important de noter que l'insuline peut exercer des effets autocrines sur sa propre sécrétion. De plus, pour avoir les effets positifs du GLP-1 sur la prolifération, la survie des cellules  $\beta$  et la sécrétion d'insuline, il est nécessaire d'avoir une fonction intégrale du récepteur à l'insuline (Caporarello et al. 2017). Ceci montre que les RTKs entretiennent des relations avec les autres récepteurs importants dans la fonction et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques.

### c) Autres récepteurs à activité tyrosine kinase

Dans la cellule  $\beta$  pancréatique, certains RTKs ont montré des rôles importants dans la survie et la fonction. Par exemple, il a été montré que le RTK de l'EGFR (epidermal growth factor receptor) joue un rôle dans le développement du pancréas et dans la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatiques, via les voies des MAPKs et de la PI3K. De plus, ce récepteur a été montré comme indispensable dans le mécanisme de transdifférenciation de cellules acineuses en îlots pancréatiques fonctionnels, processus qui favorise l'augmentation de la masse  $\beta$  cellulaire (Miettinen et al. 2008). C-Kit, un autre RTK, se trouve dans une sous-population de cellules endocrines précoces du pancréas possédant une haute capacité proliférative. Il a été suggéré que c-Kit joue un rôle dans la maturation des cellules endocrines de l'îlot pancréatique humain en développement. Chez le rongeur, l'activation de c-Kit entraîne la transcription de gènes et la prolifération cellulaire, en partie par la stimulation de la PI3K. De plus, c-Kit peut interagir avec d'autres RTKs tels que le récepteur de l'insuline ou celui du VEGF-A au sein de l'îlot pancréatique et réguler la prolifération, la survie et la fonction de celui-ci (Feng et al. 2015 ; Oakie et Wang 2018). Il a été montré que HGF/c-Met est impliqué dans la protection et la survie des cellules  $\beta$  puisque son absence *in vivo* entraîne une sensibilité accrue au diabète induit par la streptozotocine avec une augmentation de la glycémie et une diminution de la masse des cellules. A l'inverse, la présence de HGF/c-Met permet une atténuation de la signalisation de NF $\kappa$ B et de la survie des cellules  $\beta$  (Mellado-Gil et al. 2011). Le récepteur de l'IGF-1 est un RTK assez étudié dans la cellule  $\beta$  pancréatique et a montré son rôle important dans la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose à travers le maintien de l'expression de GLUT2 (Oakie et Wang 2018).

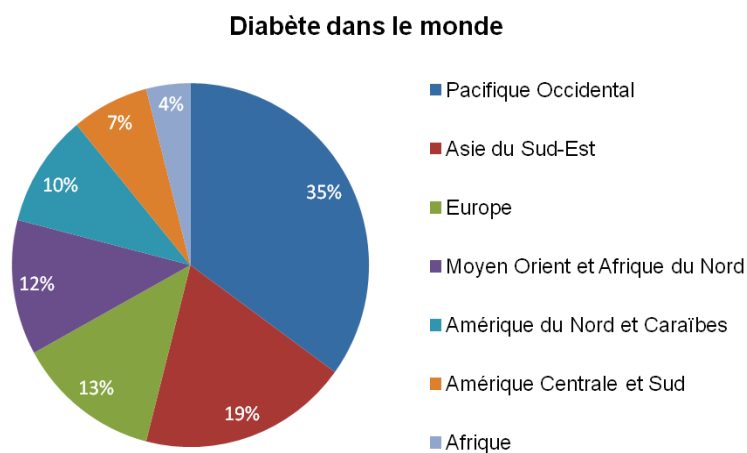


# CHAPITRE 2 : Physiopathologie de la cellule $\beta$ pancréatique

## – Le diabète –

### I. Le diabète : une véritable pandémie

463 millions de personnes (entre 20 et 79 ans) sont atteintes de diabète dans le monde en 2019, soit 9,3% de la population. D'ici 2045, une augmentation de 51% de ce chiffre est estimée, avec plus de 700 millions de personnes concernées par cette pathologie. Ce problème de santé majeur touche l'ensemble du monde et est considéré comme l'une des urgences sanitaires mondiales du 21<sup>ème</sup> siècle (Atlas du diabète. 2019) (**Figure 14**). Le diabète est une maladie chronique définie par une glycémie à jeun supérieure à 1.26 g/L ne pouvant être régulée par l'insuline du fait de son absence, sa sensibilité et/ou de la résistance de ses tissus cibles (Kerner et Brückel 2014). A long terme, cela peut entraîner des complications telles que des neuropathies, néphropathies, cécité ainsi que des problèmes cardiovasculaires. Il existe plusieurs formes de diabètes dont les plus connues sont le diabète de type 1 (DT1) et le diabète de type 2 (DT2) qui représentent respectivement environ 10% et 90% de la population diabétique (Atlas du diabète. 2019).



**Figure 14** : Répartition mondiale du diabète (tous diabètes confondus). L'intégralité des continents sont touchés et la croissance exponentielle du nombre de cas, font du diabète une véritable pandémie.

#### 1. Diabète de type 1

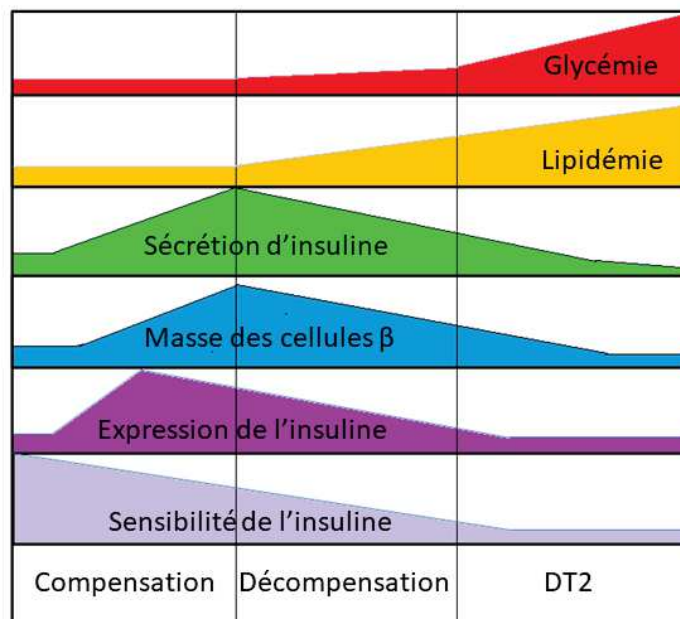
Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune entraînant la destruction massive des cellules  $\beta$  pancréatiques par le système immunitaire. Il représente environ 10% des cas diabétiques et se développe généralement chez les enfants et les jeunes, dans un cas sur deux la maladie est observée avant l'âge de 20 ans. Cette pathologie est causée par des facteurs

généétiques et environnementaux. Les symptômes (polydipsie, vision floue, énurésie nocturne, polyurie, asthénie, sensation constante de faim et perte soudaine de poids (Atlas du diabète. 2019)) apparaissent lorsque 80% des îlots pancréatiques sont détruits via une infiltration de monocytes et lymphocytes T (Willcox et al. 2009 ; Boitard 2012). A ce jour, le DT1 ne connaît pas de traitement préventif et curatif. Les personnes présentant un DT1 doivent compenser leur défaut de production d'insuline par des injections d'insuline plusieurs fois par jour, soit par injections sous-cutanées soit via une pompe à insuline. Cette maladie n'empêche pas à la personne de mener une vie active et autonome. Cependant, elle nécessite une surveillance accrue afin d'empêcher le développement de complications macro- et micro-vasculaires (Atlas du diabète. 2019).

## 2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique et multifactorielle entraînant une perte progressive de la masse fonctionnelle des cellules  $\beta$  pancréatiques associée à une insulino-résistance des tissus cibles. Ce diabète est le plus répandu et touche environ 90% des personnes diabétiques. Les personnes âgées, en surpoids ou obèses sont plus à risque de développer un DT2 dû à un mode de vie sédentaire et une mauvaise alimentation. La génétique de l'individu ainsi que son environnement sont déterminants dans l'apparition d'un DT2 (Pfeiffer et Klein 2014). Après ré-adaptation de leur mode de vie, les patients DT2 sont traités selon une médecine personnalisée, c'est-à-dire selon les caractéristiques du patient et de son diabète : âge, ancienneté du diabète, IMC, comorbidité, HbA1c, bilan lipidique etc. Un mode de vie sain associé à un traitement adéquat permet aux patients DT2 de limiter les comorbidités associées à cette pathologie (Pfeiffer et Klein 2014). Cette maladie sera développée plus en détail dans la partie II de ce chapitre. Il est cependant, intéressant de noter qu'avant l'apparition d'un DT2, il existe une phase appelée glucolipoadaptation en amont des effets délétères. Ce terme désigne le maintien plus ou moins long de l'homéostasie glucidique face à l'insulino-résistance qui est génétiquement déterminée (Nolan et al. 2006 ; Poitout et al. 2010 ; Barlow et Affourtit 2013). Cette phase de compensation est permise par une augmentation de l'expression du gène de l'insuline, de la sécrétion d'insuline et de la masse des cellules  $\beta$ . La phase suivante correspond à une phase de décompensation du pancréas qui représente une diminution progressive de l'expression du gène de l'insuline ainsi que de sa sécrétion et de la masse cellulaire. Enfin, il y a une défaillance du système avec la perte de la sécrétion d'insuline

et la mort cellulaire, accompagnée par une hyperglycémie et une hyperlipidémie chronique amenant au DT2 (Poitout et al. 2010) (Figure 15).



**Figure 15** : Systèmes de compensation et décompensation du pancréas. Tiré et adapté de Poitout et al. 2010.

### 3. Autres diabètes

#### a) Diabète monogénique

Le diabète monogénique, aussi connu sous le nom de diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) est de forme autosomique dominante. Il représente 1,5 à 2% des cas diabétiques et est souvent confondu avec un DT1 ou DT2 (Atlas du diabète. 2019). Il apparaît pendant l'enfance et est causé par la mutation d'un seul gène ou d'un facteur de transcription (dans 66% des cas). Cela peut être une mutation de HNF1 $\alpha$  (pour 61% des cas – MODY3), de la glucokinase (pour 22% des cas – MODY2), de HNF4 $\alpha$  (pour 4% des cas – MODY1) ou encore de HNF1 $\beta$  (pour 2% des cas – MODY5) qui sont impliqués dans le développement précoce du pancréas (Heuvel-Borsboom et al. 2016). Au total, 14 sous-types de diabètes MODY sont identifiés qui nécessitent des prises en charge différentes (Flannick et al. 2016 ; Atlas du diabète. 2019).

### *b) Diabète néonatal (<6mois)*

Ce diabète touche les nourrissons de moins de 6 mois (Aguilar-Bryan et Bryan 2008). Il peut être soit transitoire (dans 45% des cas) soit permanent. Le premier se traite par des injections d'insuline et se soigne rapidement. Après quelques mois, l'individu est capable de sécréter lui-même de l'insuline mais il est possible qu'un DT2 se mette en place à l'âge adulte (Tenoutasse et Dorchy 2010). La forme permanente de ce diabète est causée par une mutation de canaux potassiques ( $K_{ir}$ ) entraînant une difficulté dans l'ouverture et la fermeture de ces canaux, indispensable pour le bon fonctionnement de la cellule  $\beta$  (Vaxillaire et al. 2012). Pour ce diabète, il est possible d'utiliser une sulfonylurée comme traitement (Tenoutasse et Dorchy 2010).

### *c) Diabète gestationnel*

Comme son nom l'indique, ce diabète apparaît lors de la gestation. Il est caractérisé par une hyperglycémie pendant la grossesse (après 24 semaines d'aménorrhée) chez une femme n'ayant pas de diabète connu (Song et al. 2018). Il semblerait que 3 à 8 % des grossesses soient touchées par ce diabète. En général, ce diabète est transitoire et s'estompe suite à l'accouchement. Cependant, il se peut que la femme développe un DT2 3 à 6 ans après un diabète gestationnel. De nombreux facteurs de risques sont identifiés dont les plus connus sont un surpoids, une obésité et/ou une prise excessive de poids pendant la grossesse, associés à des antécédents familiaux de diabètes (American diabetes association. 2003 ; Atlas du diabète. 2019). Un dépistage est recommandé à chaque grossesse pour déceler ce type de diabète le plus tôt possible afin de réguler au plus vite la glycémie si nécessaire. Chez les femmes atteintes de diabète gestationnel, il est important de garder une alimentation saine, une activité physique modérée et de surveiller leur glycémie quotidiennement. Les conséquences de cette maladie peuvent être potentiellement graves avec une hypertension artérielle, des complications lors de la naissance associées à un danger pour le bébé, il est donc important de réduire l'hyperglycémie pour réduire le risque de complications (Hod et al. 2015).

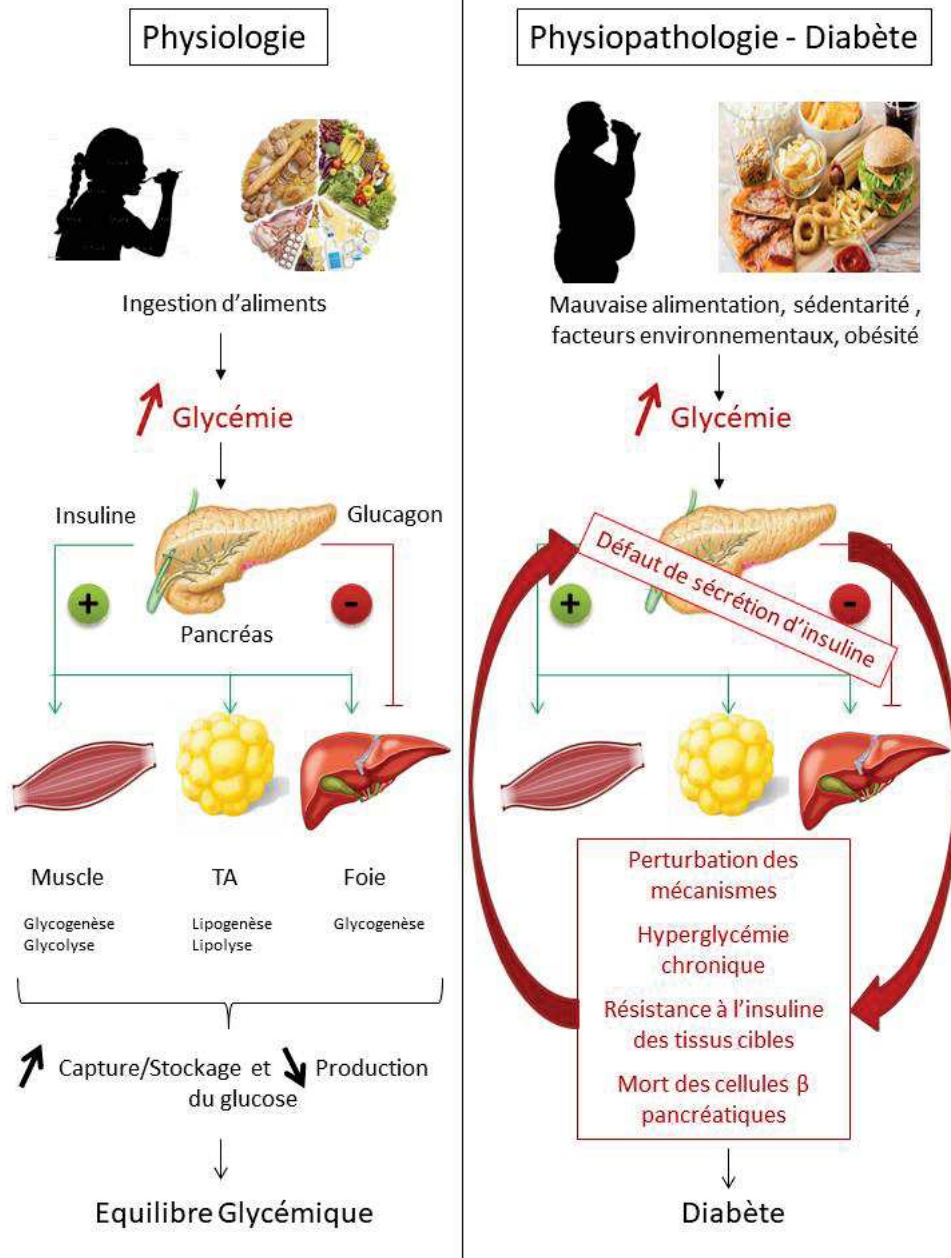
## II. Le diabète de type 2 : facteurs favorisants et mécanismes impliqués

### 1. Définition

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique, caractérisée par une hyperglycémie chronique, résultant d'une résistance à l'insuline (insulino-résistance) et d'une défaillance dans le mécanisme de sécrétion d'insuline associée à une perte de masse des cellules  $\beta$  pancréatiques (Kerner et Brückel 2014). Les individus diabétiques de type 2 possèdent tout d'abord une sécrétion d'insuline normale, cependant, des facteurs vont amener les tissus cibles à une résistance à l'insuline (Himsworth 2013). Cette dernière est aggravée par la sédentarité, l'obésité, les déséquilibres nutritionnels et l'hyperglycémie (Kahn et Flier 2000) (**Figure 16**). L'insulino-résistance des tissus conduit à une compensation du pancréas qui correspond à la surproduction d'insuline par les cellules  $\beta$  qui s'épuisent et finissent par ne plus produire suffisamment d'insuline, conduisant à un DT2.

### 2. Facteurs de risque et comorbidités

Cette maladie chronique et hétérogène est dite multifactorielle. Elle est causée par des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux (Dendup et al. 2018). L'obésité et la sédentarité sont les deux facteurs majeurs amenant à un DT2. L'hérédité (Baig et al. 2020), l'âge (>45ans) (Awad et al. 2018), la présence d'un syndrome métabolique tel qu'un diabète gestationnel pour les femmes ayant donné naissance à un bébé de plus de 4kg, la dyslipidémie, une hypertension artérielle et une glycémie à jeun >1.1g/L sont des exemples de facteurs favorisant l'apparition d'un DT2 (Dendup et al. 2018). Pendant plusieurs années, les patients DT2 ont une période asymptomatique et sont plus à risque de développer des complications micro- et macro-vasculaires tels qu'une rétinopathie qui est la première cause de cécité chez l'adulte, un AVC (accident vasculaire cérébral), des maladies cardiovasculaires, une neuropathie diabétique amenant à un trouble de la sensibilité des membres inférieurs ainsi qu'une néphropathie (Schlienger 2013).



**Figure 16 :** Régulation de la glycémie : mécanismes physiologique et physiopathologique. L'insuline et le glucagon, deux hormones pancréatiques maintiennent l'équilibre glycémique en agissant sur leurs tissus cibles. Une dérégulation de ce système entraîne la perturbation de nombreux mécanismes menant au diabète.

### 3. Mécanismes impliqués

L'hyperglycémie chronique présente dans le DT2 est entretenue par de nombreux mécanismes réduisant la fonction et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques. Parmi ceux-là, la protéotoxicité, la glucolipotoxicité, l'inflammation, le stress du réticulum, le stress oxydant et la perturbation du flux autophagique mènent à l'apoptose et à la dysfonction des cellules  $\beta$  (Bensellam et al. 2012).

### a) L'apoptose

L'apoptose est un processus physiologique de mort cellulaire programmée permettant de dégrader les cellules infectées ou endommagées. Ce processus est impliqué dans de nombreux mécanismes physiologiques, notamment au cours du développement fœtal. Cependant, l'exacerbation de cette voie est responsable de pathologies via une augmentation des facteurs pro-apoptotique entraînant, par différents mécanismes moléculaires (Federici et al. 2001 ; White et al. 2020 ; Aharoni-Simon et al. 2016 ; Lambelet et al. 2018) une augmentation de l'expression des caspases (protéases intracellulaires) (Reed 2000).

Dans le cadre du DT2, l'apoptose est largement décrite comme étant le mécanisme principal entraînant la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques suite au dysfonctionnement et à l'épuisement de ces cellules (Tomita 2016). De nombreux évènements peuvent induire cette voie apoptotique telles que l'inflammation ou l'hyperglycémie. En effet, le glucose supraphysiologique est capable d'induire cette voie dans les cellules  $\beta$  pancréatiques (Bensellam et al. 2012). Ce processus d'apoptose entraîne une modification morphologique de la cellule avec notamment une condensation de la chromatine ainsi qu'une fragmentation nucléaire.

Le mécanisme d'apoptose est régulé par de nombreux facteurs dont ceux de la famille Bcl-2 contenant des facteurs pro-apoptotiques (Bad, Bak, Bcl-rambo, Bcl-xS, Bid, Bik, Bim, Blk, BNIP3, Bok/Mtd, Hrk, Nip3) et anti-apoptotiques (A1/Bfl1, Bcl-2, Bcl-w, Bcl-xL, Boo/Diva, Mcl-1, NR-13, Nrf3). Lorsque la balance entre ces facteurs est en faveur des molécules pro-apoptotiques, le mécanisme d'apoptose se déclenche et engendre l'activation d'une cascade de caspases (Cysteine Aspartyl specific proteases) (Stevens et Oltean 2019). Ce sont des protéases qui ont pour fonction d'activer des protéines par clivage. Cette famille comprenant 14 membres chez l'Homme et la souris, est subdivisée en deux groupes de par leur voie d'activation : la voie intrinsèque et la voie extrinsèque qui dépend du stress subit par la cellule (Fan et al. 2005) (**Figure 17**).



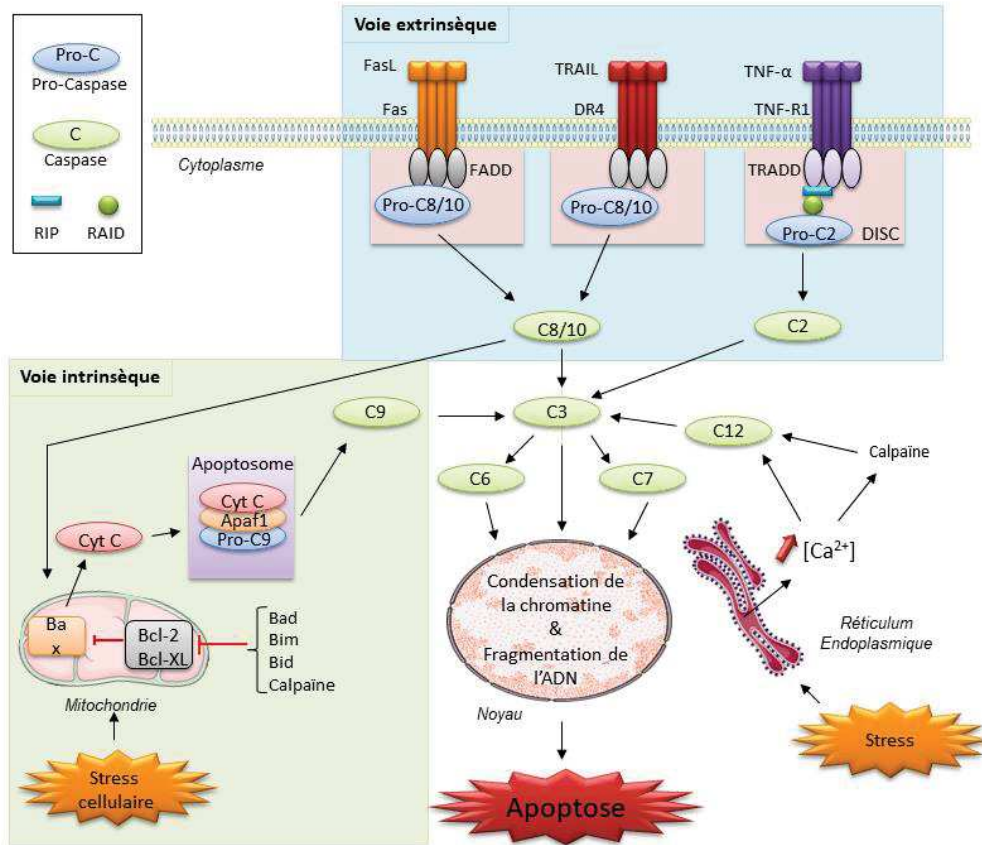


Figure 17 : Mécanisme d'apoptose : voies intrinsèque et extrinsèque.

La voie extrinsèque prend effet au niveau de la membrane plasmique grâce à l'activation de récepteurs transmembranaires par leur liaison aux ligands FasL ou cytokines (TNF) qui permet le recrutement du complexe DISC (Death-inducing signaling complex) par l'agrégation des molécules FADD (Fas-associated death domain) liées aux pro-caspases 8 ou 10 ; ou bien par l'agrégation de molécules TRADD (TNFR-associated death domain). La libération de ces caspases permet leur activation et le clivage de la caspase 3.

La voie intrinsèque se déroule plus bas dans la cellule, au niveau de la mitochondrie. Lors d'un stress cellulaire, la mitochondrie libère le cytochrome C qui se lie à Apaf1 et pro-caspase 9 formant ensemble l'apoptosome. Cela permet le clivage de cette dernière et la libération de la caspase 9 pouvant agir directement sur la caspase 3.

L'activation de la caspase 3 permet le clivage des caspases 6 et 7, qui toutes trois peuvent agir sur des substrats apoptotiques tels que PARP (Poly(ADP-ribose)polymerase), ICAD (inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease) et Lamine A, jouant respectivement un rôle



dans la réparation et la dégradation de l'ADN ainsi que dans la condensation de la chromatine entraînant alors la mort de la cellule (Reed 2000 ; Emamaullee et Shapiro 2006).

*b) La glucolipotoxicité ou « nutri-stress »*

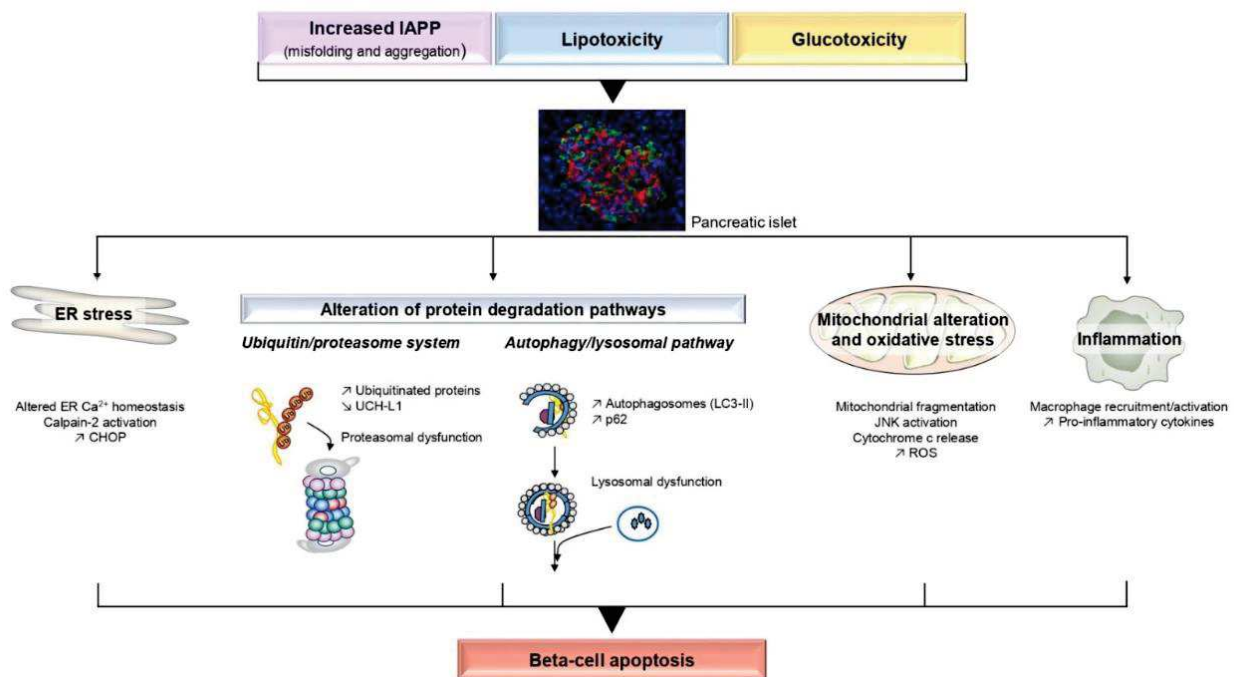
La glucolipotoxicité a été décrite comme un phénomène délétère entraînant la dysfonction et la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques. C'est la combinaison des effets de la glucotoxicité et la lipotoxicité qui désignent les effets néfastes produits par l'hyperglycémie et l'accumulation d'acides gras (hyperlipidémie) (Poitout 2008 ; Poitout et al. 2010). Ce terme de glucolipotoxicité est toujours débattu et il semblerait plus adapté d'évoquer ce stress sous le terme de stress induit par des nutriments (ou « nutri-stress ») (Weir 2020 ; Prentki et al. 2020).

La glucotoxicité est un concept dans lequel le glucose, à une concentration excessive de manière prolongée ou répétée, entraîne des effets délétères sur la fonction et la masse des cellules (Moran et al. 1997 ; Poitout et Robertson 2002). La concentration de glucose dite excessive diffère en fonction du modèle d'étude. En effet, une concentration de glucose de 11mM est la concentration optimale pour des cellules  $\beta$  INS-1E (lignée cellulaire de rat) (Bensellam et al. 2009) et est cependant trop importante pour une culture d'îlots pancréatiques humains (5.6mM) (Maedler et al. 2001) et trop faible pour la culture de cellules  $\beta$  MIN6 (lignée cellulaire de souris cultivée à 25mM de glucose). La glucotoxicité est entretenue par de nombreux mécanismes tels que le stress oxydant, le stress du réticulum endoplasmique, l'inflammation, la glycation protéique, les dépôts amyloïdes ou encore l'hypoxie (Bensellam et al. 2012). Certains de ces mécanismes sont décrits plus en détail par la suite. L'hyperglycémie chronique n'affecte pas uniquement la cellule  $\beta$  mais agit sur l'ensemble de l'îlot pancréatique en modifiant notamment sa morphologie et son identité par la modulation de marqueurs clefs (Brereton et al. 2014). De nombreuses études démontrent que l'excès de glucose de manière chronique entraîne la dysfonction et la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques (Weir 2020 ; Prentki et al. 2020).

La lipotoxicité désigne un environnement délétère induit par une quantité élevée et/ou une exposition chronique aux acides gras aboutissant à une dysfonction et une mort des cellules  $\beta$  par apoptose (McGarry et Dobbins 1999). Cependant, ce phénomène de lipotoxicité dans le diabète est très controversé. Alors que certaines équipes montrent son implication dans

la perte des cellules  $\beta$ , d'autres montrent tout à fait l'inverse. Il semblerait que des études complémentaires avec des doses d'acides gras représentatives d'un patient diabétique doivent être menées (Weir 2020). Il est intéressant de noter qu'une concentration élevée de glucose est nécessaire dans ces conditions, pour que l'expression du gène de l'insuline soit diminuée dans les îlots isolés lors d'une exposition chronique au palmitate (Poitout et Robertson 2002).

De nombreux mécanismes sous-jacents au nutri-stress entraînent une dysfonction et une mort des cellules  $\beta$ . Parmi ces mécanismes se trouvent : l'inflammation, le stress du réticulum, la protéotoxicité, le stress oxydant mais également une dysfonction mitochondriale ainsi qu'une perturbation du flux autophagique (Poitout et al. 2010 ; Lytrivi et al. 2020 ; Costes et al. 2021 ; Alnahdi et al. 2020) (Figure 18).



**Figure 18** : Mécanismes impliqués dans la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques. Tiré de la revue Costes et al. 2021.

Le palmitate est l'acide gras le plus utilisé dans les études *in vitro* car c'est l'acide gras le plus courant et le plus utilisé pour la synthèse d'ATP chez l'Homme. Le palmitate associé au glucose en excès entraîne la dysfonction des cellules par son action sur la biosynthèse d'insuline à différents niveaux : il réduit l'activité du promoteur du gène de l'insuline, sa production d'ARNm, perturbe l'expression du gène de l'insuline et inhibe l'effet stimulant du glucose sur la sécrétion d'insuline (Poitout 2008). Au-delà de ces effets sur l'insuline, le palmitate agit sur

la mitochondrie en diminuant l'efficacité du couplage et la synthèse d'ATP, en augmentant la production de ROS et de NADPH et en diminuant la sensibilité au glucose de la respiration mitochondriale (Barlow et Affourtit 2013 ; Oberhauser et al. 2020 ; Alnahdi et al. 2020). C'est l'inhibition de l'enzyme de transport des acides gras du cytosol à la mitochondrie qui entrainerait l'accumulation des acides gras dans le cytosol (Poitout et Robertson 2002). L'ensemble de ces phénomènes menant à de l'apoptose entraîne une diminution de la viabilité cellulaire (Poitout 2008 ; Barlow et Affourtit 2013 ; Alnahdi et al. 2020).

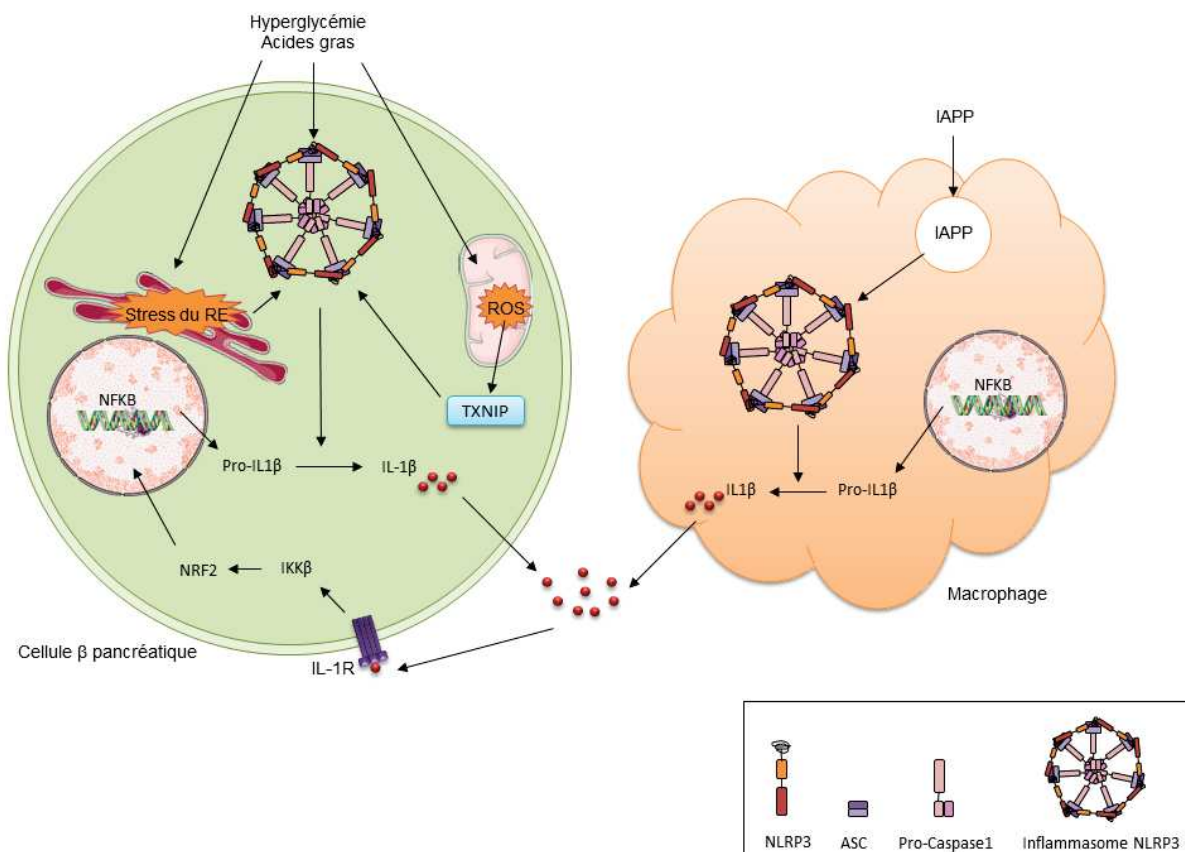
### *c) Le stress inflammatoire*

Le rôle des macrophages dans l'inflammation est bien connu. Cependant, ils semblent également jouer un rôle dans la protection anti-inflammatoire par efferocytose qui désigne le processus par lequel les cellules apoptotiques sont phagocytées. C'est donc dans un contexte diabétogène, comprenant hyperglycémie chronique et hyperlipidémie, que l'accumulation de cellules apoptotiques entraîne une reprogrammation des macrophages. Ce processus amène à la génération des ROS (Reactive Oxygen Species) conduisant à l'activation de l'inflammasome, désigné comme étant un complexe multiprotéique, et à la sécrétion de cytokines et chimiokines (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, INF $\gamma$  et MCP-1) impliqués dans l'inflammation (Donath 2013 ; Donath 2014 ; Ward et al. 2018). Dans les îlots de patients obèses, une augmentation d'IL-1 $\beta$  (interleukine-1 $\beta$ ) et NOS2 (Nitric Oxid Synthase 2) est observée. Ces marqueurs de polarisation des macrophages conduisent à un environnement inflammatoire. Il semblerait que ces molécules contribuent à une plus grande sensibilité au DT2 chez les personnes obèses (He et al. 2019).

L'inflammation résulterait donc d'une infiltration de cellules inflammatoires (macrophages, lymphocytes) entraînant une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 $\beta$ , l'INF- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ ) ou le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ), causée par un environnement diabétogène. Ces trois cytokines sont largement connues dans l'îlot pancréatique et la cellule  $\beta$ , et leurs effets sont d'autant plus délétères si les trois cytokines sont présentes simultanément (Varin et al. 2016). Il est intéressant de noter que dans l'îlot ce sont les cellules  $\beta$  qui sont la principale source d'IL-1 $\beta$  et que cette cytokine exerce une action négative sur la masse fonctionnelle des cellules pancréatiques de manière plus importante que l'IL-1 $\beta$  plasmatique (Böni-Schnetzler et al. 2018).

De nombreuses équipes étudient le rôle de l'inflammasome dans la dysfonction et la mort des cellules  $\beta$  et les résultats sont controversés. Tout d'abord, il faut savoir qu'il existe plusieurs inflammasomes : NLRP1, NLRP3, IPAF et AIM2 et leur activation dépend de l'environnement inflammatoire.

Plusieurs équipes montrent que l'inflammasome NLRP3 est responsable du dysfonctionnement et de la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques dans le DT2 et peut être activé par du stress du réticulum, du stress oxydant ou de la protéotoxicité (Yang et al. 2012). Il a été montré qu'une augmentation des protéines NLRP3 et ASC, associée à l'activation de la caspase-1 et la maturation de l'IL-1 $\beta$ , conduisent à une diminution de la masse des îlots, une hyperglycémie et une insulino-résistance par dérégulation de l'inflammasome (Lee et al. 2013 ; Schroder et Tschopp 2010). L'inflammasome NLRP3 agit comme un médiateur de l'hypoxie, du stress oxydant et de l'inflammation et son inhibition améliore la fonction et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques (Figure 19).



**Figure 19 :** Relation entre macrophage et cellule  $\beta$  pancréatique, par le biais de l'inflammasome et de la production d'IL-1 $\beta$ . Un environnement diabétogène induit par de la glucotoxicité et/ou la lipotoxicité entraîne une infiltration de macrophages au sein de l'îlot pancréatique. Les conséquences de l'hyperglycémie chronique, telle que la présence d'IAPP, entraînent l'activation de l'inflammasome NLRP3 permettant la production de cytokines IL-1 $\beta$ . Au sein de la cellule  $\beta$  pancréatique, l'inflammasome est activé directement par l'hyperglycémie mais également par le stress du réticulum endoplasmique et les ROS via la voie TXNIP. Cela entraîne également la production d'IL-1 $\beta$ .

L'inflammasome NLRP3 apparait donc comme une nouvelle cible thérapeutique dans le contexte du DT2 (He et al. 2018 ; Sokolova et al. 2018) et est d'ores et déjà étudié dans le contexte d'essais cliniques dans certaines pathologies telles que l'arthrite rhumatoïde ou l'athérosclérose (Yang et al. 2012). En revanche, plusieurs équipes montrent que malgré son rôle dans la production d'IL-1 $\beta$ , NLRP3 ne joue pas un rôle crucial dans la pathogenèse du DT2 chez les souris *db/db* et que l'inflammasome NLRP3 n'est pas responsable du dysfonctionnement de la sécrétion d'insuline (Kammoun et al. 2018) et de la perte de la masse des cellules  $\beta$  (Wali et al. 2014 ; Lebreton et al. 2018).

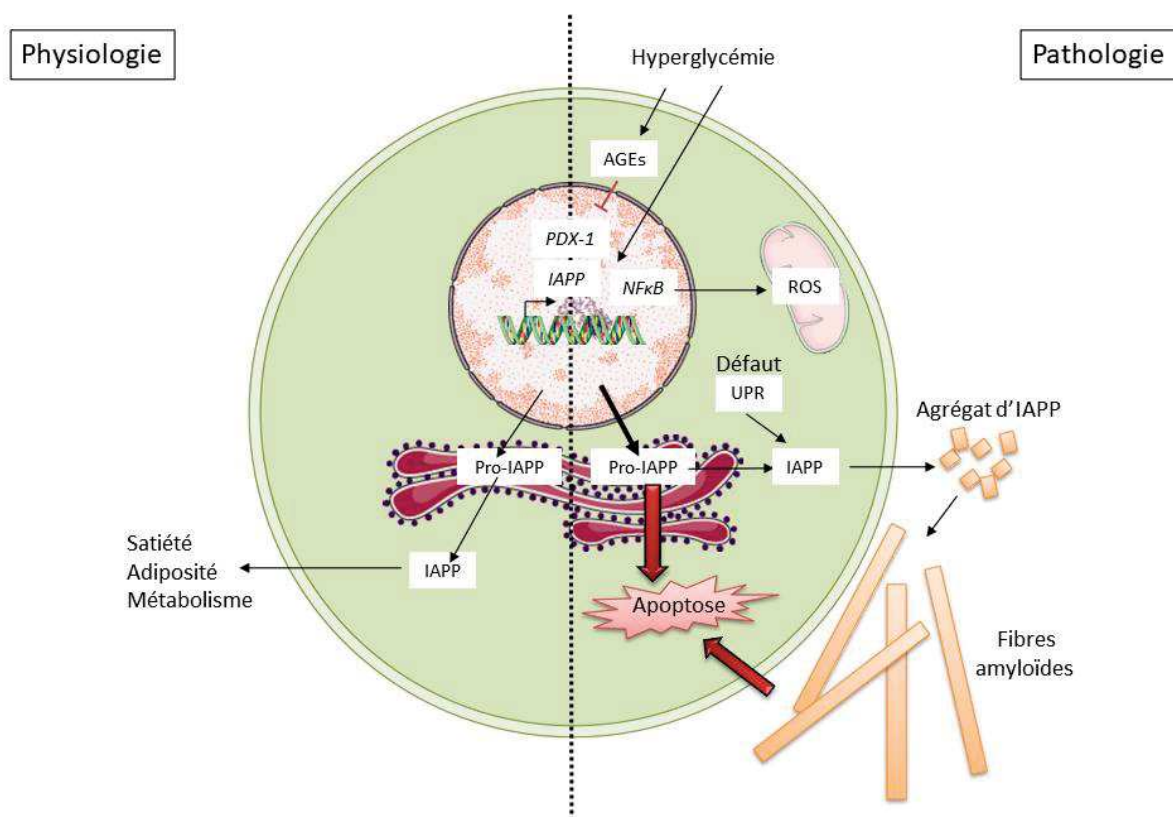
Malgré les avis divergents concernant l'implication de l'inflammasome dans la mort et la dysfonction des cellules  $\beta$ , il est clairement démontré que l'inflammasome NLRP3 communique avec l'îlot. En effet, l'environnement inflammatoire déclenche une dérégulation de l'inflammasome NLRP3 qui induit la production de cytokines pro-inflammatoires maintenant cet état d'inflammation sous forme de cercle vicieux.

#### d) La protéotoxicité

Protéotoxicité est le terme couramment utilisé pour définir un stress toxique pour les cellules lié à des protéines. Ces protéines forment des agrégats entraînant une dysfonction et une mort cellulaire par apoptose (**Figure 20**). Ce stress est principalement connu dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson sous forme de plaques amyloïdes. Cependant, des événements similaires se retrouvent dans des maladies métaboliques et inflammatoires tel que le DT2 (Abedini et al. 2018). Le polypeptide amyloïde de l'îlot pancréatique (IAPP) est une hormone co-produite et co-sécrétée avec l'insuline par les cellules  $\beta$ . En condition physiologique, elle régule la satiété, l'adiposité et le métabolisme (Lutz 2010a ; 2010b). Cependant, l'agrégat d'oligomères cytotoxiques forme des fibrilles amyloïdes dans l'îlot et est responsable de l'amyloïdose des îlots pancréatiques activant des mécanismes de stress amenant à la dysfonction et la mort des cellules  $\beta$  (Masters et al. 2010 ; Subramanian et al. 2012). 90% des patients diabétiques possèdent des plaques amyloïdes dans les îlots pancréatiques (Clark et Nilsson 2004). La cytotoxicité des cellules peut être causée par une modification conformationnelle des oligomères (Godin et al. 2019), une augmentation de pro-IAPP, un défaut dans l'UPR (Unfolded protein response) ou un excès de protéines mal repliées dues à un processus post-translational défectueux de pro-IAPP via un

site de clivage incorrect ou incomplet (Abedini et al. 2018). Le niveau d'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques est lié à l'amyloïdose.

La glycation protéique résulte d'une production de molécules AGEs (Advanced Glycation End products) qui s'accumulent dans le cytoplasme et engendrent des modifications de la matrice extra-cellulaire. Ce phénomène active des cascades de signalisation comprenant NF $\kappa$ B et induit du stress oxydant et de l'inflammation. Les AGEs diminuent l'expression de PDX-1, ce qui altère l'expression du gène de l'insuline et donc la fonction de la cellule  $\beta$ , et entraînent une perte de masse des cellules pancréatiques par l'altération de la survie et de la différenciation des cellules (Bensellam et al. 2012 ; Cignarelli et al. 2018).



**Figure 20** : Effets physiologiques et physiopathologique de l'IAPP. Alors qu'une quantité physiologique d'IAPP permet un bon fonctionnement métabolique. Un environnement diabétogène tel que l'hyperglycémie chronique entraîne une surexpression d'IAPP amenant à de l'apoptose par protéotoxicité, notamment par la création de fibres amyloïdes, largement retrouvées chez les patients diabétiques. L'hyperglycémie entraîne également la production d'AGEs qui mène à la production de ROS et d'IL-1 $\beta$ , molécules impliquées dans la mort et la dysfonction des cellules  $\beta$ .

De plus en plus d'équipes se tournent vers l'étude des protéines amyloïdes dans le cadre du DT2. De nouvelles stratégies ont été suggérées afin de réduire la toxicité et le dysfonctionnement des cellules de l'îlot pancréatique dans un contexte de maladies métaboliques, notamment par le développement d'inhibiteur de la formation amyloïde

(Kapurniotu et al. 2002) ou par le ciblage de l'axe IAPP/RAGE (Receptor Advanced Glycation end-products) afin de diminuer la liaison des récepteurs RAGEs à ses ligands pour réduire l'inflammation, la toxicité et l'apoptose des cellules (Abedini et al. 2018).

#### e) Le stress du réticulum

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organite où se déroule la synthèse, le transport (Schwarz et Blower 2016) et le processus de repliement des protéines dans la cellule. Au-delà de cette fonction, le RE est également considéré comme un « réservoir » calcique. En effet, il contient une grande quantité de calcium qui peut être déversée dans la cellule, via différents canaux (Récepteur à la ryanodine RyR et IP3R) lorsque la concentration calcique intracellulaire est basse (Clapham 2007).

Le stress du réticulum est causé par une accumulation de protéines non- ou mal-repliées. Dans ces conditions, l'UPR est activé et régule l'expression de nombreux gènes afin de maintenir l'homéostasie ou d'induire l'apoptose si le stress est prolongé (Walter et Ron 2011). Il se déroule en plusieurs étapes : dans un premier temps, il y a une expansion du RE associée à une augmentation de la machinerie permettant le repliement des protéines mal-formées. Puis plusieurs voies activent ensuite les gènes UPR entraînant la production de facteurs de transcription tels qu'IRE1, PERK ou ATF6 (**Figure 21**) (Tabas et Ron 2011 ; Schwarz et Blower 2016).

- **Facteurs de transcription impliqués**

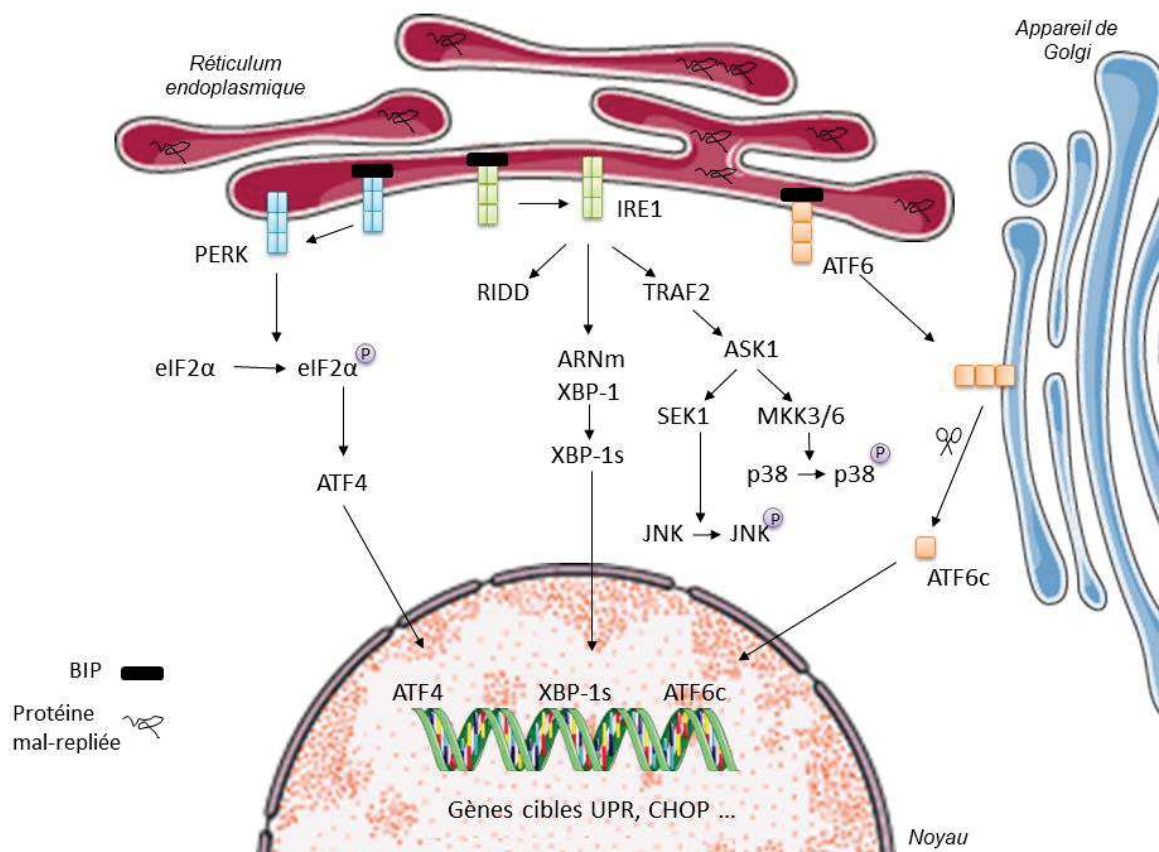
IRE1 (Inositol Requiring 1) est une endoribonucléase transmembranaire agissant dans la dégradation d'ARN et dans l'épissage post-transcriptionnel d'XBP1 (X-box binding protein-1), régulateur négatif de la réponse UPR. Ce processus, connu sous le nom de désintégration dépendante de l'IRE1 (RIDD), permet de réguler les gènes nécessaires dans la réponse au stress (Schwarz et Blower 2016 ; Tabas et Ron 2011).

PERK (pancreatic ER kinase) est une kinase phosphorylant les sous-unités  $\alpha$  d'eIF2 (eukaryotic translation initiation factor-2) (Schwarz et Blower 2016) permettant une augmentation d'ATF4 et CHOP (Tabas et Ron 2011), connus pour être activés dans un contexte de mort cellulaire liée au stress du réticulum (Cnop et al. 2017 ; Bugliani et al. 2019).



ATF6 (activating transcription factor-6) possède de nombreux rôles : il régule la protéolyse (Schwarz et Blower 2016), induit les protéines chaperonnes et la transcription de CHOP et est capable de lier et séquestrer CREB (Tabas et Ron 2011).

Dans le cas d'un stress prolongé, l'ensemble de ces mécanismes entraînent une perte de masse cellulaire (Tabas et Ron 2011 ; Schwarz et Blower 2016). Parmi les voies de signalisation connues amenant à une mort cellulaire par apoptose causée par un stress du réticulum, il existe la voie pro-apoptotique IRE1-TRAF2-JNK et UPR associés à l'augmentation de nombreuses protéines telles que CHOP, PERK, XBP-1, p-eIF2 $\alpha$  (Tabas et Ron 2011 ; Bugliani et al. 2019).



**Figure 21** : Voies du stress du réticulum endoplasmique. BIP est une protéine chaperonne, son absence permet l'activation des récepteurs PERK, IRE1 et ATF6, entraînant plusieurs voies de signalisation.

- **Voie IRE1-ASK-JNK/p38**

La phosphorylation d'IRE1 permet l'activation du complexe TRAF2-ASK1 qui activent les MAPKs JNK et p38, impliquées dans la mort des cellules par apoptose (Bensellam et al. 2012). La famille ASK (Apoptosis Signal-regulating Kinase-1, MAP3K5) est constituée d'ASK-1, ASK-2 et ASK-3. En



physiologie, ces protéines sont inactives. Cependant, lorsqu'elles sont activées par des cytokines pro-inflammatoires, elles activent les cascades SEK1-JNK et MKK3/6-p38 entraînant la mort des cellules par apoptose (Ichijo 1997 ; Okazaki 2017). Une revue récente a mis en évidence par l'analyse de nombreuses études pré-cliniques et cliniques l'efficacité de bloquer la MAP3K ASK-1 dans les maladies rénales en diminuant l'inflammation. A la différence d'autres MAP3Ks étudiées en clinique, ASK-1 ne joue pas de rôle dans les fonctions homéostatiques (Tesch et al. 2020). Enfin, des études montrent le rôle d'ASK-1 dans le stress mitochondrial lié à l'amyline humaine dans les cellules  $\beta$  pancréatiques, impliquée dans la progression du diabète (Singh et al. 2018).

La sous-famille des kinases JNK (c-Jun N-terminal kinase) est composée de JNK1 (MAPK8), JNK2 (MAPK9) et JNK3 (MAPK10) issus de trois gènes différents et proposant plus d'une dizaine d'isoformes (Zeke et al. 2016). L'activation des kinases JNK dépend au moins de l'activation de MKK4 et MKK7, deux MAP2K phosphorylées et activées par ASK-1 et MLK3 (MAP3Ks) en réponse à de l'inflammation, du stress oxydant ou encore du stress du réticulum (Fleming et al. 2000 ; Sidarala et Kowluru 2017). Il a été mis en évidence l'importance de JNK1/2 chez la souris, puisque seules les souris double KO pour ces gènes ne sont pas viables (Kuan et al. 1999). Contrairement à JNK1/2, JNK3 n'est pas ubiquitaire et son rôle semble moindre mais néanmoins nécessaire quant à l'effet cytoprotecteur de l'exendine-4, agoniste du récepteur GLP-1 (Ezanno et al. 2014). Dans la cellule  $\beta$  pancréatique, JNK1/2 et JNK3 se différencient en plusieurs points. JNK1/2 sont cytoplasmiques alors que JNK3 est nucléaire et leurs rôles semblent opposés. En effet, alors que l'activation de JNK3 semble procurer des effets bénéfiques dans la cellule, l'activation de JNK1/2 est impliquée dans la mort des cellules par apoptose en réponse à un environnement stressant (Abdelli et al. 2009 ; Cheon et al. 2010). JNK1/2 ne sont pas seulement impliquées dans la régulation de la masse des cellules  $\beta$  pancréatiques mais également dans la régulation de leur fonction (Fornoni et al. 2008). Plusieurs études montrent l'implication de JNK dans les maladies métaboliques (Solinas et Becattini 2017 ; Sidarala et Kowluru 2017 ; Kassouf et Sumara 2020). *In vivo*, l'activation de JNK dans les cellules  $\beta$  mène à une intolérance au glucose causée par la diminution de la capacité à augmenter l'insulinémie en réponse à l'hyperglycémie. Les mécanismes impliqués sont l'inhibition de la phosphorylation d'Akt et de la transcription des gènes cibles de l'insuline associés à l'inactivation de PDX-1 par sa translocation du noyau vers le cytoplasme (Kawamori et al. 2003). A l'inverse, les souris

*db/db* KO pour *Jnk1* montrent une amélioration de la tolérance au glucose associée à la réduction de la perte de la masse fonctionnelle des cellules  $\beta$  causée par ce modèle de souris obèse et diabétique (Mazzoli et al. 2021). Enfin, il a été montré que l'exendine-4 permettait la protection des cellules contre l'apoptose par une diminution de l'activation de JNK (Kim et al. 2010 ; Natalicchio et al. 2010) suggérant le croisement des voies de signalisation entre la voie du GLP-1 et celle des MAPKs.

La famille des MAPKs p38 est constituée de quatre isoformes : p38 $\alpha$  (MAPK14), p38 $\beta$  (MAPK11), p38 $\gamma$  (MAPK12) et p38 $\delta$  (MAPK13) issus de quatre gènes différents. Seuls les isoformes p38 $\alpha$  et p38 $\beta$  sont ubiquitaires (Pearson et al. 2001). L'activation de p38 dépend de l'activation de MAP2Ks : MKK3 et MKK6, elles-mêmes dépendantes de l'activation de MAP3Ks : ASK1, MLK-3 et TAK1. Ces dernières sont activées par différents stimuli qui peuvent être liés à de l'inflammation (Liu et al. 2017), du stress oxydant (Hou et al. 2008) et du stress du RE (Yamaguchi et al. 2013 ; Sidarala et Kowluru 2017). p38 est connue pour jouer un rôle dans la prolifération et la différenciation des cellules (Burns et al. 2000). Il semblerait que les isoformes de p38 peuvent avoir des fonctions différentes dans les tissus cibles de l'insuline et dans le pancréas. En effet, p38 $\alpha$  permet d'augmenter l'absorption du glucose alors que p38 $\gamma$  et p38 $\delta$  entraîne la suppression de la sécrétion d'insuline, cependant elles sont toutes impliquées dans la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques par apoptose (Song et al. 2019 ; Kassouf et Sumara 2020). Enfin, une étude *in vivo* a mis en évidence les fonctions de p38 dans les maladies métaboliques par l'utilisation d'un inhibiteur spécifique dans un modèle *db/db*. Ces résultats montrent que le traitement entraîne une diminution de la glycémie par une amélioration de la sécrétion d'insuline et une diminution de la résistance à l'insuline associée, *in vitro*, à une diminution de l'expression d'ARNm des marqueurs du stress du RE dans l'îlot et de l'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques (Wei et al. 2018).

#### f) Le stress oxydant

En condition physiologique, les ROS et les antioxydants forment un équilibre qui permet le bon fonctionnement de la cellule (Hoarau et al. 2014). Parmi les ROS se trouvent l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'anion hydroxyde ( $OH^-$ ). Les antioxydants tels que les superoxydes dismutases (CuZnSOD et MnSOD), la catalase (CAT), les glutathions peroxydases (GPx), la NADPH quinone déshydrogénase-1 (NQO-1) et l'hème

oxygénase-1 (HO-1) dégradent ces ROS. Lorsque cet équilibre entre ROS et antioxydants est perturbé, il est question de stress oxydant.

Le stress oxydant a tout d'abord été défini comme un déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants, en faveur des pro-oxydants provoquant des dommages cellulaires (Sies 1997). Cependant, il est également défini comme le résultat d'une quantité excessive de ROS dans la cellule causé par une perturbation entre production et destruction des ROS ainsi qu'une dysfonction mitochondriale pouvant entraîner des dommages liés aux lipides, aux protéines et à l'ADN amenant à une diminution de la prolifération et une augmentation de mort cellulaire (Poljsak et al. 2013 ; Halim et Halim 2019).

Dans des conditions diabétogènes telles que des conditions inflammatoires, glucotoxiques ou glucolipotoxiques, cet équilibre est perdu. L'augmentation des ROS et notamment de l' $O_2^-$  entraîne la diminution des défenses antioxydantes et l'apparition d'un stress oxydant qui est impliqué dans les complications liées au diabète (Ighodaro 2018). La formation des ROS se fait à partir de la respiration mitochondriale et est stimulée par le glucose et les acides gras (Gerber et Rutter 2017). De par leur faible expression en enzymes antioxydantes (SOD1-2, GPX1, CAT), les cellules  $\beta$  pancréatiques sont relativement vulnérables au stress oxydant (Lenzen et al. 1996 ; Bensellam et al. 2012), mécanisme qui semble impliqué dans la glucotoxicité des cellules (Kaneto et Matsuoka 2012) et dans le développement du DT2 (Wang et Wang 2017). La surexpression de la protéine de découplage mitochondriale UCP2 (Uncoupling protein 2) *in vivo* spécifiquement dans les cellules  $\beta$  pancréatiques de souris permet de protéger les cellules  $\beta$  du stress oxydant et des effets délétères causés par la glucotoxicité (Li et al. 2017). Il a été montré que le stress lié aux ROS entraîne une reprogrammation de la voie métabolique de la glycolyse et de l'oxydation des lipides provoquant la résistance à l'insuline chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine (Dong et al. 2016).

D'un point de vue mécanistique, les ROS agissent sur PDX-1 et MafA, empêchant leur translocation dans le noyau et par conséquent, entraînent une diminution de l'expression de l'insuline (Newsholme et al. 2019). Il a été montré qu'une hyperlipidémie et/ou une hyperglycémie entraîne une augmentation d'ICER (Inductible cAMP early repressor) (Allagnat

et al. 2008 ; Haefliger et al. 2013 ; Abderrahmani et al. 2006) qui est un répresseur transcriptionnel de gènes de l'insuline et de protéines clefs de l'exocytose, sa modulation a donc un impact sur la fonction des cellules  $\beta$  (Abderrahmani et al. 2006 ; Salvi et Abderrahmani 2014). L'ensemble de ces mécanismes entraînent la diminution de la sécrétion d'insuline et de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles, en modulant négativement la signalisation Akt (Yaribeygi et al. 2020). Cependant, une récente revue met en évidence la subtilité de la signalisation redox dans les cellules  $\beta$  et indiquent que la suppression des ROS comme traitement anti-diabétique ne peut être envisagée en raison de leurs effets bénéfiques sur la sécrétion d'insuline dans certaines conditions. Il est nécessaire d'étudier la signalisation redox dans les différents organites de la cellule (Roma et Jonas 2020).

Il a été montré l'existence d'un lien entre réponses antioxydantes et autophagie dans les cellules  $\beta$  pancréatiques. Il semblerait que l'activation aigüe de la signalisation d'IL-6 entraîne l'augmentation de NRF2 mitochondriale (facteur antioxydant) permettant la stimulation de la mitophagie et de l'autophagie. L'apoptose serait réduite par une adaptation au stress via un couplage entre réponse antioxydante et autophagie jouant un rôle dans la protection contre le développement du diabète (Marasco et al. 2018).

#### *g) La perturbation du flux autophagique*

L'autophagie est un processus physiologique jouant un rôle dans l'homéostasie intracellulaire par sa capacité à nettoyer les cellules par un mécanisme de dégradation protéique. Il existe plusieurs types d'autophagie, ici, seule la macroautophagie est décrite. C'est un phénomène permettant la dégradation de matériels cellulaires par la formation d'autophagosome. C'est la protéine adaptatrice p62 qui permet l'attachement des protéines à dégrader à l'autophagosome. La fusion entre un autophagosome et un lysosome permet la formation d'autolysosome qui permet alors la dégradation des protéines par les enzymes lysosomales (Lee et al. 2019).

Au-delà de cette fonction de nettoyage, l'autophagie est connue pour être indispensable dans le maintien de la fonction et de la masse des îlots pancréatiques. En effet, l'autophagie est également décrite comme un processus de défense contre les dommages cellulaires liés aux maladies métaboliques telles que le diabète (Kaniuk et al. 2007 ; Choi et al.

2009). Il a été montré que l'inhibition du flux autophagique, par un inhibiteur empêchant la fusion entre autophagosome et lysosome, entraîne une augmentation des marqueurs de l'apoptose (Caspase 3 clivée et PARP clivée) dans les cellules  $\beta$  induite par glucolipotoxicité (25 mM de glucose + palmitate) (Choi et al. 2009). Cependant, il a été également montré dans le cadre du DT2, que la glucolipotoxicité entraîne une diminution de la fusion entre autophagosome et lysosome, amenant à une altération du flux autophagique, soulignée par une accumulation de p62 indiquant un défaut de dégradation lysosomale (Zummo et al. 2017). L'utilisation de rapamycine sur des îlots humains diabétiques permet de réduire la quantité de p62 et d'améliorer la sécrétion d'insuline, mais également de réduire l'apoptose et préserver les mitochondries et l'ultrastructure du RE. Ce résultat suggère l'importance de l'autophagie dans le bon fonctionnement de la cellule  $\beta$  (Bugliani et al. 2019). De plus, plusieurs équipes ont montré que l'ablation génétique d'Atg7 (composant essentiel de la voie autophagique) dans la cellule  $\beta$  pancréatique entraîne une dégénérescence de l'îlot associée à une altération de la tolérance au glucose ainsi qu'une diminution de la sécrétion d'insuline (Ebato et al. 2008 ; Jung et al. 2008 ; Sheng et al. 2017). Des études *in vivo* ont montré sur des souris exprimant l'IAPP humain, une augmentation des dommages oxydatifs suite à une perte d'autophagie dans les cellules  $\beta$ , entraînant une perte de protection par les antioxydants et une augmentation de l'apoptose. L'accumulation d'oligomères IAPP toxiques humains et la perte des cellules  $\beta$  pancréatiques entraînent ici un diabète, indiquant le rôle de l'autophagie contre la protéotoxicité des cellules (Rivera et al. 2014). D'autres études *in vivo* ont montré que l'inhibition à court terme de la dégradation lysosomale augmente le taux de pro-insuline à l'état d'équilibre ainsi que le taux peptide C montrant une conversion de la pro-insuline en insuline. Ceci indique que le taux de pro-insuline et la sécrétion d'insuline sont également régulés par l'autophagie (Riahi et al. 2016). L'ensemble de ces données montrent la complexité de ces mécanismes par leurs interactions et indiquent que l'autophagie influence la fonction et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques.

### III. Stratégies thérapeutiques contre le diabète de type 2

Les patients atteints de DT2 ont une prise en charge particulière et sont soumis à une médecine personnalisée. Le premier point important pour un patient DT2 est d'avoir une bonne hygiène de vie impliquant une alimentation saine, une activité physique régulière ainsi qu'un maintien d'un poids sain (Atlas du diabète 2019). La modification du mode de vie n'est pas suffisante pour réguler la glycémie et est donc associée à différents traitements. Au-delà de ces traitements contrôlant la glycémie, les personnes DT2 devront effectuer des examens complémentaires pour vérifier qu'ils ne développent pas de comorbidités (Coulomb et al. 2011).

De nos jours, plusieurs stratégies thérapeutiques sont utilisées contre le DT2, avec notamment l'utilisation de metformine qui est un insulino-sensibilisant, les sulfonylurées et les glinides qui agissent sur la sécrétion d'insuline puis les inhibiteurs DPP-4 (iDPP-4), les inhibiteurs du co-transporteur sodium/glucose de type 2 (iSGLT2) et les agonistes du récepteur GLP-1 (GLP-1RAs) qui permettent de préserver la fonction et potentiellement la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques.

#### 1. Action sur l'insulinorésistance : la metformine

La metformine est mise en première intention lorsque l'exercice physique et le régime alimentaire sont insuffisants pour rétablir l'équilibre glycémique et retarder ou prévenir l'apparition du diabète (Hostalek et al. 2015). Elle possède des effets bénéfiques sur la glycémie mais aussi sur certains lipides, sur des marqueurs de l'inflammation et sur les problèmes cardiovasculaires (Sanchez-Rangel et Inzucchi 2017). Cette molécule agit au niveau du foie et du muscle. La metformine serait un activateur de l'AMP kinase (AMPK) qui est connue pour être activée par l'augmentation du rapport AMP/ATP. La metformine stimule les voies cataboliques impliquées dans la synthèse d'ATP (oxydation des acides gras et glycolyse) et inhibe les voies anaboliques ou consommatrices d'ATP (synthèse protéique du cholestérol et des acides gras). Dans le muscle, la metformine permet d'augmenter la captation du glucose (Pernicova et Korbonits 2014). Dans le foie, elle augmente la sensibilité à l'insuline et diminue la néoglucogénèse, la glycogénolyse, la synthèse des triglycérides et la stéatose hépatique.

Cette molécule peut être utilisée seule ou bien en combinaison avec d'autres molécules (Sanchez-Rangel et Inzucchi 2017).

## 2. Action sur la sécrétion d'insuline et effets trophiques

### a) Les sulfamides hypoglycémiants

Il existe douze molécules différentes de Sulfonylurées réparties en deux groupes selon leur structure. Ces sulfamides hypoglycémiants sont pris par voie orale et peuvent être mis en première intention lorsque le régime alimentaire, l'exercice physique et la réduction pondérale seuls ne sont pas suffisants pour obtenir l'équilibre glycémique (Lv et al. 2020). Les sulfamides interagissent avec les canaux  $K_{ATP}$  entraînant leur fermeture et donc la dépolarisation membranaire. Ceci favorise l'ouverture des canaux calciques dépendant du voltage permettant l'augmentation du calcium intracellulaire qui stimule la sécrétion d'insuline des cellules  $\beta$  pancréatiques. Alors que certaines équipes pensent que l'utilisation des sulfonylurées pour le traitement du DT2 est nécessaire malgré les risques d'hypoglycémies avérées (Lv et al. 2020), d'autres pensent que ce traitement est inapproprié et son utilisation peut être dangereuse pour les patients atteints de DT2 qui sont généralement âgés (Sveceny et al. 2020).

### b) Les glinides

Tout comme les sulfamides hypoglycémiants, les glinides agissent sur la cellule  $\beta$  en fermant les canaux  $K_{ATP}$ . Comme leur temps d'efficacité est relativement court et engendre des hypoglycémies plus modérées que les sulfonylurées, ces médicaments sont prescrits pour des patients DT2 qui n'ont pas de repas réguliers et qui sont atteints de problèmes rénaux (Lv et al. 2020). Les glinides permettent une réduction des ROS dans les cellules du cœur, du poumon et du pancréas endocrine, ce qui favorise leur fonction et leur survie. Le Mitiglinide, un glinide de 3<sup>ème</sup> génération, stimule la sécrétion d'insuline et réduit la glycémie chez les patients DT2 de manière plus stable que le Repaglinide et le Nateglinide (Yu et al. 2019).

### c) Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4

Il existe trois classes d'inhibiteurs DPP-4 (iDPP-4) définies selon leur mode de liaison à la molécule DPP-4, qui regroupent au total six inhibiteurs utilisés en Europe et aux Etats-Unis :

- Vildagliptine et Saxagliptine qui sont des inhibiteurs compétitifs et réversibles

- Alogliptine et Linagliptine qui sont des inhibiteurs induisant une modification conformationnelle suite à leur liaison
- Sitagliptine et Teneeligliptine qui sont les plus puissants des inhibiteurs

Ces inhibiteurs semblent avoir une action rénoprotectrice, mais des études complémentaires doivent être faites pour l'affirmer (Mikov et al. 2020). Les effets bénéfiques avérés des iDPP-4 sont la réduction de la glycémie, des problèmes cardiaques et des cytokines inflammatoires du pancréas associés à une augmentation des taux de GLP-1 et d'insuline, avec peu d'effets secondaires (Alves et al. 2019). Les iDPP-4 ont peu d'effets sur le poids et possèdent une diminution de l'hémoglobine glyquée moins importante qu'avec des agonistes du récepteur du GLP-1. Pour exemple, la Sitagliptine permet d'inhiber plus de 80% de l'activité de la DPP-4. Cela permet une augmentation de deux fois des niveaux actifs du GLP-1, entraînant une stimulation de la sécrétion d'insuline avec un faible risque d'hypoglycémie en raison de leur mécanisme dépendant du glucose médié par l'action du GLP-1 (Zerilli et Pyon 2007 ; Gilbert et Pratley 2020).

D'un point de vue mécanistique, des études ont montré sur la lignée humaine EndoC- $\beta$ H1 et des îlots humains non diabétiques soumis à de l'inflammation, que l'inhibiteur DPP-4 (MK-0626) permet une récupération de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose et une diminution de l'apoptose, au moins en partie par la modulation du gène *Nfkb1*, surexprimé sous cytokines. Au-delà de ses actions sur l'amélioration de la fonction et de la survie des cellules  $\beta$ , l'iDPP-4 permet également d'améliorer l'ultrastructure des cellules  $\beta$  humaines issues de patients diabétiques de type 2 par une diminution de la densité volumique des mitochondries et du réticulum endoplasmique (Bugliani et al. 2018).

#### d) Les inhibiteurs du co-transporteur sodium-glucose de type 2

Il existe également trois classes d'inhibiteurs du co-transporteur sodium-glucose de type 2 (iSGLT2) utilisées pour le traitement du DT2 : la canagliflozine, la dapagliflozine et l'empagliflozine (Schernthaner et al. 2019). Les iSGLT2 possèdent de nombreux avantages. En plus de leurs effets sur le contrôle de la glycémie, sur la perte de poids (pour les patients obèses et diabétique) et sur la pression artérielle, ces molécules permettent de réduire les complications rénales et cardiovasculaires. Les iSGLT2 agissent en bloquant la réabsorption du glucose par le rein, induisant une glycosurie et se faisant réduisent la glycémie. Plusieurs effets



indésirables sont connus dont les principaux sont la déshydratation et les infections urinaires. D'autres études doivent être menées sur ces molécules relativement nouvelles (Lupsa et Inzucchi 2018).

e) Les agonistes du récepteur GLP-1

Il existe plusieurs analogues du récepteur GLP-1 (GLP-1RA) utilisés comme agents thérapeutiques contre le DT2 et sont quasiment tous administrés par voie sous-cutanée. Récemment, une étude de phase 1 a montré que le danuglipron, un GLP-1RA pris oralement, possède une efficacité comparable aux agonistes injectables avec une bonne tolérance de cette molécule par les patients DT2 (Saxena et al. 2021). Les GLP-1RAs ont un fort pourcentage d'homologie avec le GLP-1, ce qui permet d'avoir une action similaire à la molécule native tout en prolongeant sa demi-vie et donc la durée de ses effets, puisque ces molécules sont résistantes à la dégradation par l'enzyme DPP-4. L'ensemble des GLP-1RAs permettent un bon contrôle glycémique associée à une perte de poids (plus ou moins importante selon les molécules) sans engendrer d'hypoglycémies. Les effets secondaires majoritaires de ces médicaments ont un impact gastro-intestinal puisqu'ils peuvent entraîner nausées, vomissement et diarrhées (Diamant et al. 2014). Certains agonistes ont une action de courte durée (exénatide et lixisénatide), d'autres une durée d'action prolongée (liraglutide, sémaglutide, dulaglutide et une forme d'exénatide) qui ont pour avantage de diminuer le nombre d'injections chez les patients mais pas uniquement. En effet, une revue récente, qui recense et compare les GLP-1RAs à courte durée et à durée prolongée, montre que les GLP-1RAs à durée prolongée ont également une amélioration des profils de tolérance gastro-intestinale et des fluctuations des concentrations plasmatiques du médicaments plus faibles, ce qui pourrait jouer sur la persistance du traitement (Gentilella et al. 2019). Enfin, parmi les GLP-1RAs à durée prolongée, des comparaisons entre le sémaglutide, le dulaglutide et l'exénatide, montrent un effet plus important du sémaglutide sur le poids et sur la réduction de l'hémoglobine glyquée par rapport aux deux autres molécules (Ahmann et al. 2018).

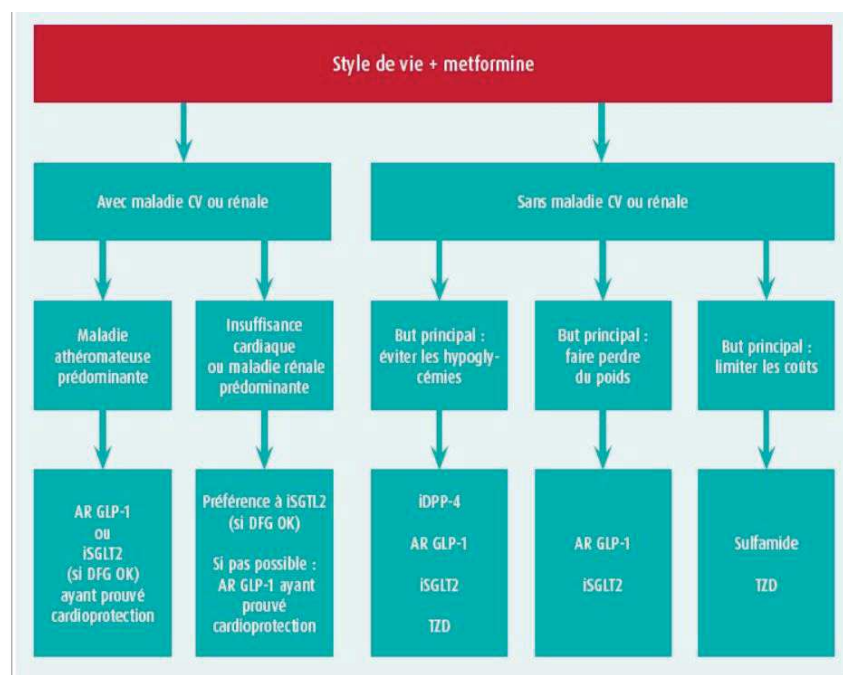
Dans les cellules  $\beta$  pancréatiques issues d'îlots de souris, les GLP-1RAs agissent également sur le RE, les mitochondries et l'ADN, ce qui permettrait une augmentation de la fonction et la survie de ces cellules. En effet, les GLP-1RAs pourraient permettre une augmentation des pompes SERCA du RE pour maintenir sa stabilité et réduire la libération du calcium. De plus, l'expression d'une série de gènes pro-apoptotique tels que XBP1, SOD2 et

catalase est réduite dans les mitochondries. Enfin, les GLP-1RAs favorisent la néogenèse, la prolifération et la différenciation via la voie des MAPKs et de la PI3K permettant une meilleure survie des cellules  $\beta$  (Yu et al. 2019). Dans un modèle *in vivo* de souris *db/db*, il a été montré qu'après deux semaines de traitement au liraglutide, malgré l'absence d'effets sur la glycémie, les îlots pancréatiques possèdent une amélioration architecturale ainsi qu'une réduction de l'apoptose. Les expérimentations *in vitro* associées à cette étude montrent que l'action du liraglutide passe par la signalisation d'Akt dépendante de la PI3K, amenant à une inhibition de Bad et FoxO1, tous deux impliqués dans les mécanismes d'apoptose (Kapodistria et al. 2017).

### 3. Combinaisons thérapeutiques

#### a) Accumulation de molécules

L'ensemble de ces molécules précédemment citées (**Figure 22**) sont complémentaires et sont ajoutées au fur et à mesure du développement du DT2 lorsque les premières molécules ne suffisent plus. La combinaison d'un iDPP-4 avec un GLP-1RA pour traiter des patients DT2 est toutefois discutée. Alors que certaines équipes montrent que cette combinaison n'a pas d'effets sur la glycémie après un repas suite à 12 semaines de traitement aux GLP-1RAs avec une unique dose d'iDPP-4, ils suggèrent que des essais cliniques à plus long terme sont nécessaires pour conclure sur cette stratégie (Zerilli et Pyon 2007). D'autres équipes montrent que cette combinaison améliore le contrôle glycémique en utilisant cette combinaison sur 20 semaines (Gilbert et Pratley 2020).



**Figure 22 :** Pharmacothérapie du DT2. Tiré de Scheen. 2018.

Même si l'on peut retarder le développement du DT2, les traitements actuels ne sont pas complètement efficaces, c'est pourquoi il est important d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques permettant d'améliorer les effets des traitements actuels contre le DT2.

#### *b) Les multiagonistes*

De plus en plus d'études, se concentrent sur l'utilisation de multiagonistes comme solution thérapeutique contre le DT2. Plusieurs essais cliniques ont montré que certains double agonistes n'ont pas d'effets indésirables sur les sujets sains et permettent donc la poursuite de l'étude de ces molécules sur des patients atteints de DT2 (Portron et al. 2017 ; Ambery et al. 2018). MEDI0382, un double agoniste des récepteurs du GLP-1 et du glucagon a déjà fait ses preuves dans des essais cliniques en phase 2, montrant une réduction de la glycémie associée à une perte de poids chez les personnes obèses et diabétiques (Ambery et al. 2018). Le Tirzépate (LY3298176), un double agoniste des récepteurs du GIP et du GLP-1, possède également ces effets et montre même des effets bénéfiques plus importants sur ses paramètres que le dulaglutide, actuellement utilisé en thérapeutique (Frias et al. 2018). Enfin, des études *in vivo* sont menées sur des souris afin de déterminer les effets de triagonistes tels que le peptide hybride combinant Exendine-4/Gastrine/Xénine-8-Gln et montrent une amélioration de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline chez des souris ayant été nourri à un régime gras (Hasib et al. 2019). Les multiagonistes, qu'ils soient double agonistes ou triagonistes, semblent être une thérapie future pour le traitement de DT2 en raison de leurs effets plus importants que ceux des agonistes du récepteur GLP-1.

## CHAPITRE 3 : Inhibition de TPL2 : une nouvelle piste thérapeutique

L'implication des MAPKs dans la pathologie du diabète n'est plus à démontrer. Les MAPKs largement détaillées en physiologie et en physiopathologie semblent être un sujet d'étude pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Depuis plusieurs années, la MAP3K8 TPL2 est étudiée et plus particulièrement dans le cadre de l'inflammation, des cancers et des maladies métaboliques.

### I. Généralités et description de TPL2

La MAP3K8 (Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8) aussi appelée TPL2 (Tumor progression locus 2) ou COT (Cancer osaka thyroïde) est un oncogène situé sur le chromosome 10. C'est une protéine cytoplasmique qui possède 2 isoformes : une forme longue à 58kDa (TPL2<sub>L</sub>) et une forme courte à 52kDa (TPL2<sub>S</sub>) en raison de ses 2 sites alternatifs d'initiation de la traduction en Méthionine 1 et 30. TPL2<sub>L</sub> a une demi-vie plus courte que TPL2<sub>S</sub>, avec 10 min pour TPL2<sub>L</sub> et 30 min pour TPL2<sub>S</sub> (Aoki et al. 1993).

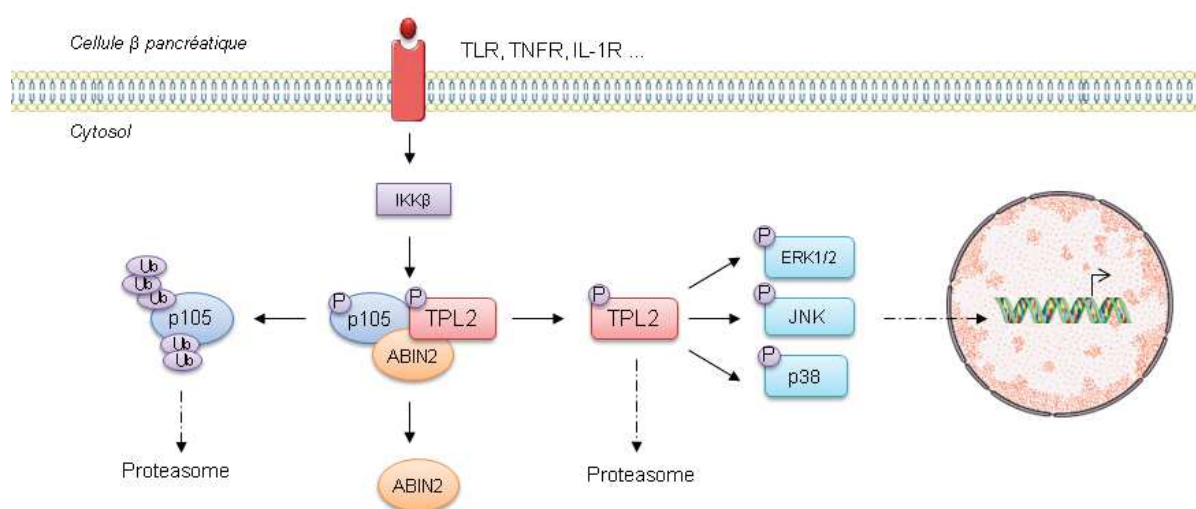
La structure de cette protéine est composée de plusieurs domaines :

- Un domaine C-terminal qui permet la régulation de l'activité catalytique en p-Thr290 mais aussi la stabilité de la protéine (Gandara et al. 2003).
- Un domaine à activité kinase qui permet l'interaction avec l'ATP nécessaire pour la phosphorylation des substrats de TPL2.
- Un domaine Degron permettant sa liaison avec le protéasome 20S qui entraîne sa dégradation (Aoki et al. 1993).

TPL2 est exprimée de manière hétérogène dans de nombreux tissus (cerveau, glandes submandibulaires, cœur, poumon, foie, tractus digestif, thymus, rein, muscles squelettiques et ovaires) (Ohara et al. 1993) et types cellulaires tels que les fibroblastes, les macrophages, les adipocytes, neutrophiles, cellules dendritiques et les cellules  $\beta$  pancréatiques (Xu et al. 2018).

## II. Mécanisme d'activation de TPL2

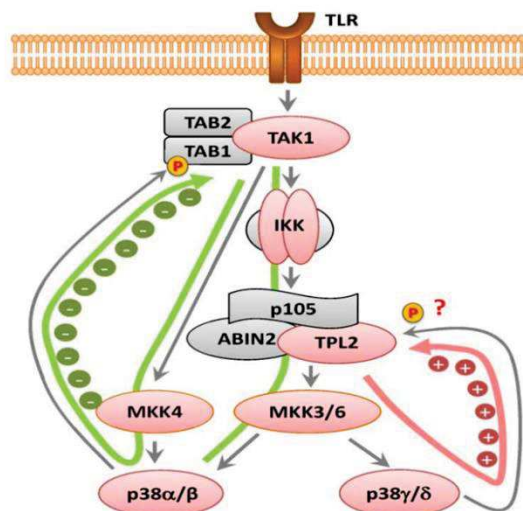
TPL2 est stable lorsque cette protéine est complexée avec les protéines p105 et ABIN2 (A20-Binding Inhibitor of NF $\kappa$ B2) et est cependant inactive sous cette forme (Babu et al. 2006a). p105 est une protéine inhibitrice de NF $\kappa$ B qui bloque l'accès de TPL2 à son substrat en liant son domaine de mort à celui portant l'activité kinase de TPL2 (Xu et al. 2018). ABIN2 est la protéine de liaison à l'ubiquitine, son expression génique est régulée par l'activité kinase de TPL2 (Njunge et al. 2020). Suite à une stimulation, le complexe IKK $\beta$  phosphoryle la protéine p105 permettant son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome. TPL2 libérée et activée, peut engendrer les cascades de signalisation situées en aval (Gantke et al. 2011) (**Figure 23**). TPL2 nécessite une phosphorylation pour être activée et c'est en Thr-290, au niveau du domaine kinase, que cette phosphorylation est importante (Luciano et al. 2004). Certains sites de phosphorylations de TPL2 tels que Thr-80, Ser-125 et Ser-141 ne sont pas essentiels pour l'activité de la protéine TPL2 et leur fonction exacte est encore inconnue (Xu et al. 2018). Cependant, pour que l'activité de TPL2 soit maximale, une autophosphorylation en Ser-62 est nécessaire (Stafford et al. 2006).



**Figure 23** : Mécanisme d'activation de TPL2. Le complexe TPL2-p105-ABIN2 est désolidarisé par phosphorylation de ces composants suite à une activation des récepteurs de type TLR, TNFR ou IL-1R. La phosphorylation de TPL2 entraîne son activation et permet l'engagement de diverses voies de signalisation.

L'activation de TPL2 par des lipopolysaccharides (LPS), des RCPGs ou des cytokines tels que Il1- $\beta$  ou TNF- $\alpha$ , entraîne la phosphorylation de MAP2Ks qui elles-mêmes phosphorylent des MAPKs tels que ERK1/2, p38 ou JNK qui sont des protéines impliquées dans le contrôle de la

survie et de la mort cellulaire (Xu et al. 2018). Le déclenchement de l'une de ses voies de signalisation dépend du stimulus par lequel TPL2 est activée, de son site de phosphorylation et de la chronicité de l'exposition (Das et al. 2005 ; Roget et al. 2012). Alors que certaines équipes pensent que lors d'une stimulation par des LPS, IKK-2 phosphoryle p105 permettant la libération et la phosphorylation de TPL2 en Ser-400 en C-terminal, entraînant alors la voie de signalisation activant ERK1/2 (Roget et al. 2012), d'autres stipulent qu'IKK ne contribue pas à la phosphorylation de p105 puisque l'utilisation d'un inhibiteur n'affecte pas l'activité spécifique de la kinase. Cependant ces équipes suggèrent que p105 agit comme un inhibiteur compétitif de TPL2 empêchant TPL2 de phosphoryler MEK1 (Babu et al. 2006). Dans le cas d'une exposition chronique à un environnement stressant, TPL2 est surexprimée et engendre l'activation de JNK et p38 amenant à un processus inflammatoire et/ou apoptotique. La relation entre TPL2 et p38 semble plus complexe qu'une simple activation. En effet, l'étude de l'inflammation passant par TPL2 semble indiquer au moins deux rétrocontrôles des isoformes de p38 sur la signalisation de TPL2. Avec un rétrocontrôle positif de p38 $\alpha/\beta$  sur la phosphorylation de TAB1/2 qui, complexé à TAK1, permet l'activation d'IKK et donc la séparation du complexe TPL2-p105-ABIN2. Puis un rétrocontrôle négatif directement de p38 $\gamma/\delta$  sur TPL2 (**Figure 24**) (Menon et Gaestel et al. 2016).



**Figure 24** : Boucle de régulation de l'expression de TPL2 par p38. Tiré de Menon et Gaestel. 2016.

Récemment, TPL2 a été décrite comme étant une protéine navette nucléocytoplasmique. Sa dégradation est principalement nucléaire et est stabilisée par BCL-3 (protéine IK $\beta$  nucléaire régulant également NF $\kappa$ B) qui favorise sa localisation dans le noyau et donc sa dégradation (Collins et al. 2019).

### III. Rôles de la protéine TPL2

Les voies de signalisation de TPL2 sont largement étudiées dans plusieurs pathologies telles que les cancers et les maladies inflammatoires. Certains inhibiteurs sont prometteurs quant à leur utilisation pour traiter des maladies associées à une dérégulation de la signalisation de l'inflammation et de l'inflammation chronique (Zarrin et al. 2021).

#### 1. Dans les cancers

Il a été montré dans différentes études que la MAP3K8 TPL2 est surexprimée dans de nombreux cancers, cependant l'implication de TPL2 dans la tumorigénèse semble être controversée (Khanal et al. 2009 ; Virla et al. 2016 ; Njunge et al. 2020).

D'une part, une revue récente répertorie plusieurs études menées sur différents cancers (cancer de la prostate, des ovaires, du sein, de la peau et de l'intestin) dans lesquelles TPL2 a pu être étudiée en précisant les modèles utilisés et les mécanismes potentiels par lesquels TPL2 serait impliquée (Webb et al. 2019). Dans l'adénocarcinome canalaire pancréatique, les études *in vivo* et *ex vivo* montrent qu'il existe des mutations ponctuelles de TPL2 qui empêchent sa dégradation et entraînent une hyperactivation des cascades MAPKs et NFκB. Ceci suggère l'implication de cette signalisation dans la pathogenèse de ce cancer (Dodhiawala et al. 2020). De plus, il a été mis en évidence la capacité de liaison de TPL2 au niveau du C-ter avec le site DD de p53 qui est un suppresseur de tumeur. Cette interaction entraîne une diminution de l'activité anti-tumorale de p53, ce qui plaide en faveur d'une délétion de TPL2 comme stratégie contre les cancers (Khanal et al. 2009 ; Njunge et al. 2020).

D'autre part, il a été mis en évidence l'implication de la signalisation p105-TPL2 dans l'homéostasie pulmonaire en indiquant le rôle de la voie NFκB1 dépendante de TPL2 dans la suppression des tumeurs pulmonaires (Sun et al. 2016). Une étude effectuée sur 18 mois montre également que TPL2 n'est pas responsable de la tumorigénèse puisqu'il n'y a pas d'augmentation de ce facteur au cours du vieillissement chez des souris KO pour ce gène (Wu et al. 2021).

Finalement, en fonction du type de cancer, la tumorigénèse peut dépendre de la surexpression ou de la sous expression du gène *Tpl2*. Alors que dans le cancer du sein, TPL2 est surexprimée de 40% avec une altération du métabolisme des adipocytes entourant la tumeur

(Wu et al. 2019), dans un modèle de souris possédant un cancer de la peau induite chimiquement, il a été montré que l'absence de *Tpl2* augmente le développement et la progression des tumeurs malignes. *In vitro*, l'absence de *Tpl2* dans les myofibroblastes intestinaux entraîne une augmentation du nombre et de la taille des cancers du côlon (Lee et al. 2015). Pour être plus précis sur les mécanismes et rôles de TPL2, cette protéine agit sur des acteurs clés du cycle cellulaire (Cycline D1, p53, p51) et de la dynamique d'adhésion (Akt, eNOS, ATF-2) permettant le contrôle de la prolifération et de la migration cellulaire. Ces rôles ont été rapportés par différentes équipes travaillant notamment sur les carcinomes ovariens (Gruosso et al. 2015) et les cellules endothéliales composant la moelle épinière (Fearnley et al. 2020). TPL2 peut également jouer directement sur histone H3 en la phosphorylant en Ser-10, cette action est requise pour la transformation cellulaire induite par TPL2 puisqu'elle permet la condensation et le remodelage de la chromatine et la mitose cellulaire. Une exposition aux UV entraîne une activation de TPL2 qui est transloquée dans le noyau, puis recrutée par l'histone H3 associée au promoteur c-Fos permettant l'augmentation d'AP-1, facteur de transcription impliqué dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules (Choi et al. 2008). TPL2 est désignée comme une molécule clé reliant tumorigenèse, immunité tumorale et inflammation, puisque sa signalisation dans l'inflammation favorise le développement des tumeurs (Njunge et al. 2020).

## 2. Dans l'inflammation

L'utilisation de modèle de souris KO pour *Tpl2* a permis à de nombreuses équipes de montrer l'implication de TPL2 dans l'inflammation. TPL2 régule et amplifie l'expression de plusieurs cytokines inflammatoires (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 et IL-8) (Vougioukalaki et al. 2011). Il a été expliqué auparavant que ABIN2 régule le facteur NF $\kappa$ B impliqué dans la production de cytokines et donc de l'inflammation. Récemment, il a été mis en évidence par l'utilisation de souris KO pour *Tpl2*, la régulation d'ABIN2 par TPL2 puisque son absence entraîne une diminution d'ABIN2 et par conséquent une augmentation de l'inflammation (Webb et al. 2019). Au-delà de cette voie, TPL2 régule la différenciation de Th1 (Lymphocyte T) *in vivo*, connu pour produire l'IFN- $\gamma$ . L'inhibition de TPL2 permet de lutter contre l'inflammation induite par Th1 en réduisant la sécrétion de cytokines inflammatoires (Acuff et al. 2015). TPL2 joue également sur d'autres cellules de l'immunité innée, notamment les cellules Th2 et Th17 qui sécrètent toutes deux, plusieurs formes d'interleukines, faisant de TPL2 un régulateur de cytokines pro-inflammatoires



(Yan et al. 2019). Chez des personnes obèses (IMC > 30), il a été montré une expression accrue d'ARNm de *Tpl2* dans le tissu adipeux corrélée avec ceux de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6 et IL-8), il n'a cependant pas été trouvé d'association avec le taux plasmatique de l'insuline ou du glucose. Les données de cette étude mettent en évidence l'implication de TPL2 dans l'inflammation du tissu adipeux sans avoir d'effets systémiques sur la résistance à l'insuline (Ballak et al. 2014). Dans les macrophages, TPL2 est indispensable pour l'expression d'ARNm et de protéines d'IL-1 $\beta$  et IL-10 par une stimulation aux LPS (Virla et al. 2016).

Toujours dans la controverse, il a été montré dans les macrophages, qu'une stimulation de TPL2 par le récepteur du TNF $\alpha$  permet l'activation de p38 et l'absence de TPL2 entraîne une production de médiateurs de l'inflammation qui dysfonctionnent. Dans les neutrophiles, cette même cascade est retrouvée et l'absence de TPL2 entraîne l'inhibition de la sécrétion de cytokines et chimiokines. Un des rôles de TPL2 est de faciliter la migration des neutrophiles dans les sites d'inflammation. Une souris KO pour *Tpl2* est plus sensible aux infections (virales et bactériennes) que les souris sauvages (Xu et al. 2018) et celles soumises à une inflammation pulmonaire et pancréatique voient une diminution de l'infiltration des cellules inflammatoires sans autre effet sur l'œdème pancréatique et la nécrose des acini (Van Acker et al. 2007).

Certaines équipes sont sceptiques quant à l'utilisation d'inhibiteur de TPL2 puisque dans certains modèles, la déficience de TPL2 entraîne une amplification des réponses inflammatoires (Vougioukalaki et al. 2011). Il a également été montré que son ablation *in vivo* et son inhibition *in vitro* entraîne une diminution de la neutrophilie associée à une diminution d'acteurs clés du cycle cellulaire, qui sont nécessaires au cours d'une infection systémique potentiellement mortelle (Sanchez et al. 2017).

### 3. Dans les maladies métaboliques

Inflammation et maladies métaboliques étant liés, plusieurs équipes s'intéressent aux effets de la délétion de TPL2 dans ces pathologies (obésité et diabète). Ici encore, les résultats sont controversés. Alors que certaines équipes montrent que l'absence de TPL2 ne protège pas des maladies métaboliques telle que l'obésité (Lancaster et al. 2012 ; Ballak et al. 2014), d'autres affirment le contraire.

En effet, il a été montré que des souris KO pour *Tpl2* et obèses induites par un régime gras possèdent un phénotype métabolique protégé, issu de l'atténuation du tissu adipeux. Cela est dû à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, l'augmentation de la suppression du glucose

hépatique et la diminution de l'inflammation et de l'infiltration des cellules inflammatoires (Perfield et al. 2011). Dans le tissu adipeux de souris et patients obèses, il est observé une augmentation de l'expression de l'ARNm de *Tpl2* corrélée à celle du TNF. TPL2 favorise l'inflammation par l'activation de ERK1/2 induite par des cytokines et par la détérioration de la signalisation de l'insuline dans les adipocytes. Ces résultats mettent en évidence l'implication de TPL2 dans l'insulinorésistance (Ceppo et al. 2014 ; Jager et al. 2010).

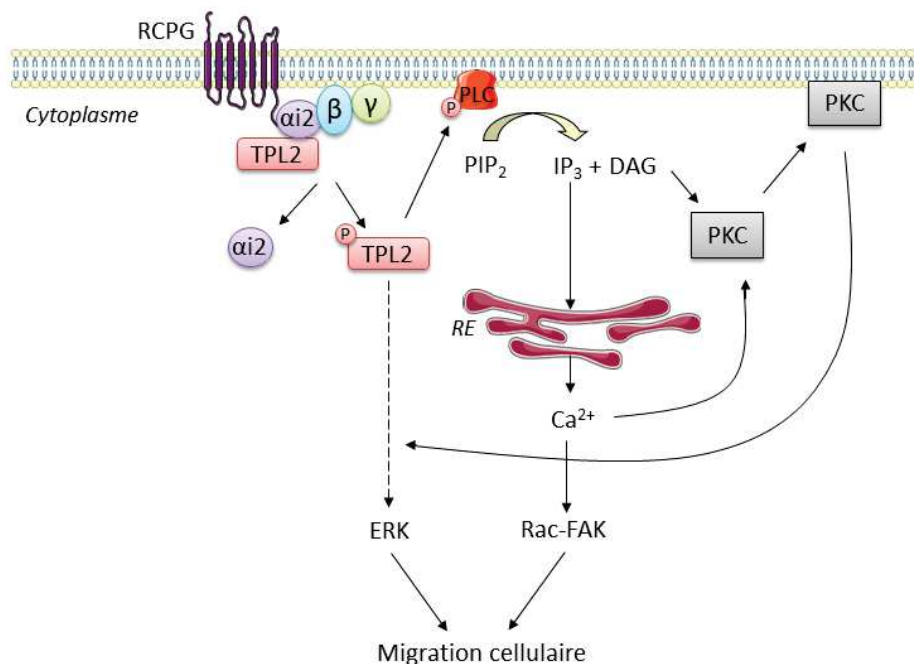
Dans la stéatose hépatique non alcoolique, il a été montré chez l'Homme, le singe et la souris, l'augmentation de l'expression de TPL2 dans les hépatocytes. Dans un modèle de souris KO pour *Tpl2* spécifiquement dans les hépatocytes, il est observé une amélioration du déséquilibre lipides-glucose, une sensibilité à l'insuline préservée et une atténuation de l'inflammation en réponse à une alimentation riche. Les résultats inverses ont été démontrés si TPL2 est surexprimée dans les hépatocytes. Ces résultats révèlent TPL2 comme un médiateur favorisant les troubles métaboliques hépatiques, en passant par l'activation de la voie MKK7-JNK (Gong et al. 2019). Une étude sur le rôle de TPL2 dans le vieillissement souligne l'impact du sexe dans le métabolisme des lipides hépatiques puisque les souris mâles invalidées pour *Tpl2* ont plus de risques de développer une stéatose hépatique que les souris femelles KO pour ce gène (Wu et al. 2021).

Dans le cadre du diabète, il a été montré une augmentation de l'activité de TPL2 chez des modèles animaux murins DT1 et DT2 (Varin et al. 2016 ; Sheu et al. 2020). L'inhibition de TPL2 bloque la voie de l'inflammasome dans les cellules épithéliales pigmentaires de la rétine et permet l'atténuation de sécrétions cytokiniques chez des rats diabétiques induites par la streptozotocine, ces résultats suggèrent l'implication de TPL2 dans la rétinopathie diabétique (Sheu et al. 2020). Les souris KO pour *Tpl2* possèdent une diminution de l'inflammation pancréatique mais n'ont cependant pas d'effets sur la nécrose pancréatique (Van Acker et al. 2007). Il a été observé une augmentation de l'expression de TPL2 dans des cellules  $\beta$  INS-1E et dans des îlots pancréatiques humains et murins soumis à un mix de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$ ) associée à une augmentation de marqueurs de mort tels que la caspase 3 clivée, PARP clivée et JNK1/2. L'utilisation d'un inhibiteur pharmacologique de TPL2 réduit l'apoptose par la diminution de l'expression des protéines précédemment citées. L'inhibition de TPL2 permet également d'améliorer la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques soumises à un stress inflammatoire et est d'autant plus efficace lorsqu'elle est combinée avec un GLP-1RA (Varin et al. 2016).

Ces études démontrent l'importance de la régulation de l'expression TPL2 que ce soit au niveau du pancréas ou dans les tissus cibles de l'insuline et pour la majorité des études, sont en faveur de l'inhibition de TPL2 comme nouvelle stratégie thérapeutique pour les maladies inflammatoires et métaboliques.

#### 4. Autres rôles de TPL2

Pour exemple, il a été montré en physiologie, que TPL2 joue un rôle dans la réorganisation du cytosquelette, dans la migration cellulaire et dans l'augmentation du calcium cytosolique via les signalisations de Rac et FAK (Figure 25).



**Figure 25 :** TPL2 et récepteurs couplés aux protéines G. Adapté de Hatziapostolou et al. 2011.

Cette action passe par la stimulation de TPL2 induite par des signaux issus de PAR1 (RCPG) couplé à Gαi2. De plus, il a été mis en évidence, la nécessité de TPL2 pour l'activation des PKC stimulée par les RCPGs entraînant une production d'IP3 et une libération de calcium depuis le RE. TPL2 a la capacité de phosphoryler directement PLCβ3 en Ser-537, qui est responsable de l'hydrolyse de PIP<sub>2</sub> en IP<sub>3</sub> (Hatziapostolou et al. 2011).

## IV. Invalidation et inactivation de TPL2

La **table 3** récapitule les études *in vivo* menées sur les effets de l'absence de TPL2 dans différentes pathogénèses. Différentes souches de rongeurs (souris, rat) et des chiens ont été utilisés pour l'étude de TPL2. Même si la grande majorité des études ont été menées sur les souris C57Bl/6, l'absence de TPL2 n'a pas les mêmes effets sur l'organisme. Cela peut dépendre de la manière dont l'absence est générée (invalidation ou inhibition) mais également le nombre d'injections (pour les inhibiteurs), temps d'étude et surtout de la pathologie ou du syndrome étudié.

Pathologies	Modèles/Souches	Absence de TPL2	Effets de l'absence de TPL2	Références
Angiogenèse	Souris BALB/c	Inhibition	Protection contre le développement des tumeurs	Lee et al. 2013
Arthrite	Souris C57Bl/6N	Inhibition	Protection contre les cytokines inflammatoires	Senger et al. 2017
Cancer de la peau	Souris C57Bl/6	Invalidation	Augmentation de l'inflammation et de l'infiltration des neutrophiles	Decicco-Skinner et al. 2011
Cancer intestinal	Souris C57Bl/6	Invalidation	Augmentation de l'inflammation et diminution des cellules T régulatrices	Serebrennikova et al. 2012
Cancer du poumon	Souris C57Bl/6	Invalidation	Augmentation du développement des tumeurs	Sun et al. 2016
Cancer de la prostate	Souris	Inhibition	Protection contre le développement des tumeurs	Lee et al. 2015
Diabète	Souris C57Bl/6	Invalidation	Diminution des cytokines pro-inflammatoires et réduction de l'apoptose dans les adipocytes, amélioration de l'insulinorésistance	Perfield II et al. 2011
Infection bactérienne	Souris	Invalidation	Augmentation de cytokines pro-inflammatoires	Watford et al. 2008
Ischémie reperfusion	Souris C57Bl/6J	Invalidation	Diminution des effets délétères de l'ischémie reperfusion	Yaomura et al. 2008
Maladie de Crohn	Souris C57Bl/6J	Invalidation	Diminution de l'inflammation	Kontoyiannis et al. 2002
Maladie de Crohn	Souris C57Bl/6	Inhibition	Diminution de l'inflammation	Lawrenz et al. 2012
Maladie inflammatoire	Chien Beagle	Inhibition	Diminution de l'inflammation	Glatthar et al. 2016
Maladie inflammatoire	Rat Sprague-Dawley	Inhibition	Diminution de l'inflammation	Glatthar et al. 2016
Obésité	Souris C57Bl/6	Invalidation	Diminution de l'inflammation, pas d'effet sur l'insulinorésistance	Ballack et al. 2014
Obésité	Souris C57Bl/6	Invalidation	Pas d'effet sur l'inflammation et la résistance à l'insuline	Lancaster et al. 2012
Obésité	Souris C57Bl/6	Invalidation	Amélioration du dysfonctionnement métabolique	Perfield II et al. 2011
Pancréatite	Souris C57Bl/6	Invalidation	Protection partielle contre l'inflammation	Van Acker et al. 2007
Rétinopathie diabétique	Souris C57Bl/6	Invalidation	Diminution de l'inflammation pancréatique	Lai et al. 2017
Stéatose hépatique non alcoolique	Souris	Invalidation	Protection contre l'inflammation et amélioration de la sensibilité à l'insuline	Gong et al. 2019

**Table 3 :** Synthèse des études *in vivo* montrant les effets de l'absence de TPL2 dans différents modèles.

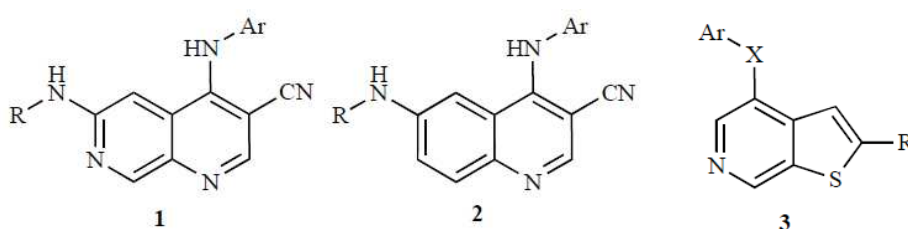
## 1. Invalidation de TPL2

L'invalidation de gène est couramment utilisée en recherche pour déterminer les effets d'une molécule. En effet, son absence qu'elle soit totale ou spécifique d'un type cellulaire permet, en comparaison avec un modèle sauvage, de comprendre les mécanismes physiopathologiques. Pour déterminer le rôle de TPL2 dans les cancers, l'inflammation ou les maladies métaboliques, cette méthode a été utilisée. Concernant l'invalidation de TPL2 par l'utilisation de souris KO *Tpl2*, les résultats sont controversés (Dumitru et al. 2000 ; Perfield et al. 2011 ; Ballak et al. 2014 ; Lancaster et al. 2012).

De plus, malgré l'apport de connaissances par les études d'invalidation de gène, il est possible d'imaginer un système de compensation de l'organisme face à l'absence de la molécule identifiée permettant de rendre inefficace l'invalidation et qui expliquerait ces résultats contradictoires. Pour des études de recherche translationnelle visant à découvrir et tester de nouvelles stratégies thérapeutiques, l'inhibition de la molécule d'intérêt est la méthode la plus vraisemblable.

## 2. Inactivation de TPL2

Une équipe s'est penchée sur l'étude d'inhibiteurs pharmacologiques de TPL2 de chez Abbott en testant leur efficacité en fonction de leur mode de liaison, leur spécificité et leur puissance (George et al. 2008). La revue de George et Salmeron détaille les trois principaux inhibiteurs de TPL2 (George et Salmeron 2009) (**Figure 26**).



**Figure 26 :** Inhibiteurs de TPL2. 1 : 1-7-naphthyridine-3-carbonitriles, 2 : Quinoléine-3-carbonitriles, 3 : Thieno[2-3-c]pyridines. Tiré de George et Salmeron, 2009.

A partir de ces trois types d'inhibiteurs de TPL2, un grand nombre d'inhibiteurs de TPL2 a été produit en possédant une base commune et ayant des effets plus ou moins performants. L'ensemble des inhibiteurs de TPL2 existants montrent des effets anti-inflammatoires, anti-apoptotiques et sembleraient être une piste contre certaines maladies : arthrite rhumatoïde, purpura thrombocytopénique idiopathique, lésions pulmonaires, cancers, diabète... (Virla et

al. 2016). Cependant à ce jour, aucun inhibiteur de TPL2 développé n'a été commercialisé, nécessitant donc des études complémentaires (Yan et al. 2019).

a) 1-7-naphthyridine-3-carbonitriles

Cet inhibiteur a été testé *in vitro* et *in vivo*. C'est un inhibiteur qui est compétitif au niveau de la poche à ATP et sa liaison à TPL2 est réversible. Des études SAR (relation, structure, activité) ont été menées permettant d'étudier la longueur, l'hybridation et la stéréochimie de la molécule afin d'obtenir la molécule la plus performante (Gavrin et al. 2005 ; Glatthar et al. 2016). L'efficacité de cet inhibiteur contre l'inflammation a été montrée dans plusieurs études (Jager et al. 2010 ; Varin et al. 2016 ; Virla et al. 2016). La spécificité de cet inhibiteur passe par la boucle de liaison à l'ATP qui présente une structure très particulière et permet l'inhibition spécifique de TPL2 jusqu'à des concentrations de 50 nM (d'après l'EC50 du fournisseur CalbioChem).

b) Quinoléine-3-carbonitriles

Cet inhibiteur possède des effets comparables à l'inhibiteur 1-7-naphthyridine-3-carbonitriles. Cependant, l'avantage ici serait qu'un traitement par voie orale serait possible pour les patients puisque cet inhibiteur possède un groupe amine basique qui permet d'améliorer les propriétés physico-chimiques et la puissance de l'inhibiteur dans le sang humain (Wu et al. 2009). L'étude *in vivo* de cet inhibiteur sur des souris montre son efficacité sur la réduction de la production de TNF $\alpha$  (Hu et al. 2006). Des études SAR ont également été menées sur cet inhibiteur (Gavrin et al. 2005).

c) Thieno[2-3-c]pyridines

Cet inhibiteur possède une bonne sélectivité dû à ses deux modes de liaisons (groupement acide et groupement aryloxy) (Gutmann et al. 2015). Cependant, il n'existe actuellement aucune donnée *in vivo* dans la littérature. Les tests *in vitro* indiquent que cet inhibiteur bloque l'inflammation des cellules humaines mais semble être moins puissant que les autres inhibiteurs de TPL2 existants (Hall et al. 2007).



## PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

---

Résistance à l'insuline des tissus cibles et destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques sont responsables de l'hyperglycémie chronique qui entraîne de nombreuses complications et comorbidités pouvant mener à la mort de l'individu diabétique de type 2. Pour limiter ces complications, il est indispensable de maintenir une masse fonctionnelle  $\beta$  cellulaire qui sécrète l'insuline. L'hyperglycémie détériore la fonction et la survie des cellules  $\beta$ . Ce projet de thèse vise à définir une stratégie pharmacologique permettant de préserver la fonction et la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques soumises à une hyperglycémie chronique délétère.

La MAP3K8 TPL2 a été identifiée par notre laboratoire comme étant une protéine kinase impliquée dans la mort et la dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques sous cytokines pro-inflammatoires et que son inhibition permettait d'améliorer la survie de ces cellules dans ces conditions. L'inhibition pharmacologique de TPL2 mais pas la délétion de son gène, a empêché partiellement le développement de la dysfonction et de la mort des cellules  $\beta$  sous cytokines (Varin et al. 2016), nous conduisant à davantage étudier l'inhibition de TPL2. Alors que ces résultats ont montré leurs effets dans le contexte du DT1, il reste à étudier s'il est approprié de l'inhiber pharmacologiquement dans le contexte du DT2. L'hypothèse émise est que l'hyperglycémie retrouvée dans le cadre du diabète entraîne une perte d'efficacité des GLP-1RAs causée par cet environnement néfaste. L'objectif est donc de bloquer les effets délétères de l'environnement diabétogène des cellules  $\beta$  pancréatiques en ciblant la MAP3K8 afin de préserver la survie et la fonction de ces cellules et d'améliorer la réponse des cellules  $\beta$  aux GLP-1RAs. La combinaison d'un inhibiteur de TPL2 et d'un GLP-1RA pourrait-elle permettre une meilleure protection des cellules  $\beta$  pancréatiques contre l'hyperglycémie chronique ?



L'objectif de mon projet a donc été d'étudier les effets d'une combinaison thérapeutique innovante, composée d'un inhibiteur de TPL2 avec un GLP-1RA, sur la survie et la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques dans un environnement diabétogène. Pour cela, deux grands objectifs ont été définis :

1. Etudier les effets de l'inhibition de la MAP3K TPL2 sur la survie et la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques sous hyperglycémie chronique.

Il a été question de déterminer quels sont les mécanismes moléculaires par lesquels un inhibiteur de TPL2 protège les cellules  $\beta$  de la glucotoxicité.

2. Etudier les effets d'une combinaison thérapeutique prometteuse comprenant un inhibiteur de TPL2 et un GLP-1RA sur la survie et la fonction des cellules  $\beta$  soumises à de l'hyperglycémie chronique.

Il s'agissait ici, d'étudier si l'inhibition de TPL2 permettait d'améliorer les effets des GLP-1RAs en condition physiologique et physiopathologique sous hyperglycémie chronique et d'évaluer l'efficacité de la protection de la combinaison des deux molécules sur l'apoptose induite par glucotoxicité.

## RESULTATS

---

L'hyperglycémie chronique joue un rôle important dans la dysfonction et la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques. La MAP3K8 TPL2 est surexprimée suite à une exposition des cellules  $\beta$  aux cytokines pro-inflammatoires, responsables de la mort et de la dysfonction de ces cellules.

Dans ce projet, nous avons tout d'abord montré qu'un nutriment à forte concentration tel que le glucose, pouvait-être lui aussi responsable de l'augmentation de l'expression de TPL2 *in vitro* dans une lignée  $\beta$  cellulaire INS-1E et *ex vivo* dans des îlots pancréatiques de rongeurs (souris *db/db* et rat GK). Nous avons ensuite évalué les conséquences de cette augmentation sur la fonction et la survie des cellules par mesure de la sécrétion d'insuline (HTRF) et de l'expression de protéines connues pour être impliquées dans la mort cellulaire (Western blot). L'administration de l'inhibiteur de TPL2 à des souris *db/db* entraîne une réduction de la progression du diabète avec une amélioration des paramètres métaboliques. L'utilisation d'un inhibiteur de TPL2 *in vitro* a permis de déterminer les mécanismes et voies de signalisation impliquées dans la mort des cellules induite par glucotoxicité. Une collaboration avec l'équipe d'Amar Abderrahmani (IEMN-UMR 8520, Lille, France) nous a aidé dans cette compréhension des mécanismes par une approche moléculaire par l'analyse des ARN messagers lors de ces expériences (RT-qPCR).

La seconde partie de ce projet a été d'évaluer la pertinence d'une combinaison entre un inhibiteur de TPL2 et un GLP-1RA. Pour cela, nous avons d'abord montré que la réponse au GLP-1 des cellules  $\beta$  pancréatiques était améliorée par l'utilisation d'un inhibiteur de TPL2 permettant de réduire l'environnement néfaste des conditions diabétogènes induite par l'hyperglycémie chronique. Le second objectif ici a été d'évaluer les effets de la combinaison de ces deux molécules sur la survie et la fonction de cellules  $\beta$  pancréatiques.

- Article n°1 :

**A small-molecule inhibitor of the MAP3 Kinase TPL2 improves glucolipototoxicity-related  $\beta$ -cell dysfunction and death**

**Morgane Delobel**, Valérie Plaisance, Elodie Varin, Dany Muller, Gyslaine Bertrand, Safia Costes, Christophe Broca, Anne Wojtuszcisyn, Amar Abderrahmani, Eric Renard, Magalie A. Ravier, Stéphane Dalle.

Soumission prévue pour Septembre 2021.

- Revue n°1 :

**G-protein-coupled receptors controlling pancreatic  $\beta$ -cell functional mass for the treatment of type 2 diabetes**

**Morgane Delobel** and Stéphane Dalle.

Publiée dans : Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research, 2020.

Revue sur invitation.

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.09.010>

- Revue n°2 :

**Pharmacological inhibitors of  $\beta$ -cell dysfunction and death for the treatment of Type 2 Diabetes**

**Morgane Delobel** and Stéphane Dalle.

En préparation, soumission prévue pour Septembre 2021.

Sur invitation du journal Cells.

# **A small-molecule inhibitor of the MAP3 Kinase TPL2 improves nutrient-induced $\beta$ -cell dysfunction and death**

Morgane Delobel<sup>1</sup>, Valérie Plaisance<sup>2</sup>, Dany Muller<sup>1</sup>, Elodie Varin<sup>1</sup>, Gyslaine Bertrand<sup>1</sup>, Safia Costes<sup>1</sup>, Christophe Broca<sup>3</sup>, Anne Wojtusciszyn<sup>3</sup>, Amar Abderrahmani<sup>2</sup>, Eric Renard<sup>1,4</sup>, Magalie Ravier<sup>1</sup>, Stéphane Dalle<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

<sup>2</sup>IEMN-UMR 8520, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq, France

<sup>3</sup>IRMB St-Eloi, LTC-D-PRIMS, Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup>Département Endocrinologie, Diabète et Nutrition, Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, Montpellier, France

\* to whom correspondence should be addressed at [stephane.dalle@igf.cnrs.fr](mailto:stephane.dalle@igf.cnrs.fr)

## ABSTRACT

Evidences suggest that nutrient-induced metabolic stresses such as chronic hyperglycemia provide a link between type 2 diabetes and  $\beta$ -cell dysfunction and death. The MAP3 kinase 8, Tumor progression locus 2 (TPL2), plays an important role in  $\beta$ -cell death after cytokine exposure, its involvement in  $\beta$ -cell dysfunction and death induced by chronic hyperglycemia is unknown. We found TPL2 is overexpressed in islets of diabetic GK rats and *db/db* mice. Chronic hyperglycemia increases TPL2 expression in  $\beta$ -cells and human islets. Treatment of *db/db* mice with a small molecule inhibitor of TPL2 results in a reduction of diabetes progression with decreased fasting hyperglycemia and hyperinsulinemia, improved glucose tolerance, without affecting insulin sensitivity. Inhibition of TPL2 improves the detrimental effects of hyperglycemia on glucose-induced insulin secretion, reduces apoptosis of  $\beta$ -cells, and prevents the mRNA upregulation of *Icer*, a transcriptional repressor of insulin and key exocytotic proteins genes, and c-Jun N-terminal kinases 1/2 (JNK1/2) activation. Combination of a GLP-1 receptor agonist (GLP-1RA, exendin-4) with the TPL2 inhibitor totally prevented the apoptosis of  $\beta$ -cells induced by hyperglycemia. Our results identify TPL2 inhibition, alone or in combination with a GLP-1RA, as potential new therapeutic avenues to prevent  $\beta$ -cell dysfunction and apoptosis and to slow down T2D development.

## INTRODUCTION

It is well accepted that a major deficiency of insulin secretion plays an essential role, in addition to insulin resistance, in the development of type 2 diabetes [1–3]. Associated with this insulin secretion dysfunction, a loss of  $\beta$ -cell mass by apoptosis has also been proposed during type 2 diabetes [4]. Numerous studies have implicated nutrient-induced metabolic stresses, such as chronic hyperglycemia, as potential key factors in the generation of insulin secretion dysfunction and apoptotic death in  $\beta$ -cells [5–7]. Despite the current and widely prescribed medicines, a gradual reduction in  $\beta$ -cell function and mass is observed over time in patients with type 2 diabetes, leading to inadequate long-term glycemic control [1–3]. None of the diabetes drugs are effective in protecting  $\beta$ -cell function and mass against diabetogenic stressors indicating unmet medical need. Innovative therapeutic strategies aimed at preventing the dysfunction and death of  $\beta$ -cells caused by nutrient-induced metabolic stresses such as hyperglycemia are of great interest for slowing the progression or even preventing type 2 diabetes.

The MAP3 kinase 8, Tumor progression locus 2 (TPL2), is a serine/threonine kinase expressed in different cell types including macrophages and immune cells [8, 9]. TPL2 activation is triggered by cytokines, interleukin (IL)-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ), several chemokines, and TLR ligands through the phosphorylation of the I $\kappa$ B kinases (IKK) such as IKK- $\beta$ . When activated, TPL2 stimulates downstream signaling pathways including the mitogen-activated protein kinases (MAPK). TPL2 was reported to play an important role in the production of chemokines upon macrophages activation. Its overexpression is associated with several chronic inflammatory diseases [8, 9].

We previously reported that expression of TPL2 protein is increased in  $\beta$ -cells upon exposure to proinflammatory cytokines [10]. Pharmacological inhibition of TPL2, but not deletion of the *Tpl2* gene, rendered  $\beta$ -cells partially resistant to cytokine-dependent development of apoptosis

and insulin secretion dysfunction [10], leading us to further study small molecule inhibitors of this kinase. Moreover, while these findings are of great potential in the context of type 1 diabetes research, whether it is appropriate to propose a pharmacological targeting of TPL2 in the context of type 2 diabetes remains to be investigated. In the current study, we report that TPL2 protein expression is increased in islets of diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats and *db/db* mice. To inhibit TPL2, we used a TPL2 selective small molecule inhibitor which had previously been developed for the treatment of rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease [11, 12]. Administration of this TPL2 inhibitor to *db/db* mice markedly reduces fasting hyperglycemia, hyperinsulinemia, improves glucose tolerance, without affecting insulin sensitivity. These data suggest that TPL2 is part of a  $\beta$ -cell signaling process that leads to  $\beta$ -cell failure. Nutrient-induced metabolic stresses such as hyperglycemia and hyperlipidemia up-regulate TPL2 protein expression in  $\beta$ -cells. TPL2 inhibition prevents hyperglycemia and hyperlipidemia-induced JNK1/2 activation, mRNA upregulation of *Icer*, a transcriptional repressor of insulin and key exocytotic proteins genes, and thus protects  $\beta$ -cell survival and function from the deleterious effects of hyperglycemia and hyperlipidemia. The combination of a GLP-1 receptor agonist with the TPL2 inhibitor completely prevented the emergence of hyperglycemia-induced apoptotic death. We propose that this class of TPL2 inhibitor could also be considered to target  $\beta$ -cell disorders related to hyperglycemia and hyperlipidemia, and undergo study for the treatment of type 2 diabetes alone or in combination with a GLP-1 receptor agonist.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Materials and reagents**

TPL2 kinase inhibitor [4-(3-Chloro-4-fluorophenylamino)-6-(pyridine-3-yl-methylamino)-3-cyano-[1,7]-naphthyridine] (#616373-1MG) was obtained by Calbiochem (Meck Millipore, Darmstadt, Germany) and Exendin-4 (#4019602) by Bachem (Switzerland). Anti-TPL2 (#sc-373677) and HRP-linked anti-mouse IgG (#sc-516102) antibodies were obtained from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA). Cleaved caspase-3 (#9661), phospho-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185, #9251) which specifically recognize p-JNK1 and p-JNK2 (p46 and p54 SAPK/JNK respectively), SAPK/JNK (#9252), horseradish peroxidase (HRP)-linked anti-rabbit IgG (#7074S) and anti-mouse IgG (#7076S) antibodies were obtained from Cell Signaling Technology (New England Biolabs, Beverly, MA). Anti- $\beta$ -actin (#A-5441) antibody was obtained from Sigma (St. Louis, MO).

### **Animals**

Nondiabetic Wistar and diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats (8–10-week-old male) were maintained in the colony at the Adaptive and Functional Biology Unit (Paris Diderot University, Paris, France) which characteristics are described previously [13]. Male *db/+*, used as normoglycemic control mice, and male *db/db* mice were purchased from Janvier Labs (France). All animals were maintained on a 12 h day/night cycle and were provided free access to water and standard rodent diet. All animal used were treated in accordance with European Community guidelines. Local and national institutions approved the experimentation.

### **Treatment of *db/db* mice**

Experiments were carried out on 6-week-old *db/db* mice fed a standard diet (4% fat). The study and the daily intra-peritoneal (*ip*) TPL2 inhibitor administration (2.5 mg/kg) or vehicle



(KRBS/DMSO initial 10% V/V) were designed according to Wang Q. *et al.* [14] and Lawrenz M. *et al.* [15]. *db/db* mice were randomized in 2 groups and treated for 2 weeks with daily *ip* injection of either the TPL2 inhibitor or vehicle. As a control, *db/+* mice were treated with vehicle (*db/+* vehicle) for the same period of time. Body weights were recorded throughout the study. Glucose tolerance tests were performed by *ip* administration (*ip* GTT) of 1-2 g per kg body weight glucose after a 16 h overnight fast. Blood glucose concentrations were determined with a glucometer (Verio Onetouch, Lifescan, Johnson and Johnson Company) using blood sampled from the tail vein. Insulin tolerance tests (*ip* ITT) were carried out in a similar manner following the *ip* administration of 0.75 U insulin per kg body weight to non-fasted mice. Plasma insulin levels were quantified by radioimmunoassay (rat insulin kit, Millipore, Germany) using blood sampled from the tail vein on the first day of the study or from jugular arteries the day of the sacrifice.

### **Rodent pancreatic islet isolation**

Islets from Wistar and GK rats were isolated at the unity of adaptive and functional biology (Paris DIDEROT university, Paris, France), as described [16, 17]. Pancreatic islets were isolated from *db/+* and *db/db* mice following the injection of approximately 2 mL of 1 mg/mL collagenase XI (#C9263-1G, Sigma, St. Louis, MO) through the bile duct. The pancreases were then removed, incubated under agitation at 37°C for 9 minutes to complete the digestion and the islets were separated from the exocrine pancreatic tissue using a histopaque-1077 gradient. The islets were then washed in cold PBS supplemented with 1.2 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, and 5.6 mmol/L glucose, handpicked under a dissecting microscope, separated into groups composed of 200-300 islets and maintained in culture at 37°C (95% air and 5% CO<sub>2</sub>) in RPMI 1640 (11 mmol/L glucose) supplemented with 10% FBS, 2 mmol/L glutamine, 100 units/ml penicillin and 100 µg/mL streptomycin for at least 24 h before being used.

## Cell culture

The rat  $\beta$ -cell line INS-1E was provided by Pr. Maechler (Cell Physiology and Metabolism Department, Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland) (Merglen et al. 2004), and cultured in RPMI 1640 complete medium as described [19] at 37°C in a humidified 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. All experiments were performed at 70% of cell confluence.

For TPL2 inhibitor experiment: INS-1E cells were pre-incubated at 37°C during 2 h with or without TPL2 inhibitor (3  $\mu$ M), and then incubated for 48h with or without TPL2 inhibitor (3  $\mu$ M), various glucose concentrations, as indicated in figures legend.

For glucolipotoxicity experiment: INS-1E cells were treated with RPMI 1640 supplemented by albumin (0.5% BSA), containing 11.1 or 33.3 mM glucose with or without 0.5 mM palmitate.

For combination experiment: INS-1E cells were pre-incubated at 37°C during 2 h with or without TPL2 inhibitor (3  $\mu$ M) and with or without Exendin-4 (20 nM), and then incubated for 48 h with or without TPL2 inhibitor and Exendin-4, in 11.1 or 33.3 mM of glucose.

## Western blotting

Cells and tissues (INS-1E and mice islets) were incubated on ice for 10 min in NP40 lysis buffer, before be sonicated (mice islets) or scraped of the 6 wells-plate (INS-1E cells) and centrifugated (4°C, 10,000 rpm, 10 min). Supernatant were dosed by BCA assay (Sigma, St. Louis, MO, #BCA1-1KT) and proteins (25-50  $\mu$ g/lane) were separated on a 4-12% Bis-Tris NuPAGE gel and transferred onto a PVDF membrane (FluoroTrans, VWR, Fontenay sous-Bois, France). Membranes were blocked then incubated overnight at 4°C with appropriate antibodies followed by a hybridization 1 h at room temperature with secondary antibodies. Proteins were visualized by enhanced chemiluminescence (Millipore, #WBLKS0500) on ChemiDoc camera (Bio-Rad)

and quantified by ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, MD).

### **RT-qPCR**

Total RNA was extracted and collected from INS-1E  $\beta$ -cells after treatment of chronic hyperglycemia. The reverse transcription reaction was performed as previously described (Tenenbaum et al. 2021). Real-time quantitative PCR assays were carried out on the Bio-Rad MyiQ Real-Time PCR Detection System using iQ SyBr Green Supermix (Bio-Rad). The primer sequences for rat used are : ICER, sense 5'-ATGGCTGTAAGTGGAGATGAACTG-3' and antisense 5'-CACCTTGTGGCAAAGCAGTA-3'.  $\beta$ -tubulin, sense 5'-GGAGGATGCTGCCAATAACT-3' and antisense 5'-GGTGGTGAGGATGGAATTGT-3'.

### **Insulin secretion measurements**

After chronic hyperglycemia (33.3 mM glucose, 48 h) incubation period of INS-1E cells with or without TPL2i (3  $\mu$ M), cells were pre-incubated for 2 h for stabilization in KRB buffer [22] containing glucose 1.4 mmol/L, followed by a 1 h incubation at glucose 1.4 mmol/L or 11.2 mmol/L. Insulin release and content were collected and cleared by centrifugation (4°C, 1 000 rpm, 2 min). Acid ethanol is used to extract insulin content and insulin release was normalized to insulin content. Insulin secretion was measured by Homogeneous Time Resolved Fluorescence (HTRF) with Insulin sensitivity tests (#62IN2PEH, Perkin Elmer, Codolet, France) and these signals were measured on microplate reader by Pherastar FS (BMG Labtech, Ortenberg, Germany).

### **Statistical analysis**

Results are expressed as the means  $\pm$  SEM for n independent experiments. The statistical significance between means was assessed by unpaired Student t-test, or by ANOVA (ONE-way

or TWO-way) followed by Sidak's post hoc test for multiple comparisons. Analyses were performed with GraphPad Prism 8 software. A  $P$  value  $< 0.05$  was considered significant ( $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ ).

## RESULTS

### **TPL2 expression is increased in rodent islets during diabetes development**

An anti-TPL2 antibody detected two bands of 58 and 52 kDa in rodent pancreatic islets (Fig. 1A,B) as reported (Varin et al. 2016), corresponding to the long (TPL2<sub>L</sub>) and the short (TPL2<sub>S</sub>) isoforms of TPL2 that were described to arise from an alternative translational initiation site [23]. We assessed the expression levels of TPL2 proteins in islets during the development of diabetes. We observed significant ~ 2 and ~ 2.5 fold increases in TPL2<sub>L</sub> and TPL2<sub>S</sub> protein expressions in islets isolated from GK rats, a spontaneous nonobese model that develops type 2 diabetes [24]. These increased levels of TPL2 proteins in islets were observed at 8 to 10 weeks of age associated with impaired insulin secretory response to glucose and hyperglycemia (Fig. 1A) [24]. Higher TPL2<sub>L</sub> and TPL2<sub>S</sub> protein expression levels were also observed in islets isolated from obese diabetic *Lep<sup>rd/b</sup>* mice (*db/db* mice) (Fig. 1B) at 8 weeks of age associated with reduced insulin secretion in response to glucose, impaired glucose tolerance, and elevated blood glucose levels [14, 24, 25].

### **TPL2 inhibitor treatment reduces the onset of diabetes in *db/db* mice**

Since deletion of the TPL2 gene in mice produced no resistance of pancreatic islets to the effects of diabetogenic conditions [10], we search for inhibitors of TPL2. We used a potent reversible and specific ATP-competitive TPL2 inhibitor. This inhibitor belongs to a chemical family which has been developed by the pharmaceutical industry to treat certain inflammatory diseases [11, 12]. This compound is highly selective for TPL2 and the structure is provided in references [11, 12]. Dose response experiments revealed that the TPL2 inhibitor we used blocked ~ 80% of TPL2 activity with low inhibitory concentration of approximately 3  $\mu$ M (*data not shown*). At concentrations  $\leq$  5  $\mu$ M, it did not block any others from a broad panel of kinases representing most families [10].

We evaluated the effects of TPL2 inhibitor administration on the development of diabetes using pre-diabetic *db/db* mice. These mice spontaneously develop obesity, hyperinsulinemia at 6 weeks of age progressing to insulin secretion dysfunction, hyperglycemia and frank diabetes by 8 weeks of age [14]. The TPL2 inhibitor, or vehicle, was administered (*i.p.* 2.5 mg per kg) to 6-week-old mice daily for 2 weeks in according to literature [14, 15]. As control, 6-week-old *db/+* normoglycemic control mice received injection of vehicle (*db/+* vehicle). Fasting blood glucose levels were in the normal range in vehicle and TPL2 inhibitor treated groups at the initiation of the treatment (*data not shown*).

After 1 week, *db/db* mice treated with the TPL2 inhibitor had improved glucose tolerance with an approximate 30% reduction in the area under the curve for glucose (Fig. 2A), while the TPL2 inhibitor treatment had no significant effect on fasting blood glucose at this time point (Fig. 2B). By the age of 8 weeks, vehicle-treated *db/db* mice developed hyperglycemia ( $258.6 \pm 40.7$  mg/dL,  $p < 0.001$  vs *db/+*), while TPL2 inhibitor-treated mice had reduced and lower fasting blood glucose ( $144.0 \pm 15.5$  mg/dL, ~ 65% reduction,  $p < 0.01$  vs vehicle-treated *db/db* mice) (Fig. 2C). Random fed hyperglycemia was also found to be reduced from  $490 \pm 8.4$  to  $385.6 \pm 14.7$  mg/dL (*data not shown*). Vehicle- and TPL2 kinase inhibitor-treated *db/db* mice showed similar body weight gain with no significant differences at the end of the treatment period (Fig. 2D), suggesting that improvement in hyperglycemia was not due to changes in food intake and/or weight loss, and that TPL2 inhibitor treatment was not associated with adverse or toxic effects.

The reduction of hyperglycemia in *db/db* mice treated with TPL2 inhibitor might be due to an improvement in insulin sensitivity and/or  $\beta$ -cell function. To evaluate the effect of TPL2 inhibitor on insulin sensitivity, an insulin tolerance test was performed. Following insulin injection, *db/+* mice exhibited reductions in blood glucose levels (Fig. 2E and F). *db/db* mice treated with vehicle showed lower reductions in blood glucose (Fig. 2E and F), revealing decreased insulin sensitivity in *db/db* animals as described [30]. No significant difference in insulin sensitivity was observed

between the vehicle-treated and TPL2-treated *db/db* (Fig. 2E and F), suggesting that peripheral insulin target sites were not the main contributors to the improved hyperglycemia observed in the mice treated with TPL2 inhibitor.

After 2 weeks, consistent with their hyperglycemia (Fig. 2C), the fasting serum insulin concentrations in vehicle-treated *db/db* mice were elevated compared to *db/+* control mice ( $11.3 \pm 1.2$  ng/mL,  $p < 0.001$  vs *db/+*) (Fig. 2G). TPL2 inhibitor treatment significantly reduced serum insulin concentrations ( $4.3 \pm 0.4$  ng/mL, ~70% reduction,  $p < 0.001$  vs vehicle-treated *db/db*) (Fig. 2G), which was consistent with the reduced and near normal fasting glycemia in these mice (Fig. 2C).

We further analysed the pancreas morphology of the mice after 2 weeks of treatment. Morphometric histological analysis of pancreatic sections revealed that vehicle- and TPL2 kinase inhibitor-treated *db/db* mice showed no differences in the proportion of islet occupation per section (*i.e.* islet area) (Fig. 3A), number of islets (Fig. 3B), and distribution of the islet sizes (Fig. 3C), suggesting that the reduction of hyperglycemia was not due to changes in islet neogenesis or islet cell proliferation. This could be more likely due to an improvement in  $\beta$ -cell function in response to treatment with TPL2 inhibitor.

### **TPL2 inhibition improves $\beta$ -cell function**

We ascertained the role of TPL2 in  $\beta$ -cell biology, and investigated *in vitro* whether TPL2 is part of a  $\beta$ -cell signaling process which leads to  $\beta$ -cell dysfunction. Chronically elevated glucose levels can alter the sensitivity of  $\beta$ -cells in their glucose responsiveness and cause deleterious processes [5–7, 30]. A chronic exposure (48 h) of the  $\beta$ -cell line INS-1E to high glucose concentration severely deteriorated insulin secretion by blocking glucose to stimulate insulin secretion (Fig. 4A). Treatment of INS-1E cells with TPL2 inhibitor significantly improved insulin secretion in response to stimulatory glucose concentration (Fig. 4A), indicating that the  $\beta$ -cells exposed to

high glucose and treated with TPL2 inhibitor are more functional. As control, treatment of  $\beta$ -cells with TPL2 inhibitor alone had no effect on insulin secretion capacities (Fig. 4A).

We hypothesized that TPL2 inhibition may elicit changes in gene transcription that initiate the process of  $\beta$ -cell dysfunction. The critical transcriptional repressor *Icer*, which represses the expression of key components of the machinery of insulin exocytosis such as *Noc2*, *Rab3a* and *Rab27a*, is increased after chronic exposure of  $\beta$ -cells to hyperglycemia [32]. These inappropriate levels of ICER are subsequently associated with impaired  $\beta$ -cell function in response to glucose [32]. Thus, we hypothesized that the improved insulin secretion following TPL2 inhibition may be mediated by reduction of ICER expression. Levels of mRNA encoding *Icer* were found to be markedly increased in  $\beta$ -cells exposed to high glucose concentrations (Fig. 4B). TPL2 inhibition prevents mRNA upregulation of *Icer* (Fig. 4B).

### **TPL2 inhibition improves $\beta$ -cell survival**

Associated with an insulin secretion dysfunction, a loss of  $\beta$ -cell mass by apoptotic death has been proposed during type 2 diabetes [4]. Chronic hyperglycemia induces apoptosis in  $\beta$ -cells [5–7, 17]. A 48 h exposure of INS-1E cells to increasing glucose concentrations induced the emergence of the cleaved form of caspase-3, a key executioner and marker of apoptosis [33] (Fig. 5A and B), as described [17]. This rise of apoptotic death was associated with increased expression of both TPL2<sub>L</sub> and TPL2<sub>S</sub> isoforms and higher phosphorylation/activation of the stress mitogen-activated protein kinases (MAPK) (*i.e.* c-Jun N-terminal Kinase 1 (JNK1) and 2 (JNK2)) (Fig. 5A and B). In contrast, short-term exposure (< 24 h) of INS-1E cells to high glucose concentrations (33.3 mM) induced neither apoptosis, increased expression of TPL2 nor phosphorylation of JNKs (Fig. 5B). Studies *in vitro* provided evidences for a synergistic detrimental effects of elevated glucose and FFA, particularly saturated FFA, on the survival of  $\beta$ -cells [26–28, 33]. Cleaved caspase-3 level was further increased by chronic exposure to high glucose and palmitic acid



concentrations compared to the levels induced by high glucose alone. Even under these heightened apoptotic conditions, TPL2 inhibition reduced by ~ 70-80 % the emergence of cleaved caspase-3 level (Fig. 5C).

We evaluated changes in signaling pathways that may contribute to the reduction in  $\beta$ -cell apoptosis observed following inhibition of TPL2. JNK1/2 were reported to be involved in high glucose-induced  $\beta$ -cell apoptotic death and proposed as potential therapeutic targets for type 2 diabetes [34–36]. When overexpressed, TPL2 was shown to activate the JNK1/2 pathway [8, 9, 37]. We observed that TPL2 inhibition suppressed JNK1 and JNK2 phosphorylation under glucotoxic or glucolipotoxic conditions (Fig. 5C). As a control, the 48 h treatment of healthy  $\beta$ -cells with TPL2 inhibitor alone neither affected apoptotic death, nor JNK phosphorylation/activation (Fig. 5C).

### **TPL2 inhibition combined with GLP-1 receptor agonist protects $\beta$ -cells against apoptosis**

The stimulating action of GLP-1 receptor agonists (GLP-1RAs) on insulin secretion is well demonstrated following acute administration [39]. However, their long-term efficacy in preserving the function and survival of  $\beta$ -cells remains to be strengthened [39]. We evaluated whether the combination of a GLP-1RA with the TPL2 inhibitor has a superior effect than GLP-1RA alone.  $\beta$ -cells were completely protected from the deleterious pro-apoptotic effect of chronic hyperglycemia when treated with the exendin-4/iTPL2 combination. The exendin-4/iTPl2 combination produces a more potent anti-apoptotic effect on INS-1E cells exposed to hyperglycemia than either compound alone by a reduced protein expression of death markers such as Cleaved caspase-3, Cleaved PARP and JNK1/2 (Fig. 6A). Inhibition of TPL2 enhances GLP-1RA (exendin-4)-induced activation of the survival transcription factor CREB, revealing a negative regulation of GLP-1R signaling by TPL2 (Fig. 6B).

## DISCUSSION

Compelling evidences has accrued over the past few years that nutrient-induced metabolic stresses such as chronic hyperglycemia deteriorate insulin secretion and  $\beta$ -cell survival [4]. While the molecular links between chronic hyperglycemia, hyperlipidemia and  $\beta$ -cell failure are not yet completely understood, it is clear that the identification of a common regulator of  $\beta$ -cell dysfunction and apoptosis would thus offer a novel therapeutic target for the treatment of diabetes. We show that TPL2 protein expression is increased in pancreatic islets of diabetic GK rats and *db/db* mice, correlating with the onset of hyperglycemia and insulin secretion dysfunction. Chronic exposure of INS-1E  $\beta$ -cells to high glucose and fatty acid concentrations increased TPL2 protein expression. Beyond cytokines [10], nutrients can regulate the expression and activation of TPL2. Our previous studies indicated that deletion of TPL2 did not protect  $\beta$ -cells from apoptosis, suggesting that the absence of TPL2 is compensated by the overexpression of another MAP3 kinase engaging apoptotic pathways as shown in other cell types [10]. We thus conducted pharmacological loss of function study to assess the role of TPL2 *in vivo*. TPL2 inhibitor treatment delays the onset of diabetes in 6–8-week-old *db/db* mice. Administration of a selective small inhibitor of TPL2 to *db/db* mice markedly improves fasting hyperglycemia (~ 65% reduction), fasting hyperinsulinemia (~ 65-70% reduction) while insulin sensitivity is not affected. These effects are seen within two weeks after starting drug therapy. They are likely attributed to the protection of  $\beta$ -cells with respect to the abnormal metabolic environment in *db/db* mice. Signaling pathways that modulate insulin secretion dysfunction and  $\beta$ -cell apoptosis are attenuated *in vitro* by the addition of the TPL2 inhibitor.

The precise mechanisms by which TPL2 pharmacological inhibition produces this beneficial effect were partly elucidated. The detrimental effects of a long-term high glucose exposure on  $\beta$ -cell function have been clearly established [40]. Inhibition of TPL2 significantly restored the capacity of glucose to stimulate insulin secretion in  $\beta$ -cells exposed to high glucose, likely favoring the

maintenance of efficient glucose sensing and exocytosis. TPL2 may affect modulate transcription factors and gene expression profiles that initiate the process of  $\beta$ -cell dysfunction. Inhibition of TPL2 balances the negative regulation of insulin production and secretion induced by ICER which is exacerbated by chronic hyperglycemia. ICER deregulation leads to pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction and death [41], suggesting the protective effect of TPL2 inhibitor on the dysfunction and death of  $\beta$ -cell.

TPL2 plays a central role in the initiation of cell death [42, 43]. TPL2 is overexpressed and highly active in diabetic environments, such as hyperglycemia and hyperlipidemia, and induces the JNK1/2 dependent apoptosis pathway in  $\beta$ -cells leading to subsequent caspase-3 and PARP cleavage and cell death. JNK1 and JNK2 activation deteriorate  $\beta$ -cell survival [35, 36, 43, 44]. TPL2 inhibition reduces JKN1/2 phosphorylation/activation and apoptosis induced by hyperglycemia and hyperlipidemia in  $\beta$ -cells. Beyond a therapeutic strategy based on a direct pharmacological inactivation of TPL2, it is now of interest to investigate the molecular mechanisms that regulate the expression levels of TPL2 in the  $\beta$ -cells upon diabetic conditions to identify additional new targets.

Inhibition of TPL2 would simultaneously exert an anti-apoptotic action and a functional effect which amplifies the GLP-1 effect on  $\beta$ -cells, making it possible to consider the therapeutic utility of a GLP-1RA/TPL2 inhibitor combination against type 2 diabetes. Our results raise the possibility that TPL2 hyperactivity is a common regulator of  $\beta$ -cell dysfunction and apoptosis induced by various diabetic conditions. As such, TPL2 inhibition could be used as a therapeutic approach to alleviate  $\beta$ -cell failure. TPL2 inhibitor are developed by pharmaceutical industries for treating inflammatory diseases, there might be an interesting opportunity for repurposing this pharmacological agent for type 2 diabetes. Future clinical studies will be needed to explore this possibility, and to validate the hypothesis that this TPL2 kinase contributes to hyperglycemia deleterious effects that sustain  $\beta$ -cell failure.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a grant obtained from the “Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale” (INSERM, Paris, France). The authors thank Dr C. Tourrel-Cuzin for providing islets from GK and Wistar rats. M.D. is the recipient of the CIFRE N°2018/0047 doctoral fellowship from the “Association Nationale de la Recherche et de la technologie” (ANRT, Paris, France), and the SARL “Médecine-Biologie-Méditerranée” (MedBioMed, Montpellier, France).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

## REFERENCES

- [1] B. B. Boland, C. J. Rhodes, et J. S. Grimsby, « The dynamic plasticity of insulin production in  $\beta$ -cells », *Mol. Metab.*, vol. 6, n° 9, p. 958-973, sept. 2017, doi: 10.1016/j.molmet.2017.04.010.
- [2] R. A. DeFronzo, « From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus », *Diabetes*, vol. 58, n° 4, p. 773-795, avr. 2009, doi: 10.2337/db09-9028.
- [3] C. J. Nolan, P. Damm, et M. Prentki, « Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management », *The Lancet*, vol. 378, n° 9786, p. 169-181, juill. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60614-4.
- [4] A. E. Butler, J. Janson, S. Bonner-Weir, R. Ritzel, R. A. Rizza, et P. C. Butler, «  $\beta$ -Cell Deficit and Increased  $\beta$ -Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes », *Diabetes*, vol. 52, n° 1, p. 102-110, janv. 2003, doi: 10.2337/diabetes.52.1.102.
- [5] M. Bensellam, D. R. Laybutt, et J.-C. Jonas, « The molecular mechanisms of pancreatic  $\beta$ -cell glucotoxicity: Recent findings and future research directions », *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 364, n° 1-2, p. 1-27, nov. 2012, doi: 10.1016/j.mce.2012.08.003.
- [6] M. Prentki, M.-L. Peyot, P. Masiello, et S. R. M. Madiraju, « Nutrient-Induced Metabolic Stress, Adaptation, Detoxification, and Toxicity in the Pancreatic  $\beta$ -Cell », *Diabetes*, vol. 69, n° 3, p. 279-290, mars 2020, doi: 10.2337/dbi19-0014.
- [7] G. C. Weir, « Glucolipotoxicity,  $\beta$ -Cells, and Diabetes: The Emperor Has No Clothes », *Diabetes*, vol. 69, n° 3, p. 273-278, mars 2020, doi: 10.2337/db19-0138.
- [8] T. Gantke, S. Sriskantharajah, et S. C. Ley, « Regulation and function of TPL-2, an I $\kappa$ B kinase-regulated MAP kinase kinase kinase », *Cell Res.*, vol. 21, n° 1, p. 131-145, janv. 2011, doi: 10.1038/cr.2010.173.

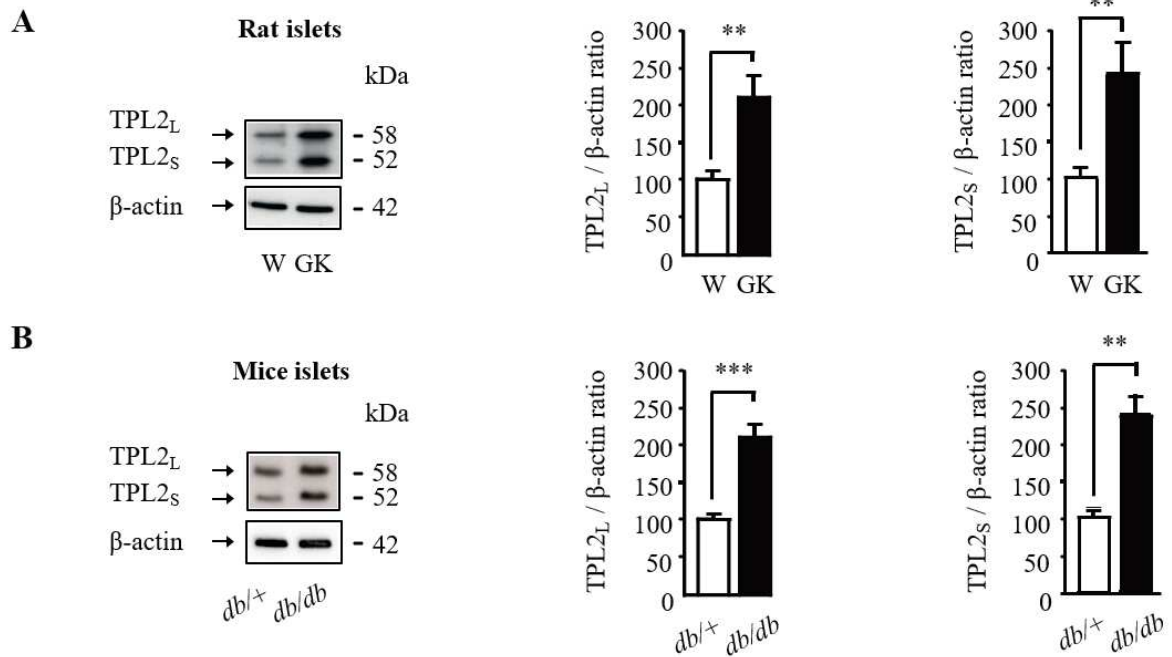
- [9] M. Vougioukalaki, D. C. Kanellis, K. Gkouskou, et A. G. Eliopoulos, « Tpl2 kinase signal transduction in inflammation and cancer », *Cancer Lett.*, vol. 304, n° 2, p. 80-89, mai 2011, doi: 10.1016/j.canlet.2011.02.004.
- [10] E. M. Varin *et al.*, « Inhibition of the MAP3 kinase Tpl2 protects rodent and human  $\beta$ -cells from apoptosis and dysfunction induced by cytokines and enhances anti-inflammatory actions of exendin-4 », *Cell Death Dis.*, vol. 7, n° 1, p. e2065-e2065, janv. 2016, doi: 10.1038/cddis.2015.399.
- [11] L. K. Gavrin *et al.*, « Inhibition of Tpl2 kinase and TNF- $\alpha$  production with 1,7-naphthyridine-3-carbonitriles: Synthesis and structure–activity relationships », *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 15, n° 23, p. 5288-5292, déc. 2005, doi: 10.1016/j.bmcl.2005.08.029.
- [12] Y. Hu *et al.*, « Inhibition of Tpl2 kinase and TNF $\alpha$  production with quinoline-3-carbonitriles for the treatment of rheumatoid arthritis », *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 16, n° 23, p. 6067-6072, déc. 2006, doi: 10.1016/j.bmcl.2006.08.102.
- [13] B. Portha *et al.*, « The GK rat beta-cell: A prototype for the diseased human beta-cell in type 2 diabetes? », *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 297, n° 1-2, p. 73-85, janv. 2009, doi: 10.1016/j.mce.2008.06.013.
- [14] Q. Wang et P. Brubaker, « Glucagon-like peptide-1 treatment delays the onset of diabetes in 8 week-old db/db mice », *Diabetologia*, vol. 45, n° 9, p. 1263-1273, sept. 2002, doi: 10.1007/s00125-002-0828-3.
- [15] M. Lawrenz, A. Visekruna, A. Kühl, N. Schmidt, S. H. E. Kaufmann, et U. Steinhoff, « Genetic and pharmacological targeting of TPL-2 kinase ameliorates experimental colitis: a potential target for the treatment of Crohn's disease? », *Mucosal Immunol.*, vol. 5, n° 2, p. 129-139, mars 2012, doi: 10.1038/mi.2011.57.
- [16] C. Leloup *et al.*, « Mitochondrial Reactive Oxygen Species Are Obligatory Signals for Glucose-Induced Insulin Secretion », *Diabetes*, vol. 58, n° 3, p. 673-681, mars 2009, doi: 10.2337/db07-1056.
- [17] S. Costes *et al.*, « Degradation of cAMP-Responsive Element-Binding Protein by the Ubiquitin-Proteasome Pathway Contributes to Glucotoxicity in  $\beta$ -Cells and Human Pancreatic Islets », *Diabetes*, vol. 58, n° 5, p. 1105-1115, mai 2009, doi: 10.2337/db08-0926.
- [18] T. Hubert *et al.*, « Influence of Preservation Solution on Human Islet Isolation Outcome », *Transplantation*, vol. 83, n° 3, p. 270-276, févr. 2007, doi: 10.1097/01.tp.0000251723.97483.16.
- [19] L. Ruiz *et al.*, « Proteasomal degradation of the histone acetyl transferase p300 contributes to beta-cell injury in a diabetes environment », *Cell Death Dis.*, vol. 9, n° 6, p. 600, juin 2018, doi: 10.1038/s41419-018-0603-0.
- [20] A. Merglen, S. Theander, B. Rubi, G. Chaffard, C. B. Wollheim, et P. Maechler, « Glucose Sensitivity and Metabolism-Secretion Coupling Studied during Two-Year Continuous Culture in INS-1E Insulinoma Cells », *Endocrinology*, vol. 145, n° 2, p. 667-678, févr. 2004, doi: 10.1210/en.2003-1099.
- [21] M. Tenenbaum *et al.*, « The Map3k12 (Dlk)/JNK3 signaling pathway is required for pancreatic beta-cell proliferation during postnatal development », *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 78, n° 1, p. 287-298, janv. 2021, doi: 10.1007/s00018-020-03499-7.

- [22] C. Broca *et al.*, «  $\beta$ -Arrestin 1 Is Required for PAC1 Receptor-mediated Potentiation of Long-lasting ERK1/2 Activation by Glucose in Pancreatic  $\beta$ -Cells », *J. Biol. Chem.*, vol. 284, n° 7, p. 4332-4342, févr. 2009, doi: 10.1074/jbc.M807595200.
- [23] M. Aoki, F. Hamada, T. Sugimoto, S. Sumida, T. Akiyama, et K. Toyoshima, « The human cot proto-oncogene encodes two protein serine/threonine kinases with different transforming activities by alternative initiation of translation. », *J. Biol. Chem.*, vol. 268, n° 30, p. 22723-22732, oct. 1993, doi: 10.1016/S0021-9258(18)41587-6.
- [24] B. Portha, P. Serradas, D. Bailee, K.-I. Suzuki, Y. Goto, et M.-H. Giroix, « p-Cell Insensitivity to Glucose in the GK Rat, a Spontaneous Nonobese Model for Type II Diabetes », vol. 40, p. 6, 1991.
- [25] K. L. Han *et al.*, « Therapeutic Potential of Peroxisome Proliferators-Activated Receptor- $\alpha/\gamma$  Dual Agonist With Alleviation of Endoplasmic Reticulum Stress for the Treatment of Diabetes », *Diabetes*, vol. 57, n° 3, p. 737-745, mars 2008, doi: 10.2337/db07-0972.
- [26] J. Y. Chan, J. Luzuriaga, M. Bensellam, T. J. Biden, et D. R. Laybutt, « Failure of the Adaptive Unfolded Protein Response in Islets of Obese Mice Is Linked With Abnormalities in b-Cell Gene Expression and Progression to Diabetes », p. 12.
- [27] V. Poitout, J. Amyot, M. Semache, B. Zarrouki, D. Hagman, et G. Fontés, « Glucolipototoxicity of the pancreatic beta cell », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids*, vol. 1801, n° 3, p. 289-298, mars 2010, doi: 10.1016/j.bbalip.2009.08.006.
- [28] R. B. Sharma et L. C. Alonso, « Lipotoxicity in the Pancreatic Beta Cell: Not Just Survival and Function, but Proliferation as Well? », *Curr. Diab. Rep.*, vol. 14, n° 6, p. 492, juin 2014, doi: 10.1007/s11892-014-0492-2.
- [29] R. Ye, T. Onodera, et P. E. Scherer, « Lipotoxicity and  $\beta$  Cell Maintenance in Obesity and Type 2 Diabetes », *J. Endocr. Soc.*, vol. 3, n° 3, p. 617-631, mars 2019, doi: 10.1210/js.2018-00372.
- [30] S. M. Genuth, R. J. Przybylski, et D. M. Rosenberg, « Insulin Resistance in Genetically Obese, Hyperglycemic Mice », *Endocrinology*, vol. 88, n° 5, p. 1230-1238, mai 1971, doi: 10.1210/endo-88-5-1230.
- [31] G. C. Weir, L. Marselli, P. Marchetti, H. Katsuta, M. H. Jung, et S. Bonner-Weir, « Towards better understanding of the contributions of overwork and glucotoxicity to the  $\beta$ -cell inadequacy of type 2 diabetes », *Diabetes Obes. Metab.*, vol. 11, p. 82-90, nov. 2009, doi: 10.1111/j.1463-1326.2009.01113.x.
- [32] A. Abderrahmani, S. Cheviet, M. Ferdaoussi, T. Coppola, G. Waeber, et R. Regazzi, « ICER induced by hyperglycemia represses the expression of genes essential for insulin exocytosis », *EMBO J.*, vol. 25, n° 5, p. 977-986, mars 2006, doi: 10.1038/sj.emboj.7601008.
- [33] G. M. Cohen, « Caspases: the executioners of apoptosis », *Biochem. J.*, vol. 326, n° 1, p. 1-16, août 1997, doi: 10.1042/bj3260001.
- [34] K. Maedler *et al.*, « Glucose Induces  $\beta$ -Cell Apoptosis Via Upregulation of the Fas Receptor in Human Islets », *Diabetes*, vol. 50, n° 8, p. 1683-1690, août 2001, doi: 10.2337/diabetes.50.8.1683.
- [35] K. Maedler *et al.*, « Glucose and leptin induce apoptosis in human  $\beta$ - cells and impair glucose-stimulated insulin secretion through activation of c-Jun N-terminal kinases », *FASEB J.*, vol. 22, n° 6, p. 1905-1913, juin 2008, doi: 10.1096/fj.07-101824.

- [36] S. Abdelli, A. Abderrahmani, B. J. Hering, J. S. Beckmann, et C. Bonny, « The c-Jun N-terminal kinase JNK participates in cytokine- and isolation stress-induced rat pancreatic islet apoptosis », *Diabetologia*, vol. 50, n° 8, p. 1660-1669, juill. 2007, doi: 10.1007/s00125-007-0704-2.
- [37] A. Abderrahmani *et al.*, « Human high-density lipoprotein particles prevent activation of the JNK pathway induced by human oxidised low-density lipoprotein particles in pancreatic beta cells », *Diabetologia*, vol. 50, n° 6, p. 1304-1314, mai 2007, doi: 10.1007/s00125-007-0642-z.
- [38] M. Chiariello, M. J. Marinissen, et J. S. Gutkind, « Multiple Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways Connect the Cot Oncoprotein to the c- *jun* Promoter and to Cellular Transformation », *Mol. Cell. Biol.*, vol. 20, n° 5, p. 1747-1758, mars 2000, doi: 10.1128/MCB.20.5.1747-1758.2000.
- [39] D. J. Drucker, « Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1 », *Cell Metab.*, vol. 27, n° 4, p. 740-756, avr. 2018, doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.001.
- [40] S. Costes, G. Bertrand, et M. A. Ravier, « Mechanisms of Beta-Cell Apoptosis in Type 2 Diabetes-Prone Situations and Potential Protection by GLP-1-Based Therapies », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, n° 10, p. 5303, mai 2021, doi: 10.3390/ijms22105303.
- [41] R. Salvi et A. Abderrahmani, « Decompensation of  $\beta$  -Cells in Diabetes: When Pancreatic  $\beta$  -Cells Are on ICE(R) », *J. Diabetes Res.*, vol. 2014, p. 1-7, 2014, doi: 10.1155/2014/768024.
- [42] T. Yaomura *et al.*, « Serine/threonine kinase, Cot/Tpl2, regulates renal cell apoptosis in ischaemia/reperfusion injury », *Nephrology*, vol. 13, n° 5, p. 397-404, août 2008, doi: 10.1111/j.1440-1797.2008.00959.x.
- [43] C. Patriotis *et al.*, « Tpl-2 induces apoptosis by promoting the assembly of protein complexes that contain caspase-9, the adapter protein Tvl-1, and procaspase-3 », *J. Cell. Physiol.*, vol. 187, n° 2, p. 176-187, mai 2001, doi: 10.1002/jcp.1066.
- [44] C. Tang *et al.*, « Glucose-Induced  $\beta$ -Cell Dysfunction In Vivo: Evidence for a Causal Role of C-jun N-terminal Kinase Pathway », *Endocrinology*, vol. 159, n° 11, p. 3643-3654, nov. 2018, doi: 10.1210/en.2018-00566.
- [45] A. T. Templin *et al.*, « Apoptosis Repressor With Caspase Recruitment Domain Ameliorates Amyloid-Induced  $\beta$ -Cell Apoptosis and JNK Pathway Activation », *Diabetes*, vol. 66, n° 10, p. 2636-2645, oct. 2017, doi: 10.2337/db16-1352.

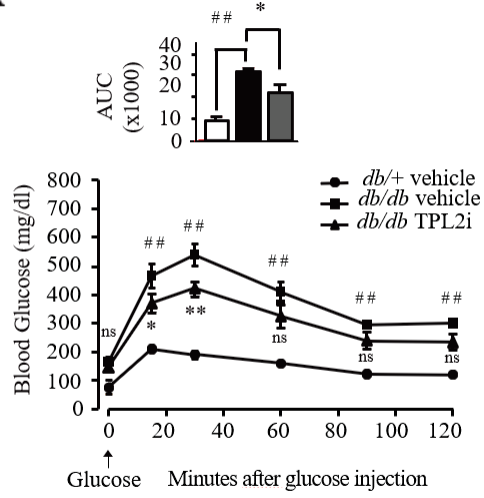
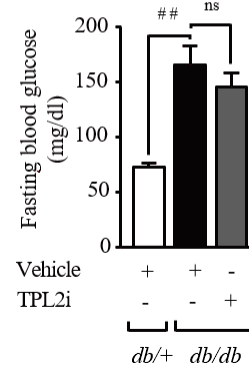
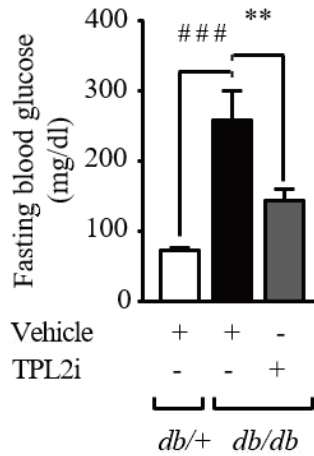
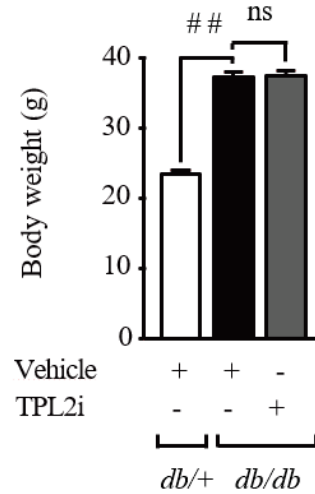
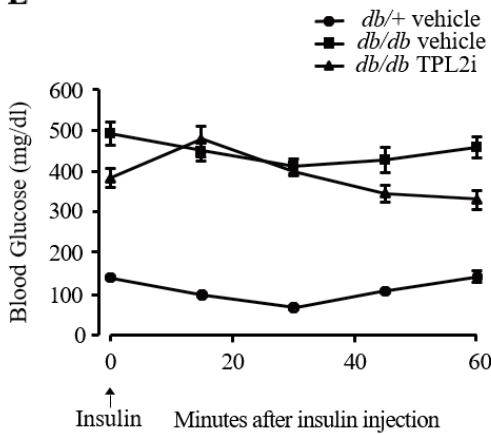
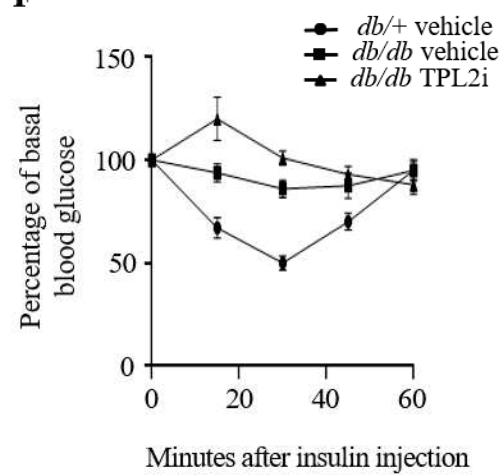
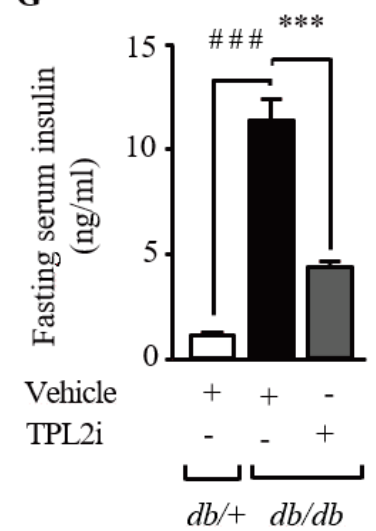


## FIGURES

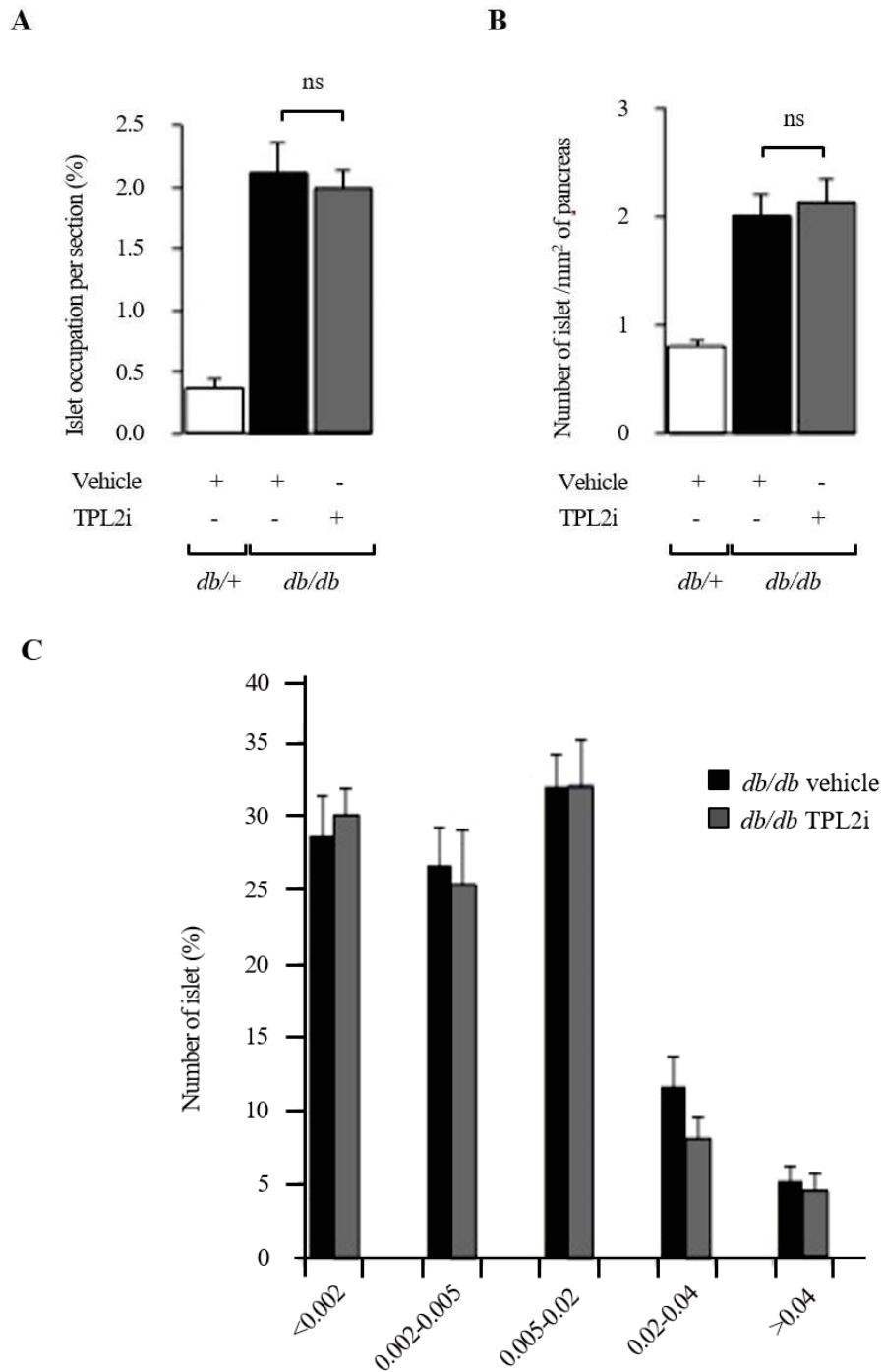


**FIG. 1.** TPL2 protein is overexpressed in diabetes conditions. Representative immunoblots and quantifications of three to six independent experiments are shown, and expressed as means  $\pm$  SEM of both isoforms to TPL2 (TPL2<sub>L</sub> and TPL2<sub>S</sub>) on  $\beta$ -actin protein amount ratio detected by Western blotting in (A) GK rat islets and (B) *db/db* mice islets. White bars represent control and black bars treated conditions. \*\* $P < 0.01$  and \*\*\* $P < 0.001$ .

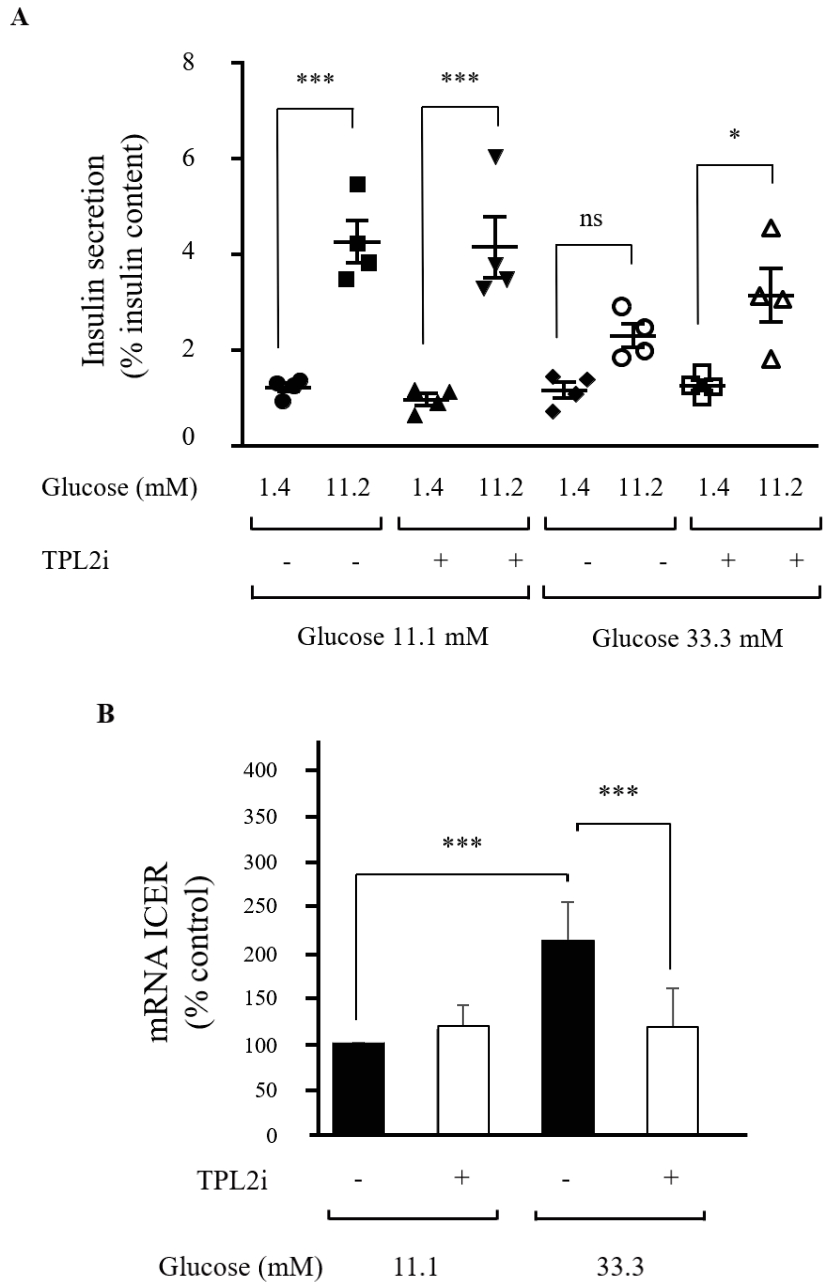


**A****B****C****D****E****F****G**

**FIG. 2.** Metabolic parameters of *db/db* mice after a treatment to TPL2 inhibitor. After 1 week of treatment with TPL2 inhibitor or vehicle, (A) glucose tolerance with area under curves (AUC) and (B) fasting blood glucose in *db+* and *db/db* mice were measured. After 2 weeks of treatment, (C) fasting blood glucose, (D) body weight, (E-F) brut data and results transformed in percent of insulin tolerance and (G) fasting serum insulin were measured in *db+* and *db/db* mice. White bars corresponding to *db+*, black bars represent *db/db* control to inhibitor and grey bars represent *db/db* treated with TPL2 inhibitor. Means  $\pm$  SEM for five mice in each group are presented. # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  *db/db* vehicle-treated mice vs *db+* mice, and \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  *db/db* Tpl2i-treated mice vs *db/db* vehicle-treated mice. ns: not significant.

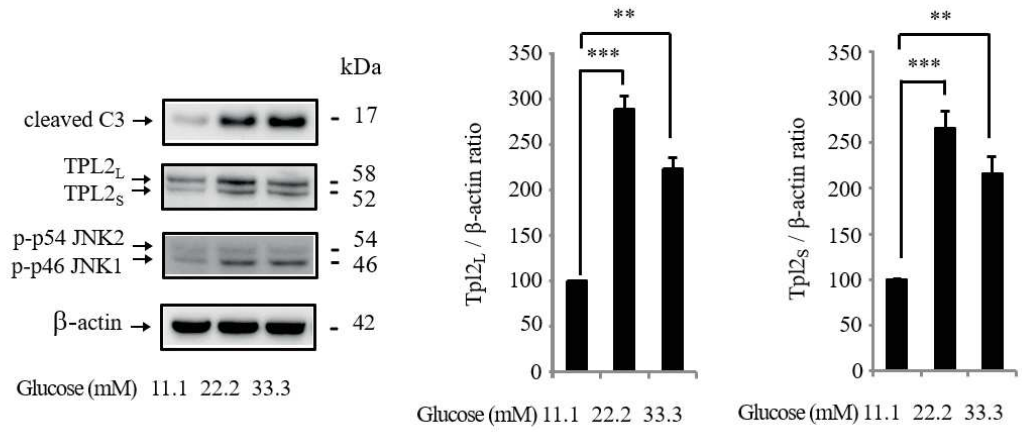


**FIG. 3** Morphometric histological analysis of pancreatic sections of *db/db* mice treated by TPL2 inhibitor. (A) The occupation, (B) the number and (C) the size of islets were measured on pancreatic sections of *db/db* mice treated with TPL2 inhibitor. White bars corresponding to *db/+*, black bars represent *db/db* control to inhibitor and grey bars represent *db/db* treated with TPL2 inhibitor. ns: not significant.

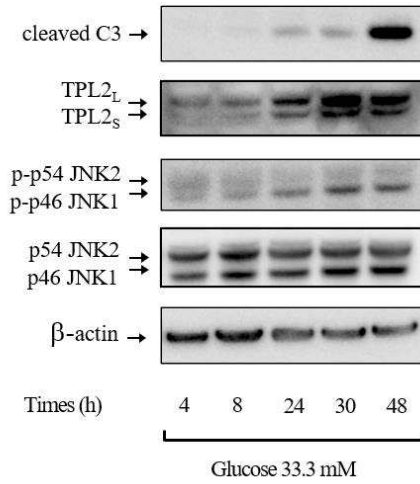


**FIG. 4.** TPL2 inhibition improved the  $\beta$ -cell function. **(A)** Glucose-stimulated insulin secretion in percentage of insulin content with 1.4 mM and 11.2 mM glucose stimulation and **(B)** mRNA level of *Icer* were measured in INS-1E cells treated with or without the TPL2 inhibitor (TPL2i, 3  $\mu$ M) under chronic hyperglycemia (33.3 mM glucose for 48 h). Each column represents the mean  $\pm$  SEM of four independent experiments. \* $P < 0.05$ , and \*\*\* $P < 0.001$ . ns: not significant.

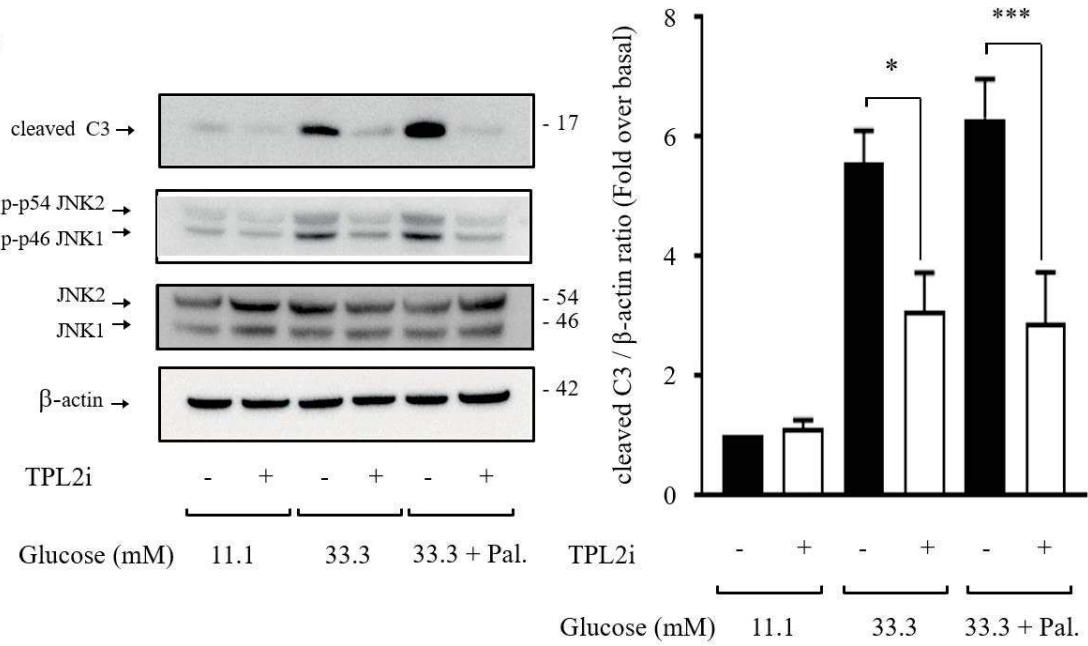
**A**



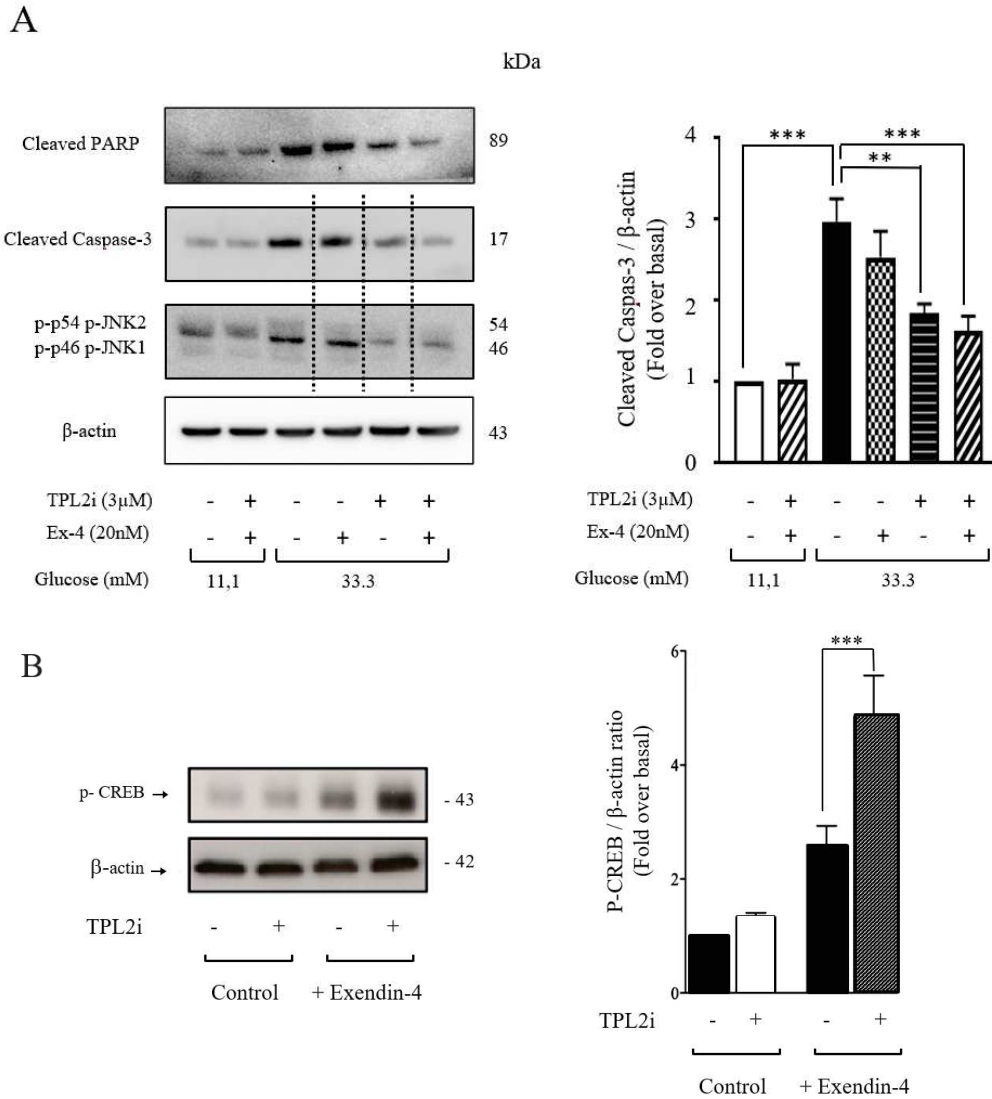
**B**



**C**



**FIG. 5.** TPL2, Cleaved Caspase-3, phospho-JNK1/2 and JNK1/2 protein expression overexpressed in INS-1E  $\beta$ -cells exposed to diabetogenic conditions.  $\beta$ -actin levels were used as loading control. Levels of Cleaved Caspase-3, both isoforms to TPL2 (TPL2<sub>L</sub> and TPL2<sub>S</sub>), phosphorylated proteins for JNK1 (p-p46 JNK1), JNK2 (p-p54 JNK2) in INS-1E cells, **(A)** under 48h exposure at different concentrations of glucose (11.1 mM, 22.2 mM or 33.3 mM), **(B)** under 33.3 mM of glucose at different times (4, 8, 24, 30 and 48 h) and **(C)** under glucolipotoxicity conditions for 48 h (33.3 mM glucose and 0.5 mM palmitate) treated with or without the TPL2 inhibitor (TPL2i, 3  $\mu$ M). Representative immunoblots and quantifications between three to nine independent experiments are shown. Data are presented as the means  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .



**FIG. 6.** Combined use of TPL2 inhibitor and Exendin-4 on the survival INS-1E  $\beta$ -cells. **(A)** Cleaved Caspase-3 and Cleaved PARP protein expression were detected by Western blotting in INS-1E cells exposed to chronic hyperglycemia (33.3 mM glucose) and treated with or without TPL2 inhibitor (3  $\mu$ M) and with or without Exendin-4 (Ex-4, 20 nM). **(B)** Phospho-CREB protein expression treated 2 h with TPL2 inhibitor and stimulated 20 min with Exendin-4. Representative immunoblots and quantification of three to six independent experiments are shown. Data are presented as the means  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

### Résultats complémentaires :

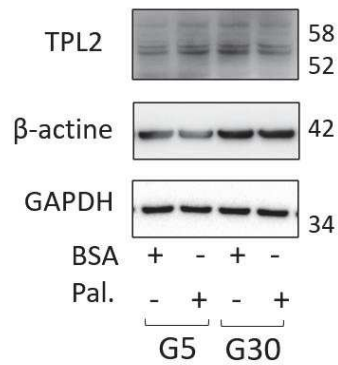
En complément de cet article sont ajoutés :

- **L'expression protéique de TPL2 sur un modèle d'îlots pancréatiques humains.**

Les îlots humains utilisés dans nos expériences sont issus de trois donneurs non obèses et non diabétiques. Ils ont été isolés au laboratoire de thérapie cellulaire du diabète (IRMB, St-Eloi, LTCD-PRIMS, Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, Montpellier). Les îlots ont été cultivés pour récupération pendant 3 à 5 jours après isolement à 37°C (95% O<sub>2</sub> et 5% CO<sub>2</sub>) dans un milieu CMRL 1066 (Mediatech, Herndon, VA) contenant 5.6 mmol/L de glucose et supplémenté avec 10% de FBS, 100 UI/mL de pénicilline, 100 mg/mL de streptomycine et 2 mM de glutamine, avant traitement puis récoltés comme décrit dans l'article Ruiz et al. 2018.

Nous avons exposé de manière chronique les îlots humains à un stress induit par des nutriments telles que l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie. Une des trois expériences montre clairement une augmentation des deux isoformes de TPL2 (TPL2<sub>L</sub> et TPL2<sub>S</sub>) dans ces conditions (**Figure 7**), corrélée à une augmentation de l'expression de la caspase 3 clivée (Blot caspase 3 clivée publié dans Ruiz et al. 2018). Sur les autres expériences, la quantification de l'expression de TPL2 par western blot est difficile mais semble soutenir ce résultat puisque la surexpression de TPL2 est moindre lorsque la caspase 3 clivée est moins exprimée. Il semblerait donc, comme l'étude *in vitro* sur la lignée INS-1E et *ex vivo* sur les modèles de rongeurs, que l'expression de TPL2 augmente dans ces conditions d'hyperglycémie et d'hyperlipidémie, associée la mort des îlots pancréatiques humains. Cependant, le nombre d'expériences est limité et, au vu de la diversité des individus (**Table 1**), il est nécessaire d'effectuer d'autres expériences dans ces conditions pour conclure avec certitude que le stress induit par des nutriments entraîne effectivement une augmentation de la kinase TPL2 associée à de la caspase 3 clivée dans les îlots humains.





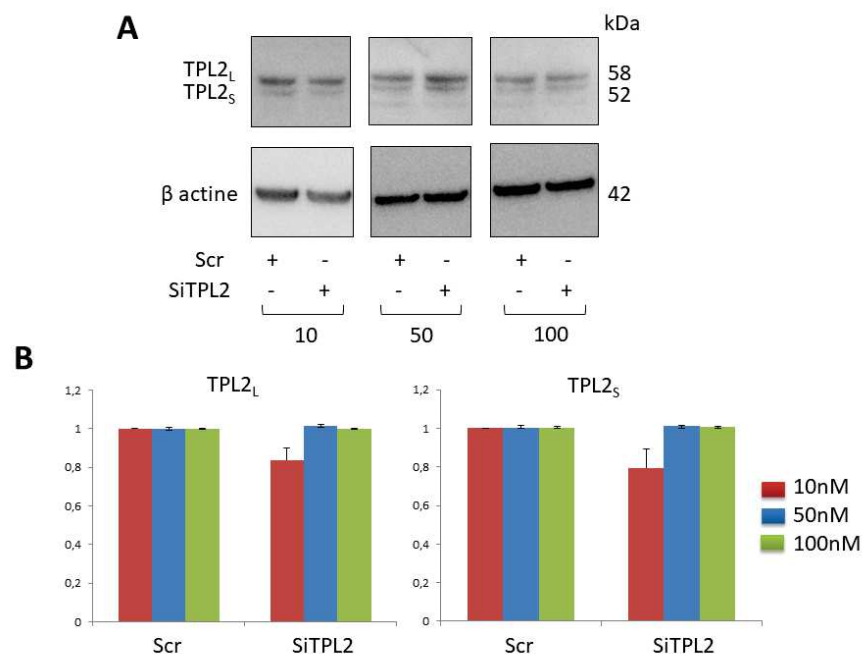
**Figure 7 :** Expression protéique des deux isoformes de TPL2 dans des îlots humains sous conditions de stress induit par un nutriment (hyperglycémie et hyperlipidémie). La  $\beta$ -actine et la GAPDH sont utilisées comme contrôles. Ce résultat est issu de trois expériences indépendantes avec trois donneurs différents.

Donneur	1	2	3
Sexe	Homme	Femme	Homme
Age (années)	66	74	36
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30.5	29.3	22.9
Antécédents médicaux	Hypertension et AVC	Hypertension et hypercholestérolémie	AVC

**Table 1 :** Caractéristiques des donneurs d'îlots humains.

- L'invalidation de TPL2 par siRNA.

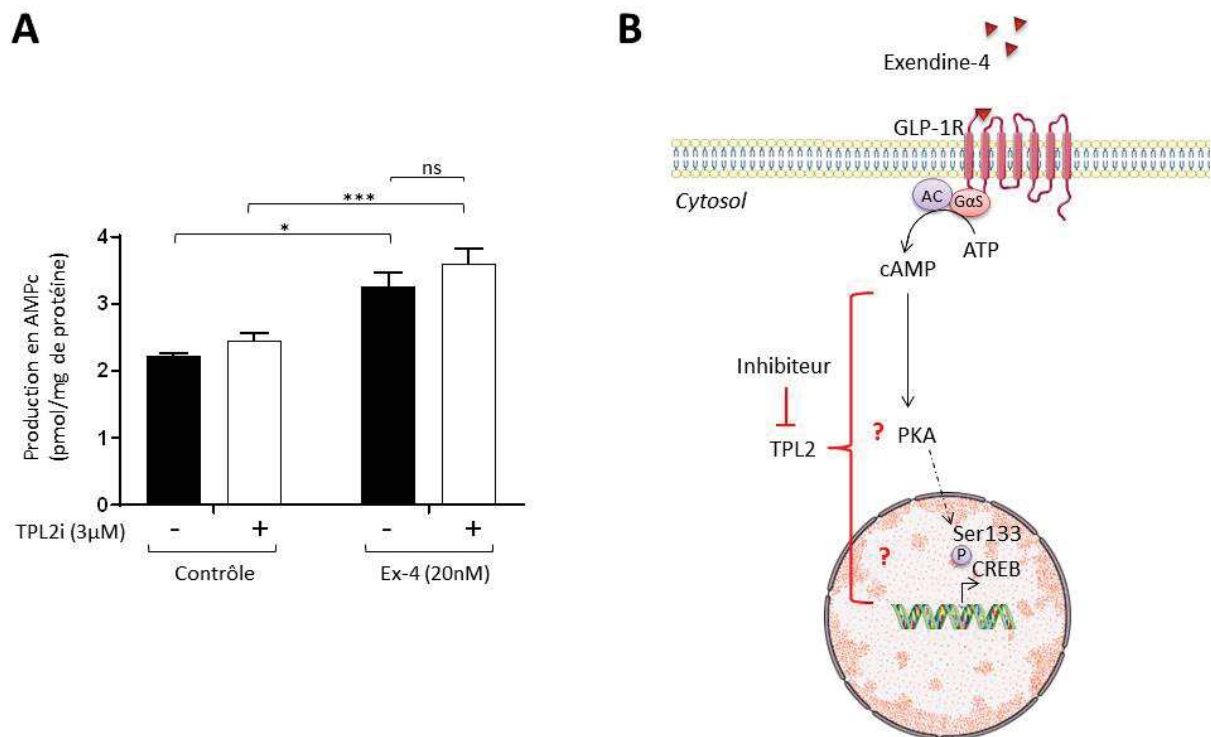
Nous voulions étudier, au-delà de l'inhibition, l'effet de l'invalidation de *Tpl2* sous hyperglycémie chronique dans la lignée  $\beta$  cellulaire INS-1E. Pour cela, nous avons utilisé la technique de transfection par siRNA provenant de chez Ambion (Références : Scr : 4390843 ; siTPL2 : 4390771). 24 h après ensemencement, les cellules INS-1E ont été transfectées (Lipofectamine 3000 dans milieu Opti-MEM). Le milieu a été remplacé 24 h après transfection par du milieu RPMI complet puis les cellules ont été lysées 72 h après transfection. Nous avons utilisé différentes concentrations de ce siRNA pour évaluer la meilleure concentration à utiliser pour nos expériences. La concentration la plus faible parmi celles testées, soit 10 nM, est la seule qui a induit une légère diminution de la protéine cible TPL2 avec une diminution d'environ 20% (**Figure 8**). Ce pourcentage est relativement bas, indiquant une faible efficacité de ce siRNA. Par conséquent, nous souhaitons tester d'autres siRNA ciblant le gène *Tpl2* provenant d'autres fournisseurs avant d'approfondir ces expériences et comparer les effets de l'invalidation de *Tpl2* à ceux de l'inactivation sur la mort et la fonction des cellules  $\beta$  induite par hyperglycémie chronique.



**Figure 8** : Invalidation de *Tpl2* par siRNA après 72 h de transfection à une concentration de 10, 50 et 100 nM. Quantifications (**B**) de l'expression protéique (**A**) des deux isoformes de TPL2 (TPL2<sub>L</sub> et TPL2<sub>S</sub>) obtenues par Western Blot (n = 3).

- La production en AMPc après traitement à l'inhibiteur de TPL2

Sur la figure 6 de l'article, nous avons montré que l'inhibition de TPL2 permet une augmentation de la réponse à l'Exendine-4 (Ex-4) sur des cellules  $\beta$  INS-1E saines, par l'étude du facteur de transcription CREB. Nous nous sommes interrogés sur le lien entre TPL2 et GLP-1. Et nous avons cherché à savoir à quel niveau TPL2 exerce-t-il son frein sur la signalisation du GLP-1 ? Pour cela, nous avons étudié la production d'AMPc dans ces mêmes conditions car d'après la littérature, la liaison du GLP-1 à son récepteur entraîne l'activation de l'adénylate cyclase via la protéine  $G\alpha_s$  permettant la transformation de l'ATP en AMPc (Light et al. 2002 ; Drucker 2018). Sur la figure 9A, nous n'observons pas d'augmentation de la production d'AMPc par le traitement à l'inhibiteur de TPL2, malgré l'effet positif de l'Ex-4 sur ces cellules (**Figure 9A**). Ces résultats suggèrent que l'effet de l'inhibiteur se produit en aval de l'adénylate cyclase (**Figure 9B**).



**Figure 9** : Effet de l'inhibiteur sur la signalisation du GLP-1. **(A)** Etude de la production de l'AMPc par HTRF après traitement à l'inhibiteur de TPL2 (3  $\mu$ M) suivi d'une stimulation à l'Ex-4 (20 nM) (n = 4). **(B)** Schéma indiquant l'effet potentiel de TPL2 sur la signalisation du GLP-1. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ . ns : non significatif.

- **La sécrétion d'insuline après traitement à l'inhibiteur de TPL2 dans les îlots murins soumis à un stress glucolipotoxique**

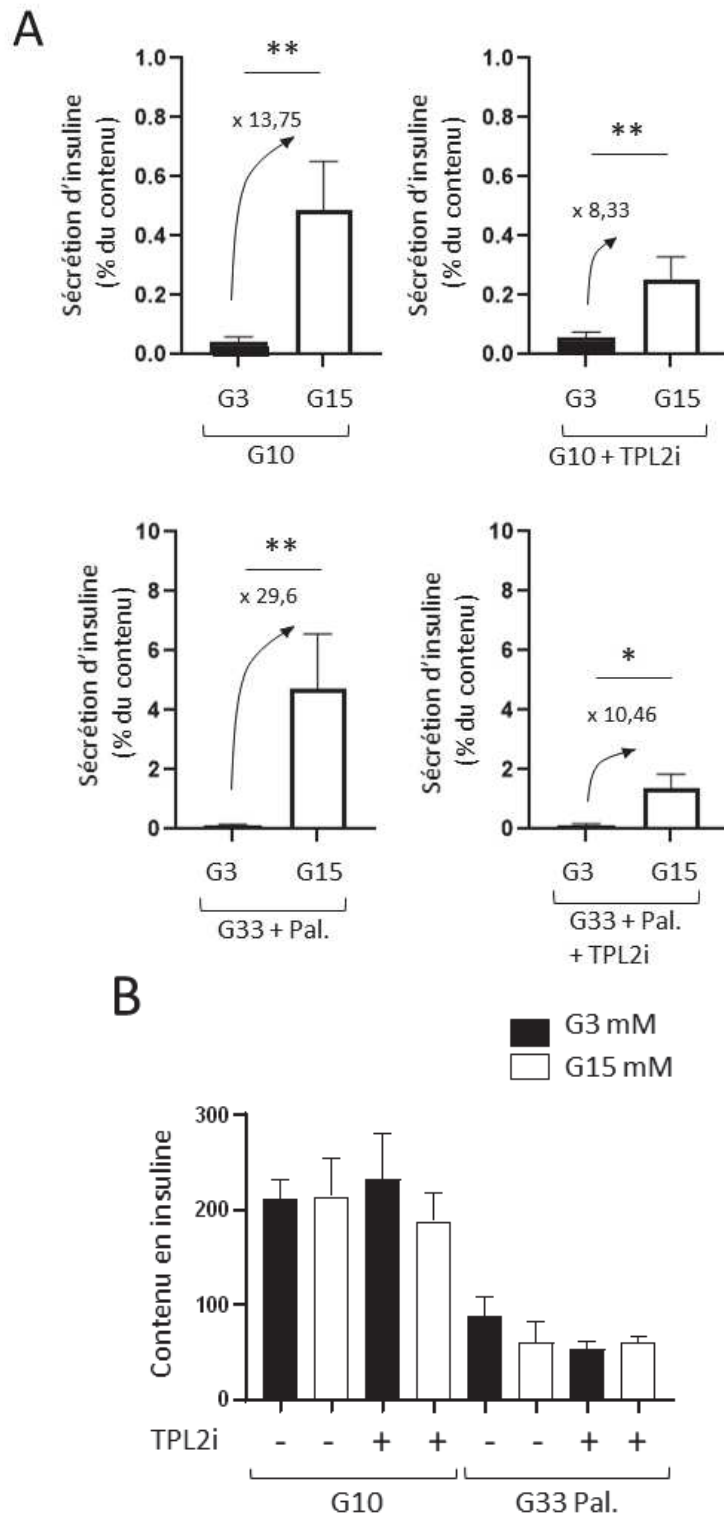
Après avoir étudié *in vitro* sur une lignée  $\beta$  cellulaire l'effet de l'inhibiteur de TPL2 sur la sécrétion d'insuline, il nous semblait indispensable de travailler sur des îlots primaires. Ce modèle est plus complexe car il est composé de plusieurs types cellulaires pouvant moduler la sécrétion d'insuline. Nous avons choisi d'utiliser des souris mâles C57BL/6J âgées de quatre à cinq mois. Après euthanasie, nous avons collecté les pancréas pour en récupérer les îlots après digestion de ces derniers à la collagénase.

Différentes conditions ont été testées sur ces îlots pancréatiques murins :

1. G10 BSA
2. G10 BSA + inhibiteur de TPL2
3. G30 Palmitate
4. G30 Palmitate + inhibiteur de TPL2

Une pré-incubation d'1 h en bas glucose (G3 mM) a permis de mettre les cellules au repos afin de mieux percevoir la sécrétion d'insuline lors de la stimulation au glucose. Enfin, chacun des groupes s'est vu divisé en deux pour que dans chaque condition, nous ayons des îlots stimulés à bas glucose (G3 mM) et d'autres à haut glucose (G15 mM). Après lyse et congélation, les îlots ont été soniqués puis dosés en utilisant la technique HTRF (cf M&M de l'article).

Nos résultats montrent une hypersécrétion de l'insuline dans des îlots pancréatiques murins soumis à une hyperglycémie et une hyperlipidémie. Le traitement à l'inhibiteur de TPL2 permet de diminuer d'environ 3x cette hypersécrétion d'insuline et ne module pas la sécrétion des îlots sains (**Figure 10A**). Le choix de montrer ces résultats sous ce format a été fait pour une meilleure lisibilité et compréhension des résultats puisque l'on observe un effondrement du contenu en insuline dans les conditions glucolipotoxiques (**Figure 10B**).



**Figure 10 :** Effet de l'inhibiteur sur la sécrétion d'insuline des îlots murins soumis à de l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie. **(A)** Sécrétion d'insuline représentée en pourcentage du contenu. Quatre conditions : avec ou sans glucolipotoxicité (G33 + Pal.) et avec ou sans inhibiteur de TPL2 (TPL2i, 3  $\mu$ M). **(B)** Représentation du contenu en insuline dans les conditions précédemment citées. 4 à 7 expériences par condition. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.01$ .

# DISCUSSION

---

## I. Etudes des mécanismes moléculaires impliqués dans la mort et la fonction des cellules $\beta$ pancréatiques induite par glucotoxicité

### 1. Expression de TPL2

Il a été décrit que la MAP3K8 TPL2 est exprimée dans plusieurs types cellulaires : adipocytes, macrophages (Jager et al. 2010) et cellules  $\beta$  pancréatiques et que son expression est augmentée par l'inflammation via un cocktail de trois cytokines pro-inflammatoires (Varin et al. 2016). Au travers de nos travaux, nous avons tout d'abord montré que l'expression de TPL2 est augmentée dans des îlots pancréatiques de modèles de rongeurs diabétiques (souris *db/db* et rat GK) qui sont deux modèles ayant une hyperglycémie et une dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques. L'originalité de ce projet a consisté à montrer qu'un nutriment, tel que le glucose, a la capacité d'induire une augmentation de la MAP3 kinase TPL2 dans les cellules  $\beta$  INS-1E, qui jusqu'à lors été connue pour être induite par des cytokines pro-inflammatoires. L'étude des îlots humains (partie « résultats complémentaires ») a soutenu nos résultats en montrant que l'induction de la caspase 3 clivée pourrait dépendre de la surexpression de TPL2 induite par un stress causé par des nutriments. Nous pourrions étudier l'expression de TPL2 au sein des autres types cellulaires de l'îlot (par immunomarquage par exemple) et déterminer son rôle dans ces cellules.

### 2. Inactivation pharmacologique de TPL2

Dans nos conditions, l'inhibiteur de TPL2 (3  $\mu$ M) n'affecte pas la sécrétion d'insuline en condition contrôle. L'hyperglycémie soutenue pendant 48 h dans les INS-1E entraîne une perte de sécrétion d'insuline induite par des concentrations stimulantes de glucose. Nous avons montré que l'inactivation pharmacologique de TPL2 permet d'améliorer partiellement la sécrétion d'insuline induite par le glucose dans ces conditions d'hyperglycémie chronique. L'étude mécanistique a permis de mettre en évidence l'implication d'ICER dans cette amélioration de la fonction puisque l'inhibition de TPL2 permet de réduire l'augmentation de l'ARNm d'*Icer* induite par l'hyperglycémie chronique dans le modèle INS-1E. *Icer*, qui est connu pour être un répresseur transcriptionnel de l'insuline (Amar Abderrahmani et al. 2006) qui

module l'expression de quatre gènes : les deux GTPases *Rab3a* et *Rab27a* et leurs effecteurs *Noc2* et *Slp4*, jouant un rôle dans la machinerie sécrétoire de l'insuline. Il serait intéressant d'étudier ces cibles afin d'en connaître davantage sur les mécanismes et voies de signalisation de TPL2.

Nos données *ex vivo* sur les îlots primaires de souris indiquent une hyperstimulation de la sécrétion d'insuline sous un stress glucolipotoxique. Une partie de la littérature montre que le stress que nous avons utilisé entraîne un effondrement de la sécrétion d'insuline *in vivo* (en accord avec nos données INS-1E) (Hall et al. 2019). Cependant, plusieurs études indiquent qu'avant cette perte de sécrétion d'insuline, les cellules  $\beta$  pancréatiques sont hyperstimulées. En effet le taux élevé du glucose entraîne une augmentation de la glycolyse engendrant une augmentation de l'excitabilité de la membrane plasmique. Ce mécanisme a pour conséquence une augmentation de l'entrée calcique qui déclenche et augmente la sécrétion d'insuline (Ahrén et al. 2005 ; Nichols et Remedi 2012), comme montré dans la partie « résultats complémentaires » avec une hypersécrétion de l'insuline associée à un effondrement de son contenu en utilisant le modèle d'îlots isolés murins (Shyr et al. 2019). Pour retrouver l'effondrement de la sécrétion d'insuline qui correspond à la dysfonction des cellules  $\beta$  causée par le stress glucotoxique ou glucolipotoxique, et dépasser cette étape de compensation des cellules  $\beta$  pour combattre l'hyperglycémie, nous pouvons augmenter le temps pendant lequel les îlots sont soumis à ces stress. Il ne faut pas oublier qu'à la différence de *in vitro*, *in vivo* possède de nombreux autres facteurs pouvant induire la perte de la sécrétion d'insuline, c'est pourquoi il peut être délicat d'obtenir *in vitro* sur un modèle d'îlots de souris cette perte de sécrétion.

De plus, ce projet a permis de montrer que l'augmentation de TPL2 était corrélée à celles de deux isoformes de JNK (p-p54 JNK2 et p-p46 JNK1) et de la caspase 3 clivée, toutes trois impliquées dans la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques induite par glucotoxicité (Abdelli et al. 2007 ; Abderrahmani et al. 2007). Une cinétique a montré la mise en place de ces protéines au cours du temps. L'inactivation pharmacologique de TPL2 permet de réduire la perte de la masse des cellules  $\beta$  pancréatiques par une diminution de l'apoptose induite par hyperglycémie chronique. Il est vraisemblable de penser qu'une amélioration de la survie de ces cellules et la diminution de l'environnement diabétogène est essentiel pour un meilleur fonctionnement de ces cellules (Tomita 2016 ; Bensellam et al. 2012).

Plusieurs équipes travaillant sur TPL2 montrent ces effets dans la mort induite par l'inflammation (Varin et al. 2016 ; Tanti et Jager 2009). Notre étude a permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques médiées par le stress induit par des nutriments (glucotoxicité et glucolipotoxicité). Certaines équipes montrent que l'inhibition de MAPKs permet de réduire la mort et la dysfonction des cellules  $\beta$  (Mazzoli et al. 2021 ; Wei et al. 2018). Cependant, en inhibant une MAP3K qui est en amont des MAPKs, nous nous attendons à un effet plus puissant, permettant de toucher un plus grand nombre de voies de signalisation. Des études complémentaires de ces mécanismes *in vitro*, en aval mais également en amont de TPL2 est nécessaire. Nous pourrions étudier, dans un premier temps, les protéines activatrices et régulatrices de TPL2 telles que IKK $\beta$  ou NF $\kappa$ B dans ces conditions diabétogènes.

## II. Combinaison thérapeutique avec inhibiteur de TPL2 et agoniste du récepteur GLP-1.

### 1. Combinaison thérapeutique *in vitro*

Nous avons montré l'efficacité de la combinaison thérapeutique entre l'inhibiteur de TPL2 et l'agoniste du récepteur GLP-1 (Exendine-4) par une réduction de la caspase 3 clivée et de PARP clivée sous hyperglycémie chronique, qui sont deux protéines impliquées dans la mort des cellules par apoptose. La phosphorylation de CREB, protéine impliquée dans la survie et la fonction des cellules  $\beta$ , est augmentée dans des cellules traitées à l'inhibiteur de TPL2 puis stimulées à l'Ex-4 démontrant l'intérêt d'utiliser cette combinaison pour améliorer les effets bénéfiques des GLP-1RAs couramment utilisés en clinique dans le cadre du DT2.

Il serait également intéressant d'approfondir l'étude de la signalisation du récepteur du GLP-1 au sein de la cellule pancréatique soumise à de la glucotoxicité suite au traitement à l'inhibiteur de TPL2. Puisqu'il a été montré que l'hyperglycémie chronique entraîne une diminution de la signalisation du récepteur au GLP-1 via la PKA dans la cellule pancréatique (Rajan et al. 2015). Nos résultats sur la production en AMPc dans ces conditions montrent que TPL2 agit sur la voie de signalisation du GLP-1, en aval de l'adénylate cyclase. Ce résultat suggère que TPL2 n'agit pas directement sur l'adénylate cyclase et donc sur le récepteur GLP-1. Cependant, nous ne savons pas, dans nos conditions, si la quantité de récepteurs du GLP-1 est modifiée au niveau de la membrane plasmique ou si ce récepteur est plus ou moins



endocyté et redirigé vers d'autres organites. Il serait donc intéressant d'étudier non seulement sa localisation subcellulaire mais également les protéines en aval de l'adénylate cyclase et en amont de CREB comme par exemple la PKA afin de mieux connaître les effets de TPL2 sur cette voie du GLP-1R. Pour aller plus loin dans cette étude, il serait intéressant de tester d'autres GLP-1RAs que l'Ex-4 afin de déterminer le(s)quel(s) possède(nt) des effets plus importants sur la survie et la masse des cellules  $\beta$ .

## 2. Combinaison thérapeutique *in vivo*

Dans ce projet, nous avons utilisé les souris *db/db* comme modèle de diabète de type 2. Ces souris ont pour avantages de développer rapidement un diabète avec une hyperglycémie chronique qui se manifeste suite à une insulino-résistance et une perte de fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques. Les avantages de ce modèle sont économiques, avec une facilité et une rapidité d'utilisation (Wang et Brubaker 2002). Cependant, le modèle de souris *db/db* est de plus en plus discuté. Des études ont montré que ces souris n'ont pas toujours le même phénotype malgré leur mutation génétique du récepteur à la leptine et certaines ne développent pas de diabète. De plus, ces souris sont également obèses, ajoutant un facteur confondant à celui du DT2 que nous étudions. Nous nous questionnons donc sur le modèle adéquat pour utiliser la nouvelle combinaison thérapeutique que nous avons imaginés : inhibiteur de TPL2 et GLP-1RA. Le modèle du rat GK présente de nombreux avantages. Celui-ci développe spontanément un diabète de type 2 qui est représenté par une hyperglycémie chronique et un défaut de sécrétion d'insuline dès 8 semaines de vie, sans le facteur confondant « obésité » (Bernard Portha et al. 1991). L'altération de la sécrétion d'insuline, dans ce modèle est causée, en partie par une diminution du transport du glucose de la production d'ATP et de l'exocytose d'insuline ; mécanismes qui se retrouvent dans les cellules  $\beta$  humaines issues de patients diabétiques de type 2 (Rutter et al. 2015 ; Petrenko et al. 2020). De plus, ce modèle développe également les comorbidités associées au diabète chez l'Homme tels que des complications microvasculaires, nerveuses, cardiaques ou rénales (Nagao et al. 2020), faisant des rats GK un modèle pertinent dans notre étude. Par rapport à la souris *db/db*, le désavantage concernant ce modèle se réfère au coût (prix des cages, des emplacements mais également au niveau des quantités de substances à injecter) et à l'espace qu'il prend par rapport au premier. L'utilisation d'un autre modèle serait également avantageuse dans le sens où l'on verrait les

effets de l'inhibiteur de TPL2 sur un modèle supplémentaire qui est en plus diabétique non obèse.

Les effets relatés de l'inhibition de TPL2 sur l'inflammation nous mènent à penser que cette nouvelle stratégie peut être utilisée dans le cadre du DT1. Pour cela, nous pourrions étudier les effets de l'inhibiteur de TPL2, combiné (ou non) avec un GLP-1RA, sur des souris NOD (Non-Obese Diabetic) qui est un modèle de souris diabétiques non obèses possédant de nombreuses caractéristiques communes du diabète de type 1 humain. En effet, ce modèle de souris développe spontanément le DT1 et a permis de déterminer les rôles des cellules de l'immunité innée et des cellules  $\beta$  pancréatiques dans la pathogénèse du DT1 (Pearson et al. 2016).

# PERSPECTIVES

---

## I. Etudes des mécanismes moléculaires impliqués dans la mort et la fonction des cellules $\beta$ pancréatiques induite par glucotoxicité

### 1. Invalidation vs inactivation

Au cours de notre projet nous avons été confrontés à quelques difficultés et notamment par l'utilisation de l'inhibiteur de TPL2 qui n'est pas toujours idéale selon la technique utilisée. En effet, pour des techniques d'immunomarquage, la coloration intrinsèque de l'inhibiteur de TPL2 ne permettait pas de conclure suite aux artéfacts engendrés. Nous avons décidé d'utiliser des techniques d'invalidation de TPL2 par siRNA, afin d'étudier l'impact de l'absence de TPL2 dans la cellule  $\beta$  en conditions saine et sous hyperglycémie chronique. Cependant, comme indiqué dans la partie « résultats complémentaires » de ce manuscrit, nous n'avons pas réussi à invalider TPL2 de manière significative par nos outils. Dans la littérature, certaines équipes utilisent la technique de siRNA et montrent une invalidation de TPL2 autour de 30%. Pour avoir des effets probants, nous souhaitons avoir au moins 50% de diminution de l'expression de TPL2 avant de continuer ces expériences en condition glucotoxique. C'est pourquoi, pour la suite de ce projet, il serait intéressant d'invalider TPL2 de manière différente. Pour cela, nous avons imaginé utiliser un vecteur viral permettant de répliquer en continue une séquence permettant d'empêcher l'activation de TPL2. Dans cette idée, nous utiliserons les petits ARNs en épingle à cheveux (shRNA) exprimés par le biais de vecteurs viraux (lentivirus) (Moore et al. 2010). Cette technique d'invalidation possède plusieurs avantages avec dans un premier temps, le taux faible de dégradation de ces ARNs et leur bonne stabilité, puis l'utilisation du lentivirus permet d'intégrer le shRNA dans des portions transcriptionnellement actives de la chromatine permettant de transmettre ce shRNA à la descendance de la cellule. En théorie, l'invalidation devrait être quasi-totale puisque la quantité de shRNA se ferait en permanence et pourrait bloquer l'ensemble des transcrits. Avec cette méthode, nous pourrions comparer les effets de l'invalidation de TPL2 par rapport son inhibition pharmacologique dans notre thématique.

### 2. Effets de l'inhibition de TPL2 sur différentes voies de signalisation

Pour compléter notre étude, il serait intéressant d'étudier les effets de l'inhibition de TPL2 sur des éléments indispensables de la cellule  $\beta$  pancréatique tel que le calcium car il a été

montré que TPL2 permet d'augmenter le calcium cytosolique via les signalisations de Rac et Fac (Hatziaoupostolou et al. 2011). En plus de contrôler la sécrétion d'insuline en jouant sur l'exocytose des granules d'insuline dépendante du calcium, le calcium affecte les différents organites (RE, mitochondries, appareil de Golgi) de la cellule et impacte les granules de sécrétion et les lysosomes (Gilon et al. 2014). Nous savons que l'activité électrique qui module le flux calcique au sein de la cellule  $\beta$  est modulé par des conditions glucotoxiques et que le calcium joue un rôle fondamental dans la cellule. L'activité électrique qui contrôle le calcium est stimulée par de nombreux agents tels que le glucose, des aa, des hormones ou encore des agents pharmacologiques (sulfonylurées, glinides) (Rorsman et Ashcroft 2018) et pourrait donc être modulé par les effets de l'inhibition de TPL2 qui touche de nombreuses voies cellulaires.

## II. Combinaison thérapeutique avec inhibiteur de TPL2 et agoniste du récepteur GLP-1.

### 1. *In vivo*

Plusieurs études ont montré l'effet de l'inhibiteur de TPL2 que nous avons utilisés sur différents types cellulaires : macrophages, cellules cancéreuses, adipocytes... ; indiquant que cet inhibiteur n'est pas spécifique aux cellules  $\beta$ , il agit sur l'ensemble des tissus et types cellulaires. Il serait donc intéressant, au-delà de l'étude de la survie et la fonction des îlots pancréatiques, d'étudier les effets de la combinaison thérapeutique sur les tissus cibles de l'insuline. Les GLP-1RAs ont des effets anti-diabétiques et anti-inflammatoires sur l'organisme : ils améliorent la sensibilité à l'insuline et diminuent la stéatose hépatique non alcoolique en réduisant le poids de l'individu (Zhou et al. 2019). Les GLP-1RAs agissent sur de nombreux tissus et types cellulaires, tout comme l'inhibiteur de TPL2 qui agit sur les hépatocytes, les adipocytes, les cellules  $\beta$  pancréatiques et autres. Les effets de ces deux molécules pourraient donc être complémentaires, comme nous l'avons identifié dans les cellules  $\beta$  pancréatiques.

Dans l'introduction de ce manuscrit, nous avons pu voir qu'il existe plusieurs inhibiteurs de TPL2 et que certains ont déjà été testé *in vivo*. Il serait intéressant de tester et comparer leur efficacité dans notre problématique, en le combinant à un GLP-1RA en choisissant des expériences clefs. Nous avons pu voir qu'un des inhibiteurs de TPL2 est pris oralement à la différence de celui que nous avons étudié qui est injectable. Ceci représente un avantage majeur et nécessite d'être étudié plus profondément.

## 2. En clinique

Toutes nos recherches fondamentales sont conçues pour être translationnelles et permettre d'amener de nouvelles stratégies thérapeutiques pour la clinique. Nous réfléchissons d'ores et déjà à la mise en place potentielle d'un traitement de ce type pour des patients diabétiques qui n'arrivent pas à obtenir un bon contrôle glycémique. Ce traitement pourrait viser à une réduction de l'hyperglycémie chronique des patients DT2 qui sont ou non traités aux GLP-1RAs. La stratégie d'inhiber TPL2 chez des patients DT1 a également sa place, puisqu'il a été montré qu'en plus de son rôle sur la survie et la fonction des cellules  $\beta$  (Varin et al. 2016), un des rôles de TPL2 est de moduler l'inflammation, qui est une composante importante dans le DT1. Et cela est renforcé par le fait que certains patients DT1 (en surpoids ou obèses) sont traités avec des thérapies non insuliniques (GLP-1RAs, iDPP-4, iSGLT) en plus de leurs injections quotidiennes d'insuline lorsque le contrôle glycémique n'est pas atteint. Cependant ces traitements, en plus de leurs effets indésirables, ont des effets bénéfiques modestes et limités dans le temps. C'est pourquoi ils méritent d'être améliorés ou remplacés (Frandsen et al. 2018).

Pour la suite de ce projet, il sera nécessaire d'étudier la pharmacologie, la pharmacocinétique et la toxicologie des molécules utilisées. Pour l'inhibiteur de TPL2 que nous avons utilisé, certaines questions ont déjà des réponses puisque la pharmacologie de cet inhibiteur a été étudié par le groupe Gavrin et al (Gavrin et al. 2005). De plus, nous avons montré les bénéfices *in vivo* dans le cadre du diabète de type 2 par l'utilisation des souris *db/db*, avec une amélioration de la glycémie sans modification du poids après deux semaines de traitement à une dose de 2.5 mg/kg. L'insulinémie est également réduite sans modifier la sensibilité à l'insuline. D'autres études, menées par d'autres équipes montrent que l'utilisation de l'inhibiteur de TPL2 permet d'améliorer la colite chez les rongeurs mimant les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Lawrenz et al. 2012). Cependant, il reste tout de même des études de pharmacocinétique (vitesse de diffusion dans l'organisme, mode de transformation et élimination de la molécule ainsi que son devenir) à effectuer pour la suite de ce projet.

## CONCLUSION

---

En conclusion, nos travaux ont permis de montrer qu'un nutriment tel que le glucose régule l'expression de la MAP3K8 TPL2. Cette kinase est connue pour induire la mort et la dysfonction de différents types cellulaires sous cytokines inflammatoires. Nous avons montré que la surexpression de TPL2 par l'hyperglycémie chronique dans les cellules  $\beta$  entraîne l'activation de marqueur de l'apoptose tels que JNK1/2 et caspase 3 clivée. Ces résultats sont associés à la dysfonction de la cellule  $\beta$ . L'inhibition pharmacologique de TPL2 permet de réduire l'apoptose et la dysfonction des cellules  $\beta$  en réduisant l'augmentation de l'expression des marqueurs d'apoptose précédemment cités et l'ARNm d'*Icer* qui un répresseur transcriptionnel de l'insuline. *In vivo*, nous avons montré les effets bénéfiques de l'inhibition de TPL2 sur l'hyperglycémie chronique et l'insulinémie sans modifier le poids des souris *db/db*. La combinaison thérapeutique d'un inhibiteur de TPL2 et un agoniste du récepteur GLP-1 empêche totalement la mise en place de l'apoptose induite par hyperglycémie chronique par la réduction de l'expression de PARP clivée et caspase 3 clivée. L'ensemble de ces résultats plaide en faveur de cette nouvelle stratégie pour lutter contre le DT2.

Ce projet ouvre de nouvelles perspectives qui permettront une meilleure compréhension des mécanismes afin d'améliorer la survie et la fonction des cellules  $\beta$ . Les expériences *in vivo* en utilisant la combinaison thérapeutique sont à effectuer pour étudier les effets sur l'organisme entier en effectuant des études de pharmacocinétique.

## BIBLIOGRAPHIE

---

Aamodt, Kristie I., et Alvin C. Powers. 2017. « Signals in the Pancreatic Islet Microenvironment Influence  $\beta$ -Cell Proliferation: AAMODT ET AL. » *Diabetes, Obesity and Metabolism* 19 (septembre): 124-36. <https://doi.org/10.1111/dom.13031>.

Abdelli, S., A. Abderrahmani, B. J. Hering, J. S. Beckmann, et C. Bonny. 2007. « The C-Jun N-Terminal Kinase JNK Participates in Cytokine- and Isolation Stress-Induced Rat Pancreatic Islet Apoptosis ». *Diabetologia* 50 (8): 1660-69. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0704-2>.

Abdelli, S., J. Puyal, C. Biemann, V. Buchillier, A. Abderrahmani, P. G. H. Clarke, J. S. Beckmann, et C. Bonny. 2009. « JNK3 Is Abundant in Insulin-Secreting Cells and Protects against Cytokine-Induced Apoptosis ». *Diabetologia* 52 (9): 1871-80. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1431-7>.

Abderrahmani, A., G. Niederhauser, D. Favre, S. Abdelli, M. Ferdaoussi, J. Y. Yang, R. Regazzi, C. Widmann, et G. Waeber. 2007. « Human High-Density Lipoprotein Particles Prevent Activation of the JNK Pathway Induced by Human Oxidised Low-Density Lipoprotein Particles in Pancreatic Beta Cells ». *Diabetologia* 50 (6): 1304-14. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0642-z>.

Abderrahmani, Amar, Séverine Cheviet, Mourad Ferdaoussi, Thierry Coppola, Gérard Waeber, et Romano Regazzi. 2006. « ICER Induced by Hyperglycemia Represses the Expression of Genes Essential for Insulin Exocytosis ». *The EMBO Journal* 25 (5): 977-86. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601008>.

Abdurela, Midhat H., RaynerRodriguez-Diaz, Over Cabrera, Alejandro Caicedo, et Per-Olof Berggren. 2016. «The Different Faces of the Pancreatic Islet ». *Adv Exp Med Biol* 938 : 11-24. [https://doi.org/10.007/978-3-319-39824-2\\_2](https://doi.org/10.007/978-3-319-39824-2_2)

Abedini, Andisheh, Julia Derk, et Ann Marie Schmidt. 2018. « The Receptor for Advanced Glycation Endproducts Is a Mediator of Toxicity by IAPP and Other Proteotoxic Aggregates: Establishing and Exploiting Common Ground for Novel Amyloidosis Therapies: RAGE-Mediated Proteotoxicity in Diabetes and Amyloidosis Diseases ». *Protein Science* 27 (7): 1166-80. <https://doi.org/10.1002/pro.3425>.

Acuff, Nicole V., Xin Li, Rebecca Kirkland, Tamas Nagy, et Wendy T. Watford. 2015. « Tumor Progression Locus 2 Differentially Regulates IFN $\gamma$  and IL-17 Production by Effector CD4+ T Cells in a T Cell Transfer Model of Colitis ». Édité par Derya Unutmaz. *PLOS ONE* 10 (3): e0119885. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119885>.

Aguilar-Bryan, Lydia, et Joseph Bryan. 2008. « Neonatal Diabetes Mellitus ». *Endocrine Reviews* 29 (3): 265-91. <https://doi.org/10.1210/er.2007-0029>.

Aharoni-Simon, Michal, Rose Shumiatcher, Anthony Yeung, Alexis Z. L. Shih, Vernon W. Dolinsky, Christine A. Doucette, et Dan S. Luciani. 2016. « Bcl-2 Regulates Reactive Oxygen Species Signaling and a Redox-Sensitive Mitochondrial Proton Leak in Mouse Pancreatic  $\beta$ -Cells ». *Endocrinology* 157 (6): 2270-81. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1964>.

Ahlgren, U, J. Jonsson, L. Jonsson, K. Simu, et H. Edlund. 1998. « Beta-Cell-Specific Inactivation of the Mouse *Ipf1/Pdx1* Gene Results in Loss of the beta-Cell Phenotype and Maturity Onset Diabetes », *Gene dev.* (12):1763-8. <https://doi.org/10.1101/gad.12.12.1763>.

- Ahmann, Andrew J., Matthew Capehorn, Guillaume Charpentier, Francesco Dotta, Elena Henkel, Ildiko Lingvay, Anders G. Holst, Miriam P. Annett, et Vanita R. Aroda. 2018. « Efficacy and Safety of Once-Weekly Semaglutide Versus Exenatide ER in Subjects With Type 2 Diabetes (SUSTAIN 3): A 56-Week, Open-Label, Randomized Clinical Trial ». *Diabetes Care* 41 (2): 258-66. <https://doi.org/10.2337/dc17-0417>.
- Ahrén, B. 2000. « Autonomic Regulation of Islet Hormone Secretion - Implications for Health and Disease ». *Diabetologia* 43 (4): 393-410. <https://doi.org/10.1007/s001250051322>.
- Alejandro, Emilyn U., et James D. Johnson. 2008. « Inhibition of Raf-1 Alters Multiple Downstream Pathways to Induce Pancreatic  $\beta$ -Cell Apoptosis ». *Journal of Biological Chemistry* 283 (4): 2407-17. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703612200>.
- Alejandro, Emilyn U., Gareth E. Lim, Arya E. Mehran, Xiaoke Hu, Farnaz Taghizadeh, Dmytro Pelipeychenko, Manuela Baccarini, et James D. Johnson. 2011. « Pancreatic B-cell Raf-1 Is Required for Glucose Tolerance, Insulin Secretion, and *Insulin 2* Transcription ». *The FASEB Journal* 25 (11): 3884-95. <https://doi.org/10.1096/fj.10-180349>.
- Alenkvist, Ida, Nikhil R. Gandasi, Sebastian Barg, et Anders Tengholm. 2017. « Recruitment of Epac2A to Insulin Granule Docking Sites Regulates Priming for Exocytosis ». *Diabetes* 66 (10): 2610-22. <https://doi.org/10.2337/db17-0050>.
- Allagnat, Florent, Florian Alonso, David Martin, Amar Abderrahmani, Gérard Waeber, et Jacques-Antoine Haefliger. 2008. « ICER-1 $\gamma$  Overexpression Drives Palmitate-Mediated Connexin36 Down-Regulation in Insulin-Secreting Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 283 (9): 5226-34. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708181200>.
- Alnahdi, Arwa, Annie John, et Haider Raza. 2020. « Mitigation of Glucolipotoxicity-Induced Apoptosis, Mitochondrial Dysfunction, and Metabolic Stress by N-Acetyl Cysteine in Pancreatic  $\beta$ -Cells ». *Biomolecules* 10 (2): 239. <https://doi.org/10.3390/biom10020239>.
- Alves, Bryelle E.O., Allan K.N. de Alencar, Luis E.R. Gamba, Margarete M. Trachez, Jaqueline S. da Silva, Josenildo S.C. Araújo, Tadeu L. Montagnoli, et al. 2019. « Reduction of Cardiac and Renal Dysfunction by New Inhibitor of DPP4 in Diabetic Rats ». *Pharmacological Reports* 71 (6): 1190-1200. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.07.005>.
- Ambery, Philip, Victoria E Parker, Michael Stumvoll, Maximilian G Posch, Tim Heise, Leona Plum-Moerschel, Lan-Feng Tsai, et al. 2018. « MEDI0382, a GLP-1 and Glucagon Receptor Dual Agonist, in Obese or Overweight Patients with Type 2 Diabetes: A Randomised, Controlled, Double-Blind, Ascending Dose and Phase 2a Study ». *The Lancet* 391 (10140): 2607-18. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30726-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30726-8).
- Andrali, Sreenath S., Megan L. Sampley, Nathan L. Vanderford, et Sabire Özcan. 2008. « Glucose Regulation of Insulin Gene Expression in Pancreatic  $\beta$ -Cells ». *Biochemical Journal* 415 (1): 1-10. <https://doi.org/10.1042/BJ20081029>.
- Aoki, M, F Hamada, T Sugimoto, S Sumida, T Akiyama, et K Toyoshima. 1993. « The Human Cot Proto-Oncogene Encodes Two Protein Serine/Threonine Kinases with Different Transforming Activities by Alternative Initiation of Translation. » *Journal of Biological Chemistry* 268 (30): 22723-32. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)41587-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)41587-6).



Arrojo e Drigo, Rafael, Stefan Jacob, Concha F. García-Prieto, Xiaofeng Zheng, Masahiro Fukuda, Hoa Tran Thi Nhu, Olga Stelmashenko, et al. 2019. « Structural Basis for Delta Cell Paracrine Regulation in Pancreatic Islets ». *Nature Communications* 10 (1): 3700. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11517-x>.

Ahrén, B. 2005. « Type 2 diabetes, insulin secretion and beta-cell mass ». *Curr Mol Med* 5:275-86. <https://doi.org/10.2174/1566524053766004>.

Atlas du diabète, 9<sup>ème</sup> édition, Société Francophone du Diabète. 2019. <https://diabetesatlas.org/fr/>.

Awad, Susanne F., Martin O'Flaherty, Julia Critchley, et Laith J. Abu-Raddad. 2018. « Forecasting the Burden of Type 2 Diabetes Mellitus in Qatar to 2050: A Novel Modeling Approach ». *Diabetes Research and Clinical Practice* 137 (mars): 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.11.015>.

Babu, Daniella A., Tye G. Deering, et Raghavendra G. Mirmira. 2007. « A Feat of Metabolic Proportions: Pdx1 Orchestrates Islet Development and Function in the Maintenance of Glucose Homeostasis ». *Molecular Genetics and Metabolism* 92 (1-2): 43-55. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2007.06.008>.

Babu, Geetha R., Wei Jin, Lourdes Norman, Michael Waterfield, Mikyoung Chang, Xuefeng Wu, Mingying Zhang, et Shao-Cong Sun. 2006a. « Phosphorylation of NF-KappaB1/P105 by Oncoprotein Kinase Tpl2: Implications for a Novel Mechanism of Tpl2 Regulation ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1763 (2): 174-81. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2005.12.010>.

Baeyens, L., S. Hindi, R. L. Sorenson, et M. S. German. 2016. «  $\beta$ -Cell Adaptation in Pregnancy ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 18 (septembre): 63-70. <https://doi.org/10.1111/dom.12716>.

Baig, Sonia, Muhammad Shabeer, Ehsan Parvaresh Rizi, Madhur Agarwal, Michelle H Lee, Delicia Shu Qin Ooi, Chelsea Chia, et al. 2020. « Heredity of Type 2 Diabetes Confers Increased Susceptibility to Oxidative Stress and Inflammation ». *BMJ Open Diabetes Research & Care* 8 (1): e000945. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2019-000945>.

Bailey, Clifford. 2020. « GIP analogues and the treatment of obesity-diabetes ». *J Peptides*. 125-170202. <http://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170202>.

Ballak, Dov B., Peter van Essen, Janna A. van Diepen, Henry Jansen, Anneke Hijmans, Tetsuya Matsuguchi, Helmut Sparrer, et al. 2014. « MAP3K8 (TPL2/COT) Affects Obesity-Induced Adipose Tissue Inflammation without Systemic Effects in Humans and in Mice ». Édité par Yan Chen. *PLoS ONE* 9 (2): e89615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089615>.

Barella, Luiz F., Mario Rossi, Lu Zhu, Yinghong Cui, Fang C. Mei, Xiaodong Cheng, Wei Chen, Vsevolod V. Gurevich, et Jürgen Wess. 2019. «  $\beta$  Cell-Intrinsic  $\beta$ -Arrestin 1 Signaling Enhances Sulfonylurea-Induced Insulin Secretion ». *Journal of Clinical Investigation* 129 (9): 3732-37. <https://doi.org/10.1172/JCI126309>.

Barlow, Jonathan, et Charles Affourtit. 2013. « Novel Insights into Pancreatic  $\beta$ -Cell Glucolipototoxicity from Real-Time Functional Analysis of Mitochondrial Energy Metabolism in INS-1E Insulinoma Cells ». *Biochemical Journal* 456 (3): 417-26. <https://doi.org/10.1042/BJ20131002>.

- Beith, Jennifer L., Emilyn U. Alejandro, et James D. Johnson. 2008. « Insulin Stimulates Primary  $\beta$ -Cell Proliferation via Raf-1 Kinase ». *Endocrinology* 149 (5): 2251-60. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1557>.
- Bensellam, M., L. Van Lommel, L. Overbergh, F. C. Schuit, et J. C. Jonas. 2009. « Cluster Analysis of Rat Pancreatic Islet Gene mRNA Levels after Culture in Low-, Intermediate- and High-Glucose Concentrations ». *Diabetologia* 52 (3): 463-76. <https://doi.org/10.1007/s00125-008-1245-z>.
- Bensellam, Mohammed, D. Ross Laybutt, et Jean-Christophe Jonas. 2012. « The Molecular Mechanisms of Pancreatic  $\beta$ -Cell Glucotoxicity: Recent Findings and Future Research Directions ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 364 (1-2): 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.08.003>.
- Bernard, Catherine, Marie-France Berthault, Catherine Saulnier, et Alain Ktorza. 1999. « Neogenesis vs. Apoptosis as Main Components of Pancreatic  $\beta$  Cell Mass Changes in Glucose-infused Normal and Mildly Diabetic Adult Rats ». *The FASEB Journal* 13 (10): 1195-1205. <https://doi.org/10.1096/fasebj.13.10.1195>.
- Bloomgarden, Zachary T. « American Diabetes Association Annual Meeting, June 2003 ». *Diabetes Care*. 2003. 26(10): 2941-46. <https://doi.org/10.2337/diacare.26.10.2941>.
- Boitard, Christian. 2012. « Pancreatic Islet Autoimmunity ». *La Presse Médicale* 41 (12): e636-50. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2012.10.003>.
- Boland, Brandon B., Christopher J. Rhodes, et Joseph S. Grimsby. 2017. « The Dynamic Plasticity of Insulin Production in  $\beta$ -Cells ». *Molecular Metabolism* 6 (9): 958-73. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.04.010>.
- Böni-Schnetzler, Marianne, Stéphanie P. Häuselmann, Elise Dalmas, Daniel T. Meier, Constanze Thienel, Shuyang Traub, Friederike Schulze, et al. 2018. «  $\beta$  Cell-Specific Deletion of the IL-1 Receptor Antagonist Impairs  $\beta$  Cell Proliferation and Insulin Secretion ». *Cell Reports* 22 (7): 1774-86. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.01.063>.
- Bonner-Weir, Susan, Deanna Deery, John L Leahy, et Gordon C Weir. 1989. « Compensatory Growth of Pancreatic P-Cells in Adult Rats After Short-Term Glucose Infusion » 38: 5.
- Bosco, D., M. Armanet, P. Morel, N. Niclauss, A. Sgroi, Y. D. Muller, L. Giovannoni, G. Parnaud, et T. Berney. 2010. « Unique Arrangement of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Cells in Human Islets of Langerhans ». *Diabetes* 59 (5): 1202-10. <https://doi.org/10.2337/db09-1177>.
- Bouwens, Luc, et Ilse Rooman. 2005. « Regulation of Pancreatic Beta-Cell Mass ». *Physiological Reviews* 85 (4): 1255-70. <https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2004>.
- Brereton, Melissa F., Michaela Iberl, Kenju Shimomura, Quan Zhang, Alice E. Adriaenssens, Peter Proks, Ioannis I. Spiliotis, et al. 2014. « Reversible Changes in Pancreatic Islet Structure and Function Produced by Elevated Blood Glucose ». *Nature Communications* 5 (1): 4639. <https://doi.org/10.1038/ncomms5639>.
- Brissova, Marcela, Michael J. Fowler, Wendell E. Nicholson, Anita Chu, Boaz Hirshberg, David M. Harlan, et Alvin C. Powers. 2005. « Assessment of Human Pancreatic Islet Architecture and Composition by Laser Scanning Confocal Microscopy ». *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 53 (9): 1087-97. <https://doi.org/10.1369/jhc.5C6684.2005>.

- Broca, Christophe, Julie Quoyer, Safia Costes, Nathalie Linck, Annie Varrault, Pierre-Marie Deffayet, Joël Bockaert, Stéphane Dalle, et Gyslaine Bertrand. 2009. «  $\beta$ -Arrestin 1 Is Required for PAC1 Receptor-Mediated Potentiation of Long-Lasting ERK1/2 Activation by Glucose in Pancreatic  $\beta$ -Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 284 (7): 4332-42. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807595200>.
- Bugliani, M., S. Mossuto, F. Grano, M. Suleiman, L. Marselli, U. Boggi, P. De Simone, et al. 2019. « Modulation of Autophagy Influences the Function and Survival of Human Pancreatic Beta Cells Under Endoplasmic Reticulum Stress Conditions and in Type 2 Diabetes ». *Frontiers in Endocrinology* 10 (février): 52. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00052>.
- Bugliani, M., F. Syed, FMM. Paula, BA. Omar, M. Suleiman et al. 2018. « DPP-4 is expressed in human pancreatic beta cells and its direct inhibition improves beta cell function and survival in type 2 diabetes ». *Mol Cell Endocrinol.* 15;473:186-93. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.01.019>.
- Burns, Chris J., Paul E. Squires, et Shanta J. Persaud. 2000. « Signaling through the P38 and P42/44 Mitogen-Activated Families of Protein Kinases in Pancreatic  $\beta$ -Cell Proliferation ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 268 (2): 541-46. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2179>.
- Butler, A. E., J. Janson, S. Bonner-Weir, R. Ritzel, R. A. Rizza, et P. C. Butler. 2003. «  $\beta$ -Cell Deficit and Increased  $\beta$ -Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes ». *Diabetes* 52 (1): 102-10. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.1.102>.
- Cabrera, Over, Dora M. Berman, Norma S. Kenyon, Camillo Ricordi, Per-Olof Berggren, et Alejandro Caicedo. 2006. « The Unique Cytoarchitecture of Human Pancreatic Islets Has Implications for Islet Cell Function ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (7): 2334-39. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510790103>.
- Campbell, Jonathan E., et Daniel J. Drucker. 2013. « Pharmacology, Physiology, and Mechanisms of Incretin Hormone Action ». *Cell Metabolism* 17 (6): 819-37. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.04.008>.
- Capeau, Jacqueline, 2003. « Voies de signalisation de l'insuline : mécanismes affectés dans l'insulino-résistance ». *Med Sci (Paris)*. 19 : 834-9. <https://doi.org/10.1051/medsci/2003/989834>.
- Caporarello, Nunzia, Cristina Parrino, Vincenzo Trischitta, et Lucia Frittitta. 2017. « Insulin Receptor Signaling and Glucagon-like Peptide 1 Effects on Pancreatic Beta Cells ». Édité par Claudia Miele. *PLOS ONE* 12 (8): e0181190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181190>.
- Cargnello, Marie, et Philippe P. Roux. 2011. « Activation and Function of the MAPKs and Their Substrates, the MAPK-Activated Protein Kinases ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 75 (1): 50-83. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-10>.
- Carlsson, P.-O., L. Jansson, et F. Palm. 2002. « Unaltered Oxygen Tension in Rat Pancreatic Islets despite Dissociation of Insulin Release and Islet Blood Flow: Oxygenation of Pancreatic Islets ». *Acta Physiologica Scandinavica* 176 (4): 275-81. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2002.01049.x>.

Ceppo, Franck, Flavien Berthou, Jennifer Jager, Karine Dumas, Mireille Cormont, et Jean-François Tanti. 2014. « Implication of the Tpl2 Kinase in Inflammatory Changes and Insulin Resistance Induced by the Interaction Between Adipocytes and Macrophages ». *Endocrinology* 155 (3): 951-64. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1815>.

Cerasi, E. 1975. « Mechanisms of Glucose Stimulated Insulin Secretion in Health and in Diabetes: Some Re-Evaluations and Proposals: The Minkowski Award Lecture Delivered on September 12, 1974, before the European Association for the Study of Diabetes at Jerusalem, Israel ». *Diabetologia* 11 (1): 1-13. <https://doi.org/10.1007/BF00422811>.

Chan, Jeng Yie, Jude Luzuriaga, Mohammed Bensellam, Trevor J Biden, et D Ross Laybutt. s. d. « Failure of the Adaptive Unfolded Protein Response in Islets of Obese Mice Is Linked With Abnormalities in B-Cell Gene Expression and Progression to Diabetes », 12.

Chen, Congde, Suichun Wu, Xiaokun Lin, Dazhou Wu, Shane Fischbach, et Xiangwei Xiao. 2018. « ERK5 Plays an Essential Role in Gestational Beta-Cell Proliferation ». *Cell Proliferation* 51 (3): e12410. <https://doi.org/10.1111/cpr.12410>.

Chen J, Couto FM, Minn AH, Shalev A. 2006. « Exenatide inhibits beta-cell apoptosis by decreasing thioredoxin-interacting protein ». *Biochem Biophys Res Commun.* 346:1067-74. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.027>.

Chen S, Shimoda M, Chen J et al. « Transient overexpression of cyclin D2/CDK4/GLP1 genes induces proliferation and differentiation of adult pancreatic progenitors and mediates islet regeneration ». *Cell Cycle.* 11(4):695-705. <http://doi.org/10.4161/cc.11.4.19120>.

Cheon, Hwanju, Jae Min Cho, Sunshin Kim, Seung-Hoon Baek, Moon-Kyu Lee, Kwang-Won Kim, Seong-Woon Yu, Giovanni Solinas, Soung Soo Kim, et Myung-Shik Lee. 2010. « Role of JNK Activation in Pancreatic  $\beta$ -Cell Death by Streptozotocin ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 321 (2): 131-37. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.02.016>.

Chiariello, Mario, Maria Julia Marinissen, et J. Silvio Gutkind. 2000. « Multiple Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways Connect the Cot Oncoprotein to the c- *Jun* Promoter and to Cellular Transformation ». *Molecular and Cellular Biology* 20 (5): 1747-58. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.5.1747-1758.2000>.

Choi, Hong Seok, Bong Seok Kang, Jung-Hyun Shim, Yong-Yeon Cho, Bu Young Choi, Ann M. Bode, et Zigang Dong. 2008. « Cot, a Novel Kinase of Histone H3, Induces Cellular Transformation through Up-regulation of *C-fos* Transcriptional Activity ». *The FASEB Journal* 22 (1): 113-26. <https://doi.org/10.1096/fj.07-9078com>.

Choi, Sung-E, Sung-Mi Lee, Youn-Jung Lee, Ling-Ji Li, Soo-Jin Lee, Ji-Hyun Lee, Youngsoo Kim, Hee-Sook Jun, Kwan-Woo Lee, et Yup Kang. 2009. « Protective Role of Autophagy in Palmitate-Induced INS-1  $\beta$ -Cell Death ». *Endocrinology* 150 (1): 126-34. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0483>.

Chu, K., et M.-J. Tsai. 2005. « Neuronatin, a Downstream Target of BETA2/NeuroD1 in the Pancreas, Is Involved in Glucose-Mediated Insulin Secretion ». *Diabetes* 54 (4): 1064-73. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.4.1064>.

Cignarelli, Angelo, Valentina Annamaria Genchi, Irene Caruso, Annalisa Natalicchio, Sebastio Perrini, Luigi Laviola, et Francesco Giorgino. 2018. « Diabetes and Cancer: Pathophysiological

Fundamentals of a 'Dangerous Affair' ». *Diabetes Research and Clinical Practice* 143 (septembre): 378-88. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.04.002>.

Clapham, David E. 2007. « Calcium Signaling ». *Cell* 131 (6): 1047-58. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.028>.

Clark, A., et M. R. Nilsson. 2004. « Islet Amyloid: A Complication of Islet Dysfunction or an Aetiological Factor in Type 2 Diabetes? » *Diabetologia* 47 (2): 157-69. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1304-4>.

Clark, A., et DF. Steiner. 1968. « Studies on the biosynthesis of insulin in the rat ». *Diabetes* 17:309-10.

Cnop, Miriam, Sanna Toivonen, Mariana Igoillo-Esteve, et Paraskevi Salpea. 2017. « Endoplasmic Reticulum Stress and EIF2 $\alpha$  Phosphorylation: The Achilles Heel of Pancreatic  $\beta$  Cells ». *Molecular Metabolism* 6 (9): 1024-39. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.06.001>.

Cochrane, Veronica, et Show-Ling Shyng. 2019. « Leptin-Induced Trafficking of KATP Channels: A Mechanism to Regulate Pancreatic  $\beta$ -Cell Excitability and Insulin Secretion ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (11): 2660. <https://doi.org/10.3390/ijms20112660>.

Collins, Patricia E., Domenico Somma, David Kerrigan et al. 2019. « The IKB-protein BCL-3 Toll like receptor-induced MAPK activity by promoting TPL-2 degradation in the nucleus ». *Proc Natl Acad Sci USA* 116(51):25828-38. <https://doi.org/10.1073/pnas/1900408116>.

Cohen, Gerald M. 1997. « Caspases: The Executioners of Apoptosis ». *Biochemical Journal* 326 (1): 1-16. <https://doi.org/10.1042/bj3260001>.

Costes, S., C. Broca, G. Bertrand, A.-D. Lajoix, D. Bataille, J. Bockaert, et S. Dalle. 2006. « ERK1/2 Control Phosphorylation and Protein Level of CAMP-Responsive Element-Binding Protein: A Key Role in Glucose-Mediated Pancreatic  $\beta$ -Cell Survival ». *Diabetes* 55 (8): 2220-30. <https://doi.org/10.2337/db05-1618>.

Costes, S., B. Vandewalle, C. Tourrel-Cuzin, C. Broca, N. Linck, G. Bertrand, J. Kerr-Conte, et al. 2009. « Degradation of CAMP-Responsive Element-Binding Protein by the Ubiquitin-Proteasome Pathway Contributes to Glucotoxicity in  $\beta$ -Cells and Human Pancreatic Islets ». *Diabetes* 58 (5): 1105-15. <https://doi.org/10.2337/db08-0926>.

Costes, Safia, Gyslaine Bertrand, et Magalie A. Ravier. 2021. « Mechanisms of Beta-Cell Apoptosis in Type 2 Diabetes-Prone Situations and Potential Protection by GLP-1-Based Therapies ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (10): 5303. <https://doi.org/10.3390/ijms22105303>.

Coulomb, Alain, Serge Halimi, et Igor Chaskilevitch. 2011. « Le livre blanc du diabète : Sept propositions pour faire face à l'épidémie silencieuse du XXI<sup>e</sup> siècle ».

Das, Santasabuj, Jeonghee Cho, Irina Lambertz, Michelle A. Kelliher, Aristides G. Eliopoulos, Keyong Du, et Philip N. Tsichlis. 2005. « Tpl2/Cot Signals Activate ERK, JNK, and NF-KB in a Cell-Type and Stimulus-Specific Manner ». *Journal of Biological Chemistry* 280 (25): 23748-57. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412837200>.

Decicco-Skinner KL, Trovato EL, Simmons JK, Lepage PK, Wiest JS. 2011. « Loss of tumor progression locus 2 (tpl2) enhances tumorigenesis and inflammation in two-stage skin carcinogenesis ». *Oncogene*. 30(4):389-97. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.447>.

De Vadder, Filipe, et Gilles Mithieux. 2015. « Contrôle de la glycémie par l'axe nerveux intestin-cerveau ». *médecine/sciences* 31 (2): 168-73. <https://doi.org/10.1051/medsci/20153102013>.

De Vos, A, H Heimberg, E Quartier, P Huypens, L Bouwens, D Pipeleers, et F Schuit. 1995. « Human and Rat Beta Cells Differ in Glucose Transporter but Not in Glucokinase Gene Expression. » *Journal of Clinical Investigation* 96 (5): 2489-95. <https://doi.org/10.1172/JCI118308>.

DeFronzo, R. A. 2009. « From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus ». *Diabetes* 58 (4): 773-95. <https://doi.org/10.2337/db09-9028>.

Delobel, Morgane, et Stéphane Dalle. 2021. « G-Protein–Coupled Receptors Controlling Pancreatic  $\beta$ -Cell Functional Mass for the Treatment of Type 2 Diabetes ». *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research* 16 (février): 113-18. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.09.010>.

Dendup, Tashi, Xiaoqi Feng, Stephanie Clingan, et Thomas Astell-Burt. 2018. « Environmental Risk Factors for Developing Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15 (1): 78. <https://doi.org/10.3390/ijerph15010078>.

Dezaki, Katsuya. 2013. « Ghrelin Function in Insulin Release and Glucose Metabolism ». In *Endocrine Development*, édité par A. Benso, F.F. Casanueva, E. Ghigo, et R. Granata, 25:135-43. Basel: S. KARGER AG. <https://doi.org/10.1159/000346064>.

Diamant, Michaela, Luc Van Gaal, Bruno Guerci, Stephen Stranks, Jenny Han, Jaret Malloy, Marilyn K Boardman, et Michael E Trautmann. 2014. « Exenatide Once Weekly versus Insulin Glargine for Type 2 Diabetes (DURATION-3): 3-Year Results of an Open-Label Randomised Trial ». *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2 (6): 464-73. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70029-4](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70029-4).

Dimitriadis, George, Panayota Mitrou, Vaia Lambadiari, Eirini Maratou, et Sotirios A. Raptis. 2011. « Insulin Effects in Muscle and Adipose Tissue ». *Diabetes Research and Clinical Practice* 93 (août): S52-59. [https://doi.org/10.1016/S0168-8227\(11\)70014-6](https://doi.org/10.1016/S0168-8227(11)70014-6).

Dodhiawala, Paarth B., Namrata Kuhrana, Daoxiang Zhang et al. 2020. « TPL2 enforces RAS-induced inflammatory signaling and is activated by point mutations ». *J Clin Invest* 130(9):4771-90. <https://doi.org/10.1172/JCI137660>.

Dolenšek, Jurij, Marjan Slak Rupnik, et Andraž Stožer. 2015. « Structural Similarities and Differences between the Human and the Mouse Pancreas ». *Islets* 7 (1): e1024405. <https://doi.org/10.1080/19382014.2015.1024405>.

Donath, M. Y. 2013. « Targeting Inflammation in the Treatment of Type 2 Diabetes ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 15 (s3): 193-96. <https://doi.org/10.1111/dom.12172>.

Donath, Marc Y. 2014. « Targeting Inflammation in the Treatment of Type 2 Diabetes: Time to Start ». *Nature Reviews Drug Discovery* 13 (6): 465-76. <https://doi.org/10.1038/nrd4275>.



- Dong, Kelei, Hua Ni, Meiling Wu, Ziqing Tang, Michael Halim, et Dongyun Shi. 2016. « ROS-Mediated Glucose Metabolic Reprogram Induces Insulin Resistance in Type 2 Diabetes ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 476 (4): 204-11. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.05.087>.
- Doyle, Máire E, et Josephine M Egan. 2008. « Mechanisms of Action of GLP-1 in the Pancreas », 83.
- Drott, Carl Johan, Petra Franzén, et Per-Ola Carlsson. 2019. « Ghrelin in Rat Pancreatic Islets Decreases Islet Blood Flow ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 317 (1): E139-46. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00004.2019>.
- Drucker, Daniel J. 2006. « The Biology of Incretin Hormones ». *Cell Metabolism* 3 (3): 153-65. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.004>.
- Drucker, Daniel J. 2018. « Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1 ». *Cell Metabolism* 27 (4): 740-56. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.001>.
- Dumitru, Calin D, Jeffrey D Ceci, Christos Tsatsanis, Dimitris Kontoyiannis, Konstantinos Stamatakis, Jun-Hsiang Lin, Christos Patriotis, et al. 2000. « TNF-alpha Induction by LPS Is Regulated Posttranscriptionally via a Tpl2/ERK-Dependent Pathway », 13.
- Dzhura, Igor, Oleg G. Chepurny, Grant G. Kelley, Colin A. Leech, Michael W. Roe, Elvira Dzhura, Parisa Afshari, et al. 2010. « Epac2-Dependent Mobilization of Intracellular Ca<sup>2+</sup> by Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist Exendin-4 Is Disrupted in  $\beta$ -Cells of Phospholipase C- $\epsilon$  Knockout Mice: Calcium Mobilizing Properties of Exendin-4 in Mouse  $\beta$ -Cells ». *The Journal of Physiology* 588 (24): 4871-89. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.198424>.
- Ebato, Chie, Toyoyoshi Uchida, Masayuki Arakawa, Masaaki Komatsu, Takashi Ueno, Koji Komiya, Kosuke Azuma, et al. 2008. « Autophagy Is Important in Islet Homeostasis and Compensatory Increase of Beta Cell Mass in Response to High-Fat Diet ». *Cell Metabolism* 8 (4): 325-32. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.08.009>.
- Elrick, H., L. Stimmler, C. J. Hlad, et Y. Arai. 1964. « Plasma Insulin Response to Oral and Intravenous Glucose Administration<sup>1</sup> ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 24 (10): 1076-82. <https://doi.org/10.1210/jcem-24-10-1076>.
- Emamaullee, J. A., et A.M. J. Shapiro. 2006. « Interventional Strategies to Prevent  $\beta$ -Cell Apoptosis in Islet Transplantation ». *Diabetes* 55 (7): 1907-14. <https://doi.org/10.2337/db05-1254>.
- Ezanno, Hélène, Valérie Pawlowski, Saida Abdelli, Raphael Boutry, Valery Gmyr, Julie Kerr-Conte, Christophe Bonny, François Pattou, et Amar Abderrahmani. 2014. « JNK3 Is Required for the Cytoprotective Effect of Exendin 4 ». *Journal of Diabetes Research* 2014: 1-5. <https://doi.org/10.1155/2014/814854>.
- Fan, Ting-Jun, Li-Hui Han, Ri-Shan Cong, et Jin Liang. 2005. « Caspase Family Proteases and Apoptosis ».  dit e par You-Shang Zhang. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 37 (11): 719-27. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2005.00108.x>.
- Fearnley, Gareth W., Antony M. Latham, Monica Hollstein, Adam F. Odell, et Sreenivasan Ponnambalam. 2020. « ATF-2 and Tpl2 Regulation of Endothelial Cell Cycle Progression and Apoptosis ». *Cellular Signalling* 66 : 109481. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109481>.

Federici, Massimo, Marta Hribal, Lucia Perego, Marco Ranalli, Zaira Caradonna, Carla Perego, Luciana Usellini, et al. 2001. « High Glucose Causes Apoptosis in Cultured Human Pancreatic Islets of Langerhans: A Potential Role for Regulation of Specific Bcl Family Genes Toward an Apoptotic Cell Death Program ». *Diabetes* 50 (6): 1290-1301. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.6.1290>.

Feng ZC, Riopel M, Popell A, Wang R. 2015. « A survival kit for pancreatic beta cells: stem cell factor and c-kit receptor tyrosine kinase ». *Diabetologia* 58:654-65. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3504-4>.

Flamez, D., V. Berger, M. Kruhoffer, T. Orntoft, D. Pipeleers, et F. C. Schuit. 2002. « Critical Role for Cataplerosis via Citrate in Glucose-Regulated Insulin Release ». *Diabetes* 51 (7): 2018-24. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.7.2018>.

Flannick, Jason, Stefan Johansson, et Pål R. Njølstad. 2016. « Common and Rare Forms of Diabetes Mellitus: Towards a Continuum of Diabetes Subtypes ». *Nature Reviews Endocrinology* 12 (7): 394-406. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.50>.

Fleming, Yvonne, Christopher G Armstrong, Nick Morrice, Andrew Paterson, Michel Goedert, et Philip Cohen. 2000. « Synergistic Activation of Stress-Activated Protein Kinase 1/c-Jun N-Terminal Kinase (SAPK1/JNK) Isoforms by Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 4 (MKK4) and MKK7 ». *Biochem J.* 352(1):145-54. <https://doi.org/10.1042/bj3520145>.

Fornoni, A., A. Pileggi, R. D. Molano, N. Y. Sanabria, T. Tejada, J. Gonzalez-Quintana, H. Ichii, L. Inverardi, C. Ricordi, et R. L. Pastori. 2008. « Inhibition of C-Jun N Terminal Kinase (JNK) Improves Functional Beta Cell Mass in Human Islets and Leads to AKT and Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3) Phosphorylation ». *Diabetologia.* 51 (2): 298-308. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0889-4>.

Frandsen CS, Dejgaard TF, Madsbad S, Holst JJ. 2018. « Non-insulin pharmacological therapies for treating type 1 diabetes ». *Expert Opin Pharmacother.* 19(9):947-60. <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1483339>.

Frias, Juan Pablo, Michael A Nauck, Joanna Van, Mark E Kutner, Xuewei Cui, Charles Benson, Shweta Urva, et al. 2018. « Efficacy and Safety of LY3298176, a Novel Dual GIP and GLP-1 Receptor Agonist, in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomised, Placebo-Controlled and Active Comparator-Controlled Phase 2 Trial ». *The Lancet* 392 (10160): 2180-93. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32260-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32260-8).

Gandara, Maria Luisa, Pilar Lopez, Raquel Hernando, José G. Castano, Susana Alemany. 2003. « The COOH-terminal domain of wild-type Cot regulates its stability and kinase specific activity ». *Mol Cell Biol* 23(20): 7377-90. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.20.7377-7390.2003>.

Gantke, Thorsten, Srividya Sriskantharajah, et Steven C Ley. 2011. « Regulation and Function of TPL-2, an I $\kappa$ B Kinase-Regulated MAP Kinase Kinase Kinase ». *Cell Research* 21 (1): 131-45. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.173>.

Gavrin, Lori Krim, Neal Green, Yonghan Hu, Kristin Janz, Neelu Kaila, Huan-Qiu Li, Steve Y. Tam, et al. 2005. « Inhibition of Tpl2 Kinase and TNF- $\alpha$  Production with 1,7-Naphthyridine-3-Carbonitriles: Synthesis and Structure–Activity Relationships ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15 (23): 5288-92. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.08.029>.



- Gentilella, Raffaella, Valeria Pechtner, Antonella Corcos, et Agostino Consoli. 2019. « Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonists in Type 2 Diabetes Treatment: Are They All the Same? » *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 35 (1): e3070. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3070>.
- Genuth, Saul M., Ronald J. Przybylski, et David M. Rosenberg. 1971. « Insulin Resistance in Genetically Obese, Hyperglycemic Mice ». *Endocrinology* 88 (5): 1230-38. <https://doi.org/10.1210/endo-88-5-1230>.
- George, D., et A. Salmeron. 2009. « Cot/Tpl-2 Protein Kinase as a Target for the Treatment of Inflammatory Disease ». *Current Topics in Medicinal Chemistry* 9 (7): 611-22. <https://doi.org/10.2174/156802609789007345>.
- George, Dawn, Michael Friedman, Hamish Allen, Maria Argiriadi, Claude Barberis, Agnieszka Bischoff, Anca Clabbers, et al. 2008. « Discovery of Thieno[2,3-c]Pyridines as Potent COT Inhibitors ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18 (18): 4952-55. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.08.037>.
- Gerber, Philipp A., et Guy A. Rutter. 2017. « The Role of Oxidative Stress and Hypoxia in Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes Mellitus ». *Antioxidants & Redox Signaling* 26 (10): 501-18. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6755>.
- Gilbert MP, Pratley RE. 2020. « GLP-1 Analogs and DPP-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes Therapy : Review of Head-to-Head Clinical Trials ». *Front Endocrinol (Lausanne)*. 3;11:178. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00178>.
- Gilon, Patrick, Hee-Young Chae, Guy A. Rutter, et Magalie A. Ravier. 2014. « Calcium Signaling in Pancreatic  $\beta$ -Cells in Health and in Type 2 Diabetes ». *Cell Calcium* 56 (5): 340-61. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.09.001>.
- Glatthar R, Stojanovic A, Troxler T et al. 2016. «Discovery of imidazoquinolines as a novel class of potent, selective, and in vivo efficacious cancer osaka thyroid (cot) kinase inhibitors ». *Journal of medicinal chemistry*. 25;59(16):7544-60. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00598>.
- Godin, Elizabeth, Phuong Trang Nguyen, Ximena Zottig, et Steve Bourgault. 2019. « Identification of a Hinge Residue Controlling Islet Amyloid Polypeptide Self-Assembly and Cytotoxicity ». *Journal of Biological Chemistry* 294 (21): 8452-63. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006454>.
- Gong J, Fang C, Zhang P, Wang PX, Qiu Y et al. 2019. « Tumor progression locus 2 in hepatocytes potentiates both liver and systemic metabolic disorders in Mice ». *Hepatology*. 69(2):524-44. <https://doi.org/10.1002/hep.29820>.
- Gruosso, Tina, Camille Garnier, Sophie Abelanet, Yann Kieffer, Vincent Lemesre, Dorine Bellanger, Ivan Bieche, et al. 2015. « MAP3K8/TPL-2/COT Is a Potential Predictive Marker for MEK Inhibitor Treatment in High-Grade Serous Ovarian Carcinomas ». *Nature Communications* 6 (1): 8583. <https://doi.org/10.1038/ncomms9583>.
- Gual, P., T. Grémeaux, T. Gonzalez, Y. Le Marchand-Brustel, et J.-F. Tanti. 2003. « MAP Kinases and MTOR Mediate Insulin-Induced Phosphorylation of Insulin Receptor Substrate-1 on Serine Residues 307, 612 and 632 ». *Diabetologia* 46 (11): 1532-42. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1223-4>.

Guney, Michelle A, David S Lorberbaum, et Lori Sussel. 2020. « Pancreatic  $\beta$  Cell Regeneration: To  $\beta$  or Not to  $\beta$  ». *Current Opinion in Physiology* 14 (avril): 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2019.10.019>.

Gutmann Sacha, Alexandra Hinniger, Gabriela Fendrich et al. 2015. « The crystal structure of Cancer Osaka Thyroid kiase reveals an unexpected kinase domain fold ». *J Biol Chem* 290(24):15210-8. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.648097>.

Haefliger, Jacques-Antoine, Françoise Rohner-Jeanrenaud, Dorothée Caille, Anne Charollais, Paolo Meda, et Florent Allagnat. 2013. « Hyperglycemia Downregulates Connexin36 in Pancreatic Islets via the Upregulation of ICER-1/ICER-1 $\gamma$  ». *Journal of Molecular Endocrinology* 51 (1): 49-58. <https://doi.org/10.1530/JME-13-0054>.

Halim, Michael, et Alice Halim. 2019. « The Effects of Inflammation, Aging and Oxidative Stress on the Pathogenesis of Diabetes Mellitus (Type 2 Diabetes) ». *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 13 (2): 1165-72. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.01.040>.

Hall, Elin, Josefine Jönsson, Jones K. Ofori et al. 2019. « Glucolipototoxicity alters insulin secretion via epigenetic changes in human islets ». *Diabetes* 68:1965-74. <https://doi.org/10.2337/db18-0900>.

Hall, J. Perry, Yahya Kurdi, Sang Hsu, John Cuozzo, Julie Liu, Jean-Baptiste Telliez, Katherine J. Seidl, et al. 2007. « Pharmacologic Inhibition of Tpl2 Blocks Inflammatory Responses in Primary Human Monocytes, Synoviocytes, and Blood ». *Journal of Biological Chemistry* 282 (46): 33295-304. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703694200>.

Han, Hye-Sook, Geon Kang, Jun Seok Kim, Byeong Hoon Choi, et Seung-Hoi Koo. 2016. « Regulation of Glucose Metabolism from a Liver-Centric Perspective ». *Experimental & Molecular Medicine* 48 (3): e218-e218. <https://doi.org/10.1038/emm.2015.122>.

Han, Kyu Lee, Joo Sun Choi, Jae Young Lee, Jihyun Song, Myung Kuk Joe, Myeong Ho Jung, et Jae-Kwan Hwang. 2008. « Therapeutic Potential of Peroxisome Proliferators–Activated Receptor- $\alpha/\gamma$  Dual Agonist With Alleviation of Endoplasmic Reticulum Stress for the Treatment of Diabetes ». *Diabetes* 57 (3): 737-45. <https://doi.org/10.2337/db07-0972>.

Hasib, Annie, Ming T. Ng, Neil Tanday, Sarah L. Craig, Victor A. Gault, Peter R. Flatt, et Nigel Irwin. 2019. « Exendin-4(Lys<sup>27</sup> PAL)/Gastrin/Xenin-8-Gln: A Novel Acylated GLP-1/Gastrin/Xenin Hybrid Peptide That Improves Metabolic Status in Obese-Diabetic ( *Ob/Ob* ) Mice ». *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 35 (3): e3106. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3106>.

Hatzia Apostolou, Maria, Georgios Koukos, Christas Polytarchou et al. 2011. « Tumor progression locus 2 mediates signal-induced increases in cytoplasmic calcium and cell migration ». *Sci Signal*. 4(187): ra55. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002006>.

He, Hongbin, Hua Jiang, Yun Chen, Jin Ye, Aoli Wang, Chao Wang, Qingsong Liu, et al. 2018. « Oridonin Is a Covalent NLRP3 Inhibitor with Strong Anti-Inflammasome Activity ». *Nature Communications* 9 (1): 2550. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04947-6>.

He, Wei, Ting Yuan, et Kathrin Maedler. 2019. « Macrophage-Associated pro-Inflammatory State in Human Islets from Obese Individuals ». *Nutrition & Diabetes* 9 (1): 36. <https://doi.org/10.1038/s41387-019-0103-z>.

- Helman, A., D. Avrahami, A. Klochendler, B. Glaser, K. H. Kaestner, I. Ben-Porath, et Y. Dor. 2016. « Effects of Ageing and Senescence on Pancreatic  $\beta$ -Cell Function ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 18 (septembre): 58-62. <https://doi.org/10.1111/dom.12719>.
- Henquin, J. C. 2000. « Triggering and Amplifying Pathways of Regulation of Insulin Secretion by Glucose ». *Diabetes* 49 (11): 1751-60. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.11.1751>.
- Henquin, Jc, et P Gilon. 1995. « Le contrôle de la sécrétion d'insuline par le glucose: signaux déclenchants et amplificateurs ». *médecine/sciences* 11 (9): 1235. <https://doi.org/10.4267/10608/2443>.
- Henry, Brandon Michael, Bendik Skinningsrud, Karolina Saganiak, Przemysław A. Pękala, Jerzy A. Walocha, et Krzysztof A. Tomaszewski. 2019. « Development of the Human Pancreas and Its Vasculature — An Integrated Review Covering Anatomical, Embryological, Histological, and Molecular Aspects ». *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 221 (janvier): 115-24. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2018.09.008>.
- Herzberg-Schäfer, S., M. Heni, N. Stefan, H.-U. Häring, et A. Fritsche. 2012. « Impairment of GLP1-Induced Insulin Secretion: Role of Genetic Background, Insulin Resistance and Hyperglycaemia ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 14 (octobre): 85-90. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2012.01648.x>.
- Heuvel-Borsboom, H, H W de Valk, M Losekoot, et J Westerink. 2016. « Maturity Onset Diabetes of the Young: Seek and You Will Find ». *The Netherlands Journal of Medicine* 74 (5): 8.
- Hidden, Geneviève. 1979. « Physiologie de la circulation lymphatique ». *Anatomia Clinica* 1 (4): 331-45. <https://doi.org/10.1007/BF01654710>.
- Hilger, Daniel, Matthieu Masureel, et Brian K. Kobilka. 2018. « Structure and Dynamics of GPCR Signaling Complexes ». *Nature Structural & Molecular Biology* 25 (1): 4-12. <https://doi.org/10.1038/s41594-017-0011-7>.
- Himsworth, H. 2013. « Diabetes Mellitus: Its Differentiation into Insulin-Sensitive and Insulin-Insensitive Types ». *International Journal of Epidemiology* 42 (6): 1594-98. <https://doi.org/10.1093/ije/dyt203>.
- Hoarau, E, V Chandra, P Rustin, R Scharfmann, et B Duvillie. 2014. « Pro-Oxidant/Antioxidant Balance Controls Pancreatic  $\beta$ -Cell Differentiation through the ERK1/2 Pathway ». *Cell Death & Disease* 5 (10): e1487-e1487. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.441>.
- Hod, Moshe, Anil Kapur, David A. Sacks, Eran Hadar, Mukesh Agarwal, Gian Carlo Di Renzo, Luis Cabero Roura, Harold David McIntyre, Jessica L. Morris, et Hema Divakar. 2015. « The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on Gestational Diabetes Mellitus: A Pragmatic Guide for Diagnosis, Management, and Care # ». *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 131 (octobre): S173-211. [https://doi.org/10.1016/S0020-7292\(15\)30033-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7292(15)30033-3).
- Holz, George G., Guoxin Kang, Mark Harbeck, Michael W. Roe, et Oleg G. Chepurny. 2006. « Cell Physiology of CAMP Sensor Epac: CAMP Sensor Epac in Cell Physiology ». *The Journal of Physiology* 577 (1): 5-15. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.119644>.

Hostalek, Ulrike, Mike Gwilt, et Steven Hildemann. 2015. « Therapeutic Use of Metformin in Prediabetes and Diabetes Prevention ». *Drugs* 75 (10): 1071-94. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0416-8>.

Hou, Ni, Seiji Torii, Naoya Saito, Masahiro Hosaka, et Toshiyuki Takeuchi. 2008. « Reactive Oxygen Species-Mediated Pancreatic  $\beta$ -Cell Death Is Regulated by Interactions between Stress-Activated Protein Kinases, P38 and c-Jun N-Terminal Kinase, and Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatases ». *Endocrinology* 149 (4): 1654-65. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0988>.

Hu, Yonghan, Neal Green, Lori K. Gavrin, Kristin Janz, Neelu Kaila, Huan-Qiu Li, Jennifer R. Thomason, et al. 2006. « Inhibition of Tpl2 Kinase and TNF $\alpha$  Production with Quinoline-3-Carbonitriles for the Treatment of Rheumatoid Arthritis ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16 (23): 6067-72. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.08.102>.

Hwang SL, Kwon O, Kim SG, Lee IK, Kim YD. 2013. « B-cell translocation gene 2 positively regulates GLP-1 stimulated insulin secretion via induction of PDX-1 in pancreatic beta-cells ». *Exp Mol Med*. 24;45(5):e25. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.47>.

Ichijo, H. 1997. « Induction of Apoptosis by ASK1, a Mammalian MAPKKK That Activates SAPK/JNK and P38 Signaling Pathways ». *Science* 275 (5296): 90-94. <https://doi.org/10.1126/science.275.5296.90>.

Ighodaro, Osasenaga Macdonald. 2018. « Molecular Pathways Associated with Oxidative Stress in Diabetes Mellitus ». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 108 (décembre): 656-62. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>.

Ionescu-Tirgoviste, Constantin, Paul A. Gagniuc, Elvira Gubceac, Liliana Mardare, Irinel Popescu, Simona Dima, et Manuella Militaru. 2015. « A 3D Map of the Islet Routes throughout the Healthy Human Pancreas ». *Scientific Reports* 5 (1): 14634. <https://doi.org/10.1038/srep14634>.

Jacqueminet, S, I Briaud, C Rouault, G Reach, et V Poitout. s. d. « Inhibition of Insulin Gene Expression by Long-Term Exposure of Pancreatic  $\beta$  Cells to Palmitate Is Dependent on the Presence of a Stimulatory Glucose Concentration », 5.

Jager, J., T. Gremeaux, T. Gonzalez, S. Bonnafous, C. Debard, M. Laville, H. Vidal, et al. 2010. « Tpl2 Kinase Is Upregulated in Adipose Tissue in Obesity and May Mediate Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor- Effects on Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation and Lipolysis ». *Diabetes* 59 (1): 61-70. <https://doi.org/10.2337/db09-0470>.

Jara, Mark Anthony, Joao Pedro Werneck-De-Castro, Camila Lubaczeuski, James D. Johnson, et Ernesto Bernal-Mizrachi. 2020. « Pancreatic and Duodenal Homeobox-1 (PDX1) Contributes to  $\beta$ -Cell Mass Expansion and Proliferation Induced by Akt/PKB Pathway ». *Islets* 12 (2): 32-40. <https://doi.org/10.1080/19382014.2020.1762471>.

Jhala, U. S. 2003. « cAMP Promotes Pancreatic  $\beta$ -Cell Survival via CREB-Mediated Induction of IRS2 ». *Genes & Development* 17 (13): 1575-80. <https://doi.org/10.1101/gad.1097103>.

Jones, P. M. 1998. « Protein Kinases, Protein Phosphorylation, and the Regulation of Insulin Secretion from Pancreatic  $\beta$ -Cells. » *Endocrine Reviews* 19 (4): 429-61. <https://doi.org/10.1210/er.19.4.429>.

- Jung, Hye Seung, Kun Wook Chung, Jeong Won Kim, Jin Kim, Masaaki Komatsu, Keiji Tanaka, Yen Hoang Nguyen, et al. 2008. « Loss of Autophagy Diminishes Pancreatic  $\beta$  Cell Mass and Function with Resultant Hyperglycemia ». *Cell Metabolism* 8 (4): 318-24. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.08.013>.
- Kahn, Barbara B, et Jeffrey S Flier. 2000. « Obesity and Insulin Resistance ». *Insulin Resistance* 106 (4): 9.
- Kai, Alan K. L., Amy K. M. Lam, Yingxian Chen, Andrew C. P. Tai, Xinmei Zhang, Angela K. W. Lai, Patrick K. K. Yeung, et al. 2013. « Exchange Protein Activated by CAMP 1 (*Epac1*) -deficient Mice Develop B-cell Dysfunction and Metabolic Syndrome ». *The FASEB Journal* 27 (10): 4122-35. <https://doi.org/10.1096/fj.13-230433>.
- Kailey, Balrik, Martijn van de Bunt, Stephen Cheley, Paul R. Johnson, Patrick E. MacDonald, Anna L. Gloyn, Patrik Rorsman, et Matthias Braun. 2012. « SSTR2 Is the Functionally Dominant Somatostatin Receptor in Human Pancreatic  $\beta$ - and  $\alpha$ -Cells ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 303 (9): E1107-16. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00207.2012>.
- Kalwat, Michael A., et Melanie H. Cobb. 2017. « Mechanisms of the Amplifying Pathway of Insulin Secretion in the  $\beta$  Cell ». *Pharmacology & Therapeutics* 179 (novembre): 17-30. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.05.003>.
- Kammoun, H.L., T.L. Allen, D.C. Henstridge, S. Barre, R.C. Coll, G.I. Lancaster, L. Cron, et al. 2018. « Evidence against a Role for NLRP3-Driven Islet Inflammation in Db/Db Mice ». *Molecular Metabolism* 10 (avril): 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.02.001>.
- Kaneto, Hideaki, et Taka-aki Matsuoka. 2012. « Involvement of Oxidative Stress in Suppression of Insulin Biosynthesis under Diabetic Conditions ». *International Journal of Molecular Sciences* 13 (12): 13680-90. <https://doi.org/10.3390/ijms131013680>.
- Kang, Guoxin, Colin A. Leech, Oleg G. Chepurny, William A. Coetzee, et George G. Holz. 2008. « Role of the CAMP Sensor Epac as a Determinant of  $K_{ATP}$  Channel ATP Sensitivity in Human Pancreatic  $\beta$ -Cells and Rat INS-1 Cells: Epac Regulates the ATP Sensitivity of  $K_{ATP}$  Channels ». *The Journal of Physiology* 586 (5): 1307-19. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.143818>.
- Kaniuk, N. A., M. Kiraly, H. Bates, M. Vranic, A. Volchuk, et J. H. Brumell. 2007. « Ubiquitinated-Protein Aggregates Form in Pancreatic  $\beta$ -Cells During Diabetes-Induced Oxidative Stress and Are Regulated by Autophagy ». *Diabetes* 56 (4): 930-39. <https://doi.org/10.2337/db06-1160>.
- Kapodistria, Katerina, Effie-Photini Tsilibary, Eleni Kotsopoulou, Petros Moustardas, et Paraskevi Kitsiou. 2018. « Liraglutide, a Human Glucagon-like Peptide-1 Analogue, Stimulates AKT-dependent Survival Signalling and Inhibits Pancreatic B-cell Apoptosis ». *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 22 (6): 2970-80. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13259>.
- Kapurniotu, Aphrodite, Anke Schmauder, et Konstantinos Tenidis. 2002. « Structure-Based Design and Study of Non-Amyloidogenic, Double N-Methylated IAPP Amyloid Core Sequences as Inhibitors of IAPP Amyloid Formation and Cytotoxicity ». *Journal of Molecular Biology* 315 (3): 339-50. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5244>.

Kassouf, Toufic, et Grzegorz Sumara. 2020. « Impact of Conventional and Atypical MAPKs on the Development of Metabolic Diseases ». *Biomolecules* 10 (9): 1256. <https://doi.org/10.3390/biom10091256>.

Kawamori, D., Y. Kajimoto, H. Kaneto, Y. Umayahara, Y. Fujitani, T. Miyatsuka, H. Watada, I. B. Leibiger, Y. Yamasaki, et M. Hori. 2003. « Oxidative Stress Induces Nucleo-Cytoplasmic Translocation of Pancreatic Transcription Factor PDX-1 Through Activation of c-Jun NH2-Terminal Kinase ». *Diabetes* 52 (12): 2896-2904. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.12.2896>.

Kerner, W., et J. Brückel. 2014. « Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus ». *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 122 (07): 384-86. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1366278>.

Khanal, P., K.-Y. Lee, K.-W. Kang, B. S. Kang, et H. S. Choi. 2009. « Tpl-2 Kinase Downregulates the Activity of P53 and Enhances Signaling Pathways Leading to Activation of Activator Protein 1 Induced by EGF ». *Carcinogenesis* 30 (4): 682-89. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp040>.

Khoo, Shih, Steven C. Griffen, Ying Xia, Richard J. Baer, Michael S. German, et Melanie H. Cobb. 2003. « Regulation of Insulin Gene Transcription by ERK1 and ERK2 in Pancreatic  $\beta$  Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 278 (35): 32969-77. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301198200>.

Kim, Ju-Young, Dong-Mee Lim, Chan Il Moon, Kyung-Jin Jo, Seong-Kyu Lee, Haing-Woon Baik, Ki-Ho Lee, Kang-Woo Lee, Keun-Young Park, et Byung-Joon Kim. 2010. « Exendin-4 Protects Oxidative Stress-Induced  $\beta$ -Cell Apoptosis through Reduced JNK and GSK3 $\beta$  Activity ». *Journal of Korean Medical Science* 25 (11): 1626. <https://doi.org/10.3346/jkms.2010.25.11.1626>.

Kim, Wook, et Josephine M. Egan. 2008. « The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment ». *Pharmacological Reviews* 60 (4): 470-512. <https://doi.org/10.1124/pr.108.000604>.

Knop, Filip K., Tina Vilsbøll, Patricia V. Højberg, Steen Larsen, Sten Madsbad, Aage Vølund, Jens J. Holst, et Thure Krarup. 2007. « Reduced Incretin Effect in Type 2 Diabetes: Cause or Consequence of the Diabetic State? ». *Diabetes* 56 (8): 1951-59. <https://doi.org/10.2337/db07-0100>.

Kohout, T. A., F.-T. Lin, S. J. Perry, D. A. Conner, et R. J. Lefkowitz. 2001. « -Arrestin 1 and 2 Differentially Regulate Heptahelical Receptor Signaling and Trafficking ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (4): 1601-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1601>.

Kontoyiannis D, Boulougouris G, Manoloukos M, Armaka M et al. 2002. « Genetic dissection of the cellular pathways and signaling mechanisms in modeled tumor necrosis factor-induced Crohn's-like inflammatory bowel disease ». *J Exp Med.* 196(12):1563-74. <https://doi.org/10.1084/jem.20020281>.

Kuan, Chia-Yi, Derek D. Yang, Deborah R. Samanta Roy, Roger J. Davis, Pasko Rakic, et Richard A. Flavell. 1999. « The Jnk1 and Jnk2 Protein Kinases Are Required for Regional Specific Apoptosis during Early Brain Development ». *Neuron* 22 (4): 667-76. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80727-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80727-8).

Lai SW, Lin KH, Sheu WHH, Lee MR, Chen CY et al. 2017. « TPL2 (therapeutic targeting tumor progression locus-2)/ATF4 (activating transcription factor-4)/SDF1 $\alpha$  (Chemokine stromal cell-



derived factor- $\alpha$ ) axis supresses diabetic retinopathy ». *Circ Res.* 121(6):e37-e52. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311066>.

Lambelet, Martine, Leticia F. Terra, Makiko Fukaya, Kira Meyerovich, Leticia Labriola, Alessandra K. Cardozo, et Florent Allagnat. 2018. « Dysfunctional Autophagy Following Exposure to Pro-Inflammatory Cytokines Contributes to Pancreatic  $\beta$ -Cell Apoptosis ». *Cell Death & Disease* 9 (2): 96. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0121-5>.

Lancaster, Graeme I., Greg M. Kowalski, Emma Estevez, Michael J. Kraakman, George Grigoriadis, Mark A. Febbraio, Steve Gerondakis, et Ashish Banerjee. 2012. « Tumor Progression Locus 2 (Tpl2) Deficiency Does Not Protect against Obesity-Induced Metabolic Disease ». Édité par François Blachier. *PLoS ONE* 7 (6): e39100. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039100>.

Langfermann, Daniel S., Oliver G. Rössler, et Gerald Thiel. 2018. « Stimulation of B-Raf Increases c-Jun and c-Fos Expression and Upregulates AP-1-Regulated Gene Transcription in Insulinoma Cells ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 472 (septembre): 126-39. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.12.003>.

Lanuza-Masdeu, Jordi, M Isabel Arévalo, Cristina Vila, Albert Barberà, Ramon Gomis, et Carme Caelles. s. d. « In Vivo JNK Activation in Pancreatic B-Cells Leads to Glucose Intolerance Caused by Insulin Resistance in Pancreas », 10.

Lavallard, Vanessa, Mathieu Armanet, Geraldine Parnaud, Jérémy Meyer, Charlotte Barbieux, Elisa Montanari, Raphaël Meier, Philippe Morel, Thierry Berney, et Domenico Bosco. 2016. « Cell Rearrangement in Transplanted Human Islets ». *The FASEB Journal* 30 (2): 748-60. <https://doi.org/10.1096/fj.15-273805>.

Lawrenz, M, A Visekruna, A Kühl, N Schmidt, S H E Kaufmann, et U Steinhoff. 2012. « Genetic and Pharmacological Targeting of TPL-2 Kinase Ameliorates Experimental Colitis: A Potential Target for the Treatment of Crohn's Disease? » *Mucosal Immunology* 5 (2): 129-39. <https://doi.org/10.1038/mi.2011.57>.

Lebreton, Fanny, Ekaterine Berishvili, Géraldine Parnaud, Caroline Rouget, Domenico Bosco, Thierry Berney, et Vanessa Lavallard. 2018. « NLRP3 Inflammasome Is Expressed and Regulated in Human Islets ». *Cell Death & Disease* 9 (7): 726. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0764-x>.

Leduc, Michele, Joy Richard, Safia Costes, Dany Muller, Annie Varrault, Vincent Compan, Julia Mathieu, et al. 2017. « ERK1 Is Dispensable for Mouse Pancreatic Beta Cell Function but Is Necessary for Glucose-Induced Full Activation of MSK1 and CREB ». *Diabetologia* 60 (10): 1999-2010. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4356-6>.

Lee, Hye, Han Choi, Kyeong Joo, et Do-Hyun Nam. 2015. « Tumor Progression Locus 2 (Tpl2) Kinase as a Novel Therapeutic Target for Cancer: Double-Sided Effects of Tpl2 on Cancer ». *International Journal of Molecular Sciences* 16 (3): 4471-91. <https://doi.org/10.3390/ijms16034471>.

Lee, Hye-Mi, Jwa-Jin Kim, Hyun Jin Kim, Minho Shong, Bon Jeong Ku, et Eun-Kyeong Jo. 2013. « Upregulated NLRP3 Inflammasome Activation in Patients With Type 2 Diabetes ». *Diabetes* 62 (1): 194-204. <https://doi.org/10.2337/db12-0420>.

- Lee WJ, Lan KH, Chou CT, Yi YC, Chen WC et al. 2013. « TPL2 inhibitors thwart endothelial cell function in angiogenesis and peritoneal dissemination ». *Neoplasia*. 15(9):1036-48. <https://doi.org/10.1593/neo.121914>.
- Lee, Yong-ho, Jinyoung Kim, Kihyoun Park, et Myung-Shik Lee. 2019. «  $\beta$ -Cell Autophagy: Mechanism and Role in  $\beta$ -Cell Dysfunction ». *Molecular Metabolism* 27 (septembre): S92-103. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.06.014>.
- Lee YS et Jun HS. 2014. « Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells ». *Metabolism*. 63(1):9-19. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.09.010>.
- Lee YS, Lee C, Choung JS, Jung HS, Jun HS. 2018. « Glucagon-like peptide 1 increases beta-cell regeneration by promoting alpha- to beta-cell transdifferentiation ». *Diabetes*. 67(12):2601-14. <https://doi.org/10.2337/db18-0155>.
- Leloup, C., C. Turrel-Cuzin, C. Magnan, M. Karaca, J. Castel, L. Carneiro, A.-L. Colombani, A. Ktorza, L. Casteilla, et L. Penicaud. 2009. « Mitochondrial Reactive Oxygen Species Are Obligatory Signals for Glucose-Induced Insulin Secretion ». *Diabetes* 58 (3): 673-81. <https://doi.org/10.2337/db07-1056>.
- Lemmon MA et Schlessinger J. 2010. « Cell signaling by receptor tyrosin kinases ». *Cell*. 141(7):1117-34. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.011>.
- Lenzen, Sigurd, Jens Drinkgern, et Markus Tiedge. 1996. « Low Antioxidant Enzyme Gene Expression in Pancreatic Islets Compared with Various Other Mouse Tissues ». *Free Radical Biology and Medicine* 20 (3): 463-66. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)02051-5](https://doi.org/10.1016/0891-5849(96)02051-5).
- Li, Ning, Melis Karaca, et Pierre Maechler. 2017. « Upregulation of UCP2 in Beta-Cells Confers Partial Protection against Both Oxidative Stress and Glucotoxicity ». *Redox Biology* 13 (octobre): 541-49. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.07.012>.
- Li, Y., X. Cao, L.-X. Li, P. L. Brubaker, H. Edlund, et D. J. Drucker. 2005. « -Cell Pdx1 Expression Is Essential for the Glucoregulatory, Proliferative, and Cytoprotective Actions of Glucagon-Like Peptide-1 ». *Diabetes* 54 (2): 482-91. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.2.482>.
- Light, Peter E., Jocelyn E. Manning Fox, Michael J. Riedel, et Michael B. Wheeler. 2002. « Glucagon-Like Peptide-1 Inhibits Pancreatic ATP-Sensitive Potassium Channels via a Protein Kinase A- and ADP-Dependent Mechanism ». *Molecular Endocrinology* 16 (9): 2135-44. <https://doi.org/10.1210/me.2002-0084>.
- Liu, Shiwei, Fang Du, Xin Li, Mingming Wang, Ruixue Duan, Jiabin Zhang, Yaru Wu, et Qi Zhang. 2017. « Effects and Underlying Mechanisms of Irisin on the Proliferation and Apoptosis of Pancreatic  $\beta$  Cells ». Édité par Shang-Zhong Xu. *PLOS ONE* 12 (4): e0175498. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175498>.
- Longuet, Christine, Christophe Broca, Safia Costes, El Habib Hani, Dominique Bataille, et Stéphane Dalle. 2005. « Extracellularly Regulated Kinases 1/2 (P44/42 Mitogen-Activated Protein Kinases) Phosphorylate Synapsin I and Regulate Insulin Secretion in the MIN6  $\beta$ -Cell Line and Islets of Langerhans ». *Endocrinology* 146 (2): 643-54. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0841>.



- Luciano, Brenda S., Sang Hsu, Padma L. Channavajhala, Lih-Ling Lin, et John W. Cuozzo. 2004. « Phosphorylation of Threonine 290 in the Activation Loop of Tpl2/Cot Is Necessary but Not Sufficient for Kinase Activity ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (50): 52117-23. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403716200>.
- Lupsa, Beatrice C. et Silvio E. Inzucchi. 2018. « Use of SGLT2 inhibitors in type 2 diabetes: weighing the risks and benefits ». *Diabetologia*. 61(10):2118-25. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4663-6>.
- Lutz, Thomas A. 2010a. « Roles of Amylin in Satiety, Adiposity and Brain Development ». In *Forum of Nutrition*, édité par W. Langhans et N. Geary, 63:64-74. S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000264394>.
- Lutz, Thomas A. 2010b. « The Role of Amylin in the Control of Energy Homeostasis ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 298 (6): R1475-84. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00703.2009>.
- Ly, Wei, Xianqing Wang, Qian Xu, et Wencong Lu. 2020. « Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides ». *Current Topics in Medicinal Chemistry* 20 (1): 37-56. <https://doi.org/10.2174/1568026620666191224141617>.
- Lytrivi, Maria, Anne-Laure Castell, Vincent Poitout, et Miriam Cnop. 2020. « Recent Insights Into Mechanisms of  $\beta$ -Cell Lipo- and Glucolipotoxicity in Type 2 Diabetes ». *Journal of Molecular Biology* 432 (5): 1514-34. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.09.016>.
- Maedler, K., G. A. Spinas, R. Lehmann, P. Sergeev, M. Weber, A. Fontana, N. Kaiser, et M. Y. Donath. 2001. « Glucose Induces  $\beta$ -Cell Apoptosis Via Upregulation of the Fas Receptor in Human Islets ». *Diabetes* 50 (8): 1683-90. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.8.1683>.
- Maedler, Kathrin, Fabienne T. Schulthess, Christelle Bielman, Thierry Berney, Christophe Bonny, Marc Prentki, Marc Y. Donath, et Raphael Roduit. 2008. « Glucose and Leptin Induce Apoptosis in Human  $\beta$ -Cells and Impair Glucose-stimulated Insulin Secretion through Activation of C-Jun N-terminal Kinases ». *The FASEB Journal* 22 (6): 1905-13. <https://doi.org/10.1096/fj.07-101824>.
- Magnan, C., et A. Ktorza. 2005. « Production et sécrétion de l'insuline par la cellule  $\beta$  pancréatique ». *EMC - Endocrinologie* 2 (4): 241-64. <https://doi.org/10.1016/j.emcend.2005.07.001>.
- Marasco, Michelle R, Abass M Conteh, Christopher A Reissaus, Raghavendra G Mirmira, et Amelia K Linnemann. 2018. « Interleukin-6 Reduces  $\beta$ -Cell Oxidative Stress by Linking Autophagy With the Antioxidant Response » 67: 13.
- Masters, Seth L, Aisling Dunne, Shoba L Subramanian, Rebecca L Hull, Gillian M Tannahill, Fiona A Sharp, Christine Becker, et al. 2010. « Activation of the NLRP3 Inflammasome by Islet Amyloid Polypeptide Provides a Mechanism for Enhanced IL-1 $\beta$  in Type 2 Diabetes ». *Nature Immunology* 11 (10): 897-904. <https://doi.org/10.1038/ni.1935>.
- Mazzoli, Arianna, Claudia Sardi, Ludovic Breasson, Franziska Theilig, Barbara Becattini, et Giovanni Solinas. 2021. « JNK1 Ablation Improves Pancreatic  $\beta$ -cell Mass and Function in Db/Db Diabetic Mice without Affecting Insulin Sensitivity and Adipose Tissue Inflammation ». *FASEB BioAdvances* 3 (2): 94-107. <https://doi.org/10.1096/fba.2020-00081>.

- McCulloch, Laura J., Martijn van de Bunt, Matthias Braun, Keith N. Frayn, Anne Clark, et Anna L. Gloyn. 2011. « GLUT2 (SLC2A2) Is Not the Principal Glucose Transporter in Human Pancreatic Beta Cells: Implications for Understanding Genetic Association Signals at This Locus ». *Molecular Genetics and Metabolism* 104 (4): 648-53. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.08.026>.
- McGarry, J. D., et R. L. Dobbins. 1999. « Fatty Acids, Lipotoxicity and Insulin Secretion ». *Diabetologia* 42 (2): 128-38. <https://doi.org/10.1007/s001250051130>.
- Mellado-Gil J., T. C. Rosa, C. Demirci et al, 2011. « Disruption of hepatocyte growth factor/c-Met signaling enhances pancreatic beta-cell death and accelerates the onset of diabetes ». *Diabetes* 60(2):525-36. <https://doi.org/1.2337/db09-1305>.
- Merglen, Arnaud, Sten Theander, Blanca Rubi, Gaelle Chaffard, Claes B. Wollheim, et Pierre Maechler. 2004. « Glucose Sensitivity and Metabolism-Secretion Coupling Studied during Two-Year Continuous Culture in INS-1E Insulinoma Cells ». *Endocrinology* 145 (2): 667-78. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1099>.
- Mikov, Momir, Nebojša Pavlović, Bojan Stanimirov, Maja Đanić, Svetlana Goločorbin-Kon, Karmen Stankov, et Hani Al-Salami. 2020. « DPP-4 Inhibitors: Renoprotective Potential and Pharmacokinetics in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Renal Impairment ». *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 45 (1): 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13318-019-00570-y>.
- Miettinen P, Ormio P, Hakonen E, Banerjee M, Otonkoski T. 2008. « EGF receptor in pancreatic beta-cell mass regulation ». *Biochem Soc Trans.* 36:280-5. <https://doi.org/10.1042/BTS0360280>.
- Moran, A, H J Zhang, L K Olson, J S Harmon, V Poitout, et R P Robertson. 1997. « Differentiation of Glucose Toxicity from Beta Cell Exhaustion during the Evolution of Defective Insulin Gene Expression in the Pancreatic Islet Cell Line, HIT-T15. ». *Journal of Clinical Investigation* 99 (3): 534-39. <https://doi.org/10.1172/JCI119190>.
- Morisset, Jean. 2008. « Negative Control of Human Pancreatic Secretion: Physiological Mechanisms and Factors ». *Pancreas* 37 (1): 1-12. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e318161b99a>.
- Moullé, Valentine S., Caroline Tremblay, Anne-Laure Castell, Kevin Vivot, Mélanie Ethier, Grace Fergusson, Thierry Alquier, Julien Ghislain, et Vincent Poitout. 2019. « The Autonomic Nervous System Regulates Pancreatic  $\beta$ -Cell Proliferation in Adult Male Rats ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 317 (2): E234-43. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00385.2018>.
- Moullé, Valentine S., Kevin Vivot, Caroline Tremblay, Bader Zarrouki, Julien Ghislain, et Vincent Poitout. 2017. « Glucose and Fatty Acids Synergistically and Reversibly Promote Beta Cell Proliferation in Rats ». *Diabetologia* 60 (5): 879-88. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-4197-8>.
- Müller, T.D., B. Finan, S.R. Bloom, D. D'Alessio, D.J. Drucker, P.R. Flatt, A. Fritsche, et al. 2019. « Glucagon-like Peptide 1 (GLP-1) ». *Molecular Metabolism* 30 (décembre): 72-130. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.09.010>.

Natalicchio, Annalisa, Francesca De Stefano, Maura Roberta Orlando, Mariangela Melchiorre, Anna Leonardini, Angelo Cignarelli, Rossella Labarbuta, et al. 2010. « Exendin-4 Prevents c-Jun N-Terminal Protein Kinase Activation by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) and Inhibits TNF $\alpha$ -Induced Apoptosis in Insulin-Secreting Cells ». *Endocrinology* 151 (5): 2019-29. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1166>.

Nauck MA, Kahle M, Baranov O, Deacon CF, Holst JJ. 2017. « Addition of a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, sitagliptin, to ongoing therapy with the glucagon-like peptide-1 receptor agonist liraglutide: a randomized controlled trial in patients with type 2 diabetes ». *Diabetes Obes Metab*. 19(2):200-7. <https://doi.org/10.1111/dom.12802>.

Nauck MA et Meier JJ. 2018. « Incretin hormones : their role in health and disease ». *Diabetes Obes Metab*. 1:5-21. <https://doi.org/10.1111/dom.13129>.

Newsholme, Philip, Kevin N. Keane, Rodrigo Carlessi, Vinicius Cruzat. 2019. « Oxidative stress pathways in pancreatic  $\beta$ -cells and insulin-sensitive cells and tissues : importance to cell metabolism, function and dysfunction ». *Am J Physiol Cell Physiol*. 317(3):C420-33. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.0014102019>.

Nichols, C.G. et M.S. Remedi. 2012. « The diabetic  $\beta$ -cell : hyperstimulated vs. hyperexcited ». *Diabetes Obes Metab*. 14(03):129-35. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2012.01655.x>.

Njunge LW, Estania AP, Guo Y, Liu W, Yang L. 2020. « Tumor progression locus 2 (TPL2) in tumor-promoting inflammation, tumorigenesis and tumor immunity ». *Theranostics*. 10(18):8343-64. <https://doi.org/10.7150/thno.45848>.

Nolan, C. J., J. L. Leahy, V. Delghingaro-Augusto, J. Moibi, K. Soni, M.-L. Peyot, M. Fortier, et al. 2006. « Beta Cell Compensation for Insulin Resistance in Zucker Fatty Rats: Increased Lipolysis and Fatty Acid Signalling ». *Diabetologia* 49 (9): 2120-30. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0305-5>.

Nolan, Christopher J, Peter Damm, et Marc Prentki. 2011. « Type 2 Diabetes across Generations: From Pathophysiology to Prevention and Management ». *The Lancet* 378 (9786): 169-81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60614-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60614-4).

Oakie, Amanda, et Rennian Wang. 2018. «  $\beta$  -Cell Receptor Tyrosine Kinases in Controlling Insulin Secretion and Exocytotic Machinery: C-Kit and Insulin Receptor ». *Endocrinology* 159 (11): 3813-21. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00716>.

Ohara, R., J. Miyoshi, M. Aoki, K. Toyoshima. 1993. « The murine cot proto-oncogene : genome structure and tissue-specific expression ». *Jpn J Cancer Res*. 84(5):518-25. <https://doi.org/10.11/j.1349-7006.1993.tb00170.x>

Oberhauser, Lucie, Sabrina Granziera, Adai Colom, Antoine Goujon, Vanessa Lavallard, Stefan Matile, Aurélien Roux, Thierry Brun, et Pierre Maechler. 2020. « Palmitate and Oleate Modify Membrane Fluidity and Kinase Activities of INS-1E  $\beta$ -Cells alongside Altered Metabolism-Secretion Coupling ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1867 (2): 118619. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.118619>.

Okazaki, Tomohiko. 2017. « ASK Family in Infection and Inflammatory Disease ». *Advances in Biological Regulation* 66 (décembre): 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.10.001>.

- Oyadomari, S, et M Mori. 2004. « Roles of CHOP/GADD153 in Endoplasmic Reticulum Stress ». *Cell Death & Differentiation* 11 (4): 381-89. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401373>.
- Pardo, F. N., J. Altirriba, M. Pradas-Juni, A. García, U. Ahlgren, A. Barberà, J. C. Slebe, A. J. Yáñez, R. Gomis, et R. Gasa. 2012. « The Role of Raf-1 Kinase Inhibitor Protein in the Regulation of Pancreatic Beta Cell Proliferation in Mice ». *Diabetologia* 55 (12): 3331-40. <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2696-9>.
- Patriotis, Christos, Maria G. Russeva, Jun-Hsiang Lin, Srinivasa M. Srinivasula, Dessislava Z. Markova, Christos Tsatsanis, Antonios Makris, Emad S. Alnemri, et Philip N. Tsichlis. 2001. « Tpl-2 Induces Apoptosis by Promoting the Assembly of Protein Complexes That Contain Caspase-9, the Adapter Protein Tvl-1, and Procaspase-3 ». *Journal of Cellular Physiology* 187 (2): 176-87. <https://doi.org/10.1002/jcp.1066>.
- Pearson, Gray, Fred Robinson, Tara Beers Gibson, Bing-E Xu, Mahesh Karandikar, Kevin Berman, et Melanie H Cobb. 2001. « Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Pathways: Regulation and Physiological Functions » 22 (2): 31.
- Pearson JA, Wong FS, Wen L. 2016. « The importance of the Non Obese Diabetic (NOD) mouse model in autoimmune diabetes ». *J. Autoimmun.* 66:76-88. <https://doi.org/10.1016/j.aut.2015.08.019>.
- Perfield, J. W., Y. Lee, G. I. Shulman, V. T. Samuel, M. J. Jurczak, E. Chang, C. Xie, P. N. Tsichlis, M. S. Obin, et A. S. Greenberg. 2011. « Tumor Progression Locus 2 (TPL2) Regulates Obesity-Associated Inflammation and Insulin Resistance ». *Diabetes* 60 (4): 1168-76. <https://doi.org/10.2337/db10-0715>.
- Pernicova, Ida, et Márta Korbonits. 2014. « Metformin—Mode of Action and Clinical Implications for Diabetes and Cancer ». *Nature Reviews Endocrinology* 10 (3): 143-56. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.256>.
- Petrenko V, Gandasi N, Sage D et al. 2020. « In pancreatic islets from type 2 diabetes patients, the dampened circadian oscillators lead to reduced insulin and glucagon exocytosis ». *PNAS.* (5)2484-95. <https://doi.org/10.1073/pnas.1916539117>.
- Pfeiffer, Andreas F. H., et Harald H. Klein. 2014. « The Treatment of Type 2 Diabetes ». *Deutsches Arzteblatt Online*, janvier. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2014.0069>.
- Pitasi, Caterina L., Junjun Liu, Blandine Gausserès et al. 2020. « Implication of glycogen synthase kinase 3 in diabetes-associated islet inflammation ». *J. Endocrinol.* 244(1):133-48. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0239>.
- Poitout, Vincent. 2008. « Glucolipotoxicity of the Pancreatic  $\beta$ -Cell: Myth or Reality? » *Biochemical Society Transactions* 36 (5): 901-4. <https://doi.org/10.1042/BST0360901>.
- Poitout, Vincent, Julie Amyot, Meriem Semache, Bader Zarrouki, Derek Hagman, et Ghislaine Fontés. 2010. « Glucolipotoxicity of the Pancreatic Beta Cell ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1801 (3): 289-98. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2009.08.006>.

- Poitout, Vincent, et R. Paul Robertson. 2002. « Minireview: Secondary  $\beta$ -Cell Failure in Type 2 Diabetes—A Convergence of Glucotoxicity and Lipotoxicity ». *Endocrinology* 143 (2): 339-42. <https://doi.org/10.1210/endo.143.2.8623>.
- Poljsak, Borut, Dušan Šuput, et Irina Milisav. 2013. « Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013: 1-11. <https://doi.org/10.1155/2013/956792>.
- Porat, Shay, Noa Weinberg-Corem, Sharona Tornovsky-Babaey, Rachel Schyr-Ben-Haroush, Ayat Hija, Miri Stolovich-Rain, Daniela Dadon, et al. 2011. « Control of Pancreatic  $\beta$  Cell Regeneration by Glucose Metabolism ». *Cell Metabolism* 13 (4): 440-49. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.02.012>.
- Portha, B., G. Lacraz, M. Kergoat, F. Homo-Delarche, M.-H. Giroix, D. Bailbé, M.-N. Gangnerau, M. Dolz, C. Turrel-Cuzin, et J. Movassat. 2009. « The GK Rat Beta-Cell: A Prototype for the Diseased Human Beta-Cell in Type 2 Diabetes? ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 297 (1-2): 73-85. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.06.013>.
- Portha, Bernard, Patricia Serradas, Danielle Bailee, Ken-Ichi Suzuki, Yoshio Goto, et Marie-Helene Giroix. 1991. « P-Cell Insensitivity to Glucose in the GK Rat, a Spontaneous Nonobese Model for Type II Diabetes » 40: 6.
- Portron, Agnès, Shirin Jadidi, Neena Sarkar, Richard DiMarchi, et Christophe Schmitt. 2017. « Pharmacodynamics, Pharmacokinetics, Safety and Tolerability of the Novel Dual Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide/Glucagon-like Peptide-1 Agonist RG7697 after Single Subcutaneous Administration in Healthy Subjects ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 19 (10): 1446-53. <https://doi.org/10.1111/dom.13025>.
- Prentki, Marc, Marie-Line Peyot, Pellegrino Masiello, et S.R. Murthy Madiraju. 2020. « Nutrient-Induced Metabolic Stress, Adaptation, Detoxification, and Toxicity in the Pancreatic  $\beta$ -Cell ». *Diabetes* 69 (3): 279-90. <https://doi.org/10.2337/dbi19-0014>.
- Qiu, Yi, Min Guo, Suming Huang, et Roland Stein. 2002. « Insulin Gene Transcription Is Mediated by Interactions between the P300 Coactivator and PDX-1, BETA2, and E47 ». *Molecular and Cellular Biology* 22 (2): 412-20. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.2.412-420.2002>.
- Quoyer, Julie, Christine Longuet, Christophe Broca, Nathalie Linck, Safia Costes, Elodie Varin, Joël Bockaert, Gyslaine Bertrand, et Stéphane Dalle. 2010. « GLP-1 Mediates Antiapoptotic Effect by Phosphorylating Bad through a  $\beta$ -Arrestin 1-Mediated ERK1/2 Activation in Pancreatic  $\beta$ -Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 285 (3): 1989-2002. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.067207>.
- Rabkin, R., M. P. Ryan, et W. C. Duckworth. 1984. « The Renal Metabolism of Insulin ». *Diabetologia* 27 (3): 351-57. <https://doi.org/10.1007/BF00304849>.
- Raghay, Kawtar, Rosalia Gallego, Jean-Yves Scoazec, Tomas Garcia-Caballero, et Gérard Morel. 2013. « Different Ghrelin Localisation in Adult Human and Rat Endocrine Pancreas ». *Cell and Tissue Research* 352 (3): 487-94. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1593-y>.
- Rajan, Sindhu, Lorna M. Dickson, Elizabeth Mathew, Caitlin M.O. Orr, Johanne H. Ellenbroek, Louis H. Philipson, et Barton Wicksteed. 2015. « Chronic Hyperglycemia Downregulates GLP-1

Receptor Signaling in Pancreatic  $\beta$ -Cells via Protein Kinase A ». *Molecular Metabolism* 4 (4): 265-76. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.01.010>.

Ravier, Magalie A., Michele Leduc, Joy Richard, Nathalie Linck, Annie Varrault, Nelly Pirot, Morgane M. Roussel, Joël Bockaert, Stéphane Dalle, et Gyslaine Bertrand. 2014. «  $\beta$ -Arrestin2 Plays a Key Role in the Modulation of the Pancreatic Beta Cell Mass in Mice ». *Diabetologia* 57 (3): 532-41. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3130-7>.

Rebelato, Eduardo, Laila R. Santos, Angelo R. Carpinelli, Patrik Rorsman, et Fernando Abdulkader. 2018. « Short-Term High Glucose Culture Potentiates Pancreatic Beta Cell Function ». *Scientific Reports* 8 (1): 13061. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31325-5>.

Reed, John C. 2000. « Mechanisms of Apoptosis ». *The American Journal of Pathology* 157 (5): 1415-30. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64779-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64779-7).

Regad, Tarik. 2015. « Targeting RTK Signaling Pathways in Cancer ». *Cancers* 7 (3): 1758-84. <https://doi.org/10.3390/cancers7030860>.

Riahi, Yael, Jakob D. Wikstrom, Ety Bachar-Wikstrom, Nava Polin, Hava Zucker, Myung-Shik Lee, Wenying Quan, et al. 2016. « Autophagy Is a Major Regulator of Beta Cell Insulin Homeostasis ». *Diabetologia* 59 (7): 1480-91. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-3868-9>.

Ricordi, C. DW Gray, BK Hering, DB Kaufman, GL Warnock, NM Kneteman, SP Lake, NJ London, C Socci et R Alejandro. 1990. « Islet isolation assessment in man and large animals ». *Acta Diabetologica Latina* 27 (3) : 185-95.

Riddy, Darren M., Emily Goy, Philippe Delerive, Roger J. Summers, Patrick M. Sexton, et Christopher J. Langmead. 2018. « Comparative Genotypic and Phenotypic Analysis of Human Peripheral Blood Monocytes and Surrogate Monocyte-like Cell Lines Commonly Used in Metabolic Disease Research ». Édité par Gernot Zissel. *PLOS ONE* 13 (5): e0197177. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197177>.

Rivera, Jacqueline F., Safia Costes, Tatyana Gurlo, Charles G. Glabe, et Peter C. Butler. 2014. « Autophagy Defends Pancreatic  $\beta$  Cells from Human Islet Amyloid Polypeptide-Induced Toxicity ». *Journal of Clinical Investigation* 124 (8): 3489-3500. <https://doi.org/10.1172/JCI71981>.

Röder, Pia V, Bingbing Wu, Yixian Liu, et Weiping Han. 2016. « Pancreatic Regulation of Glucose Homeostasis ». *Experimental & Molecular Medicine* 48 (3): e219-e219. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>.

Rodriguez-Diaz, Rayner, Alejandro Tamayo, Manami Hara, et Alejandro Caicedo. 2020. « The Local Paracrine Actions of the Pancreatic  $\alpha$ -Cell ». *Diabetes* 69 (4): 550-58. <https://doi.org/10.2337/dbi19-0002>.

Roget Karine, Abduekhakem Ben-Addi, Agnes Mambole Dema et al. 2012. « IKB kinase 2 regulates TPL-2 activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 by direct phosphorylation of TPL-2 serine 400 ». *Mol Cell Biol.* 32(22):4684-90. <https://doi.org/10.1128/MCB.01065-12>.

Roma, Leticia P., et Jean-Christophe Jonas. 2020. « Nutrient Metabolism, Subcellular Redox State, and Oxidative Stress in Pancreatic Islets and  $\beta$ -Cells ». *Journal of Molecular Biology* 432 (5): 1461-93. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.10.012>.



- Rorsman, P., et E. Renström. 2003. « Insulin Granule Dynamics in Pancreatic Beta Cells ». *Diabetologia* 46 (8): 1029-45. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1153-1>.
- Rorsman, Patrik, et Mark O. Huising. 2018. « The Somatostatin-Secreting Pancreatic  $\delta$ -Cell in Health and Disease ». *Nature Reviews Endocrinology* 14 (7): 404-14. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0020-6>.
- Ruiz, Lucie, Tatyana Gurlo, Magalie A. Ravier, Anne Wojtuszczyz, Julia Mathieu, Matthew R. Brown, Christophe Broca, et al. 2018. « Proteasomal Degradation of the Histone Acetyl Transferase P300 Contributes to Beta-Cell Injury in a Diabetes Environment ». *Cell Death & Disease* 9 (6): 600. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0603-0>.
- Rutter GA, Pullen TJ, Hodson DJ, Martinez-Sanchez A. 2014. « Pancreatic  $\beta$ -cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion ». *Biochem J.* 1;466(2):203-18. <https://doi.org/10.1042/BJ01411384>.
- Sakata, Naoaki, Gumpei Yoshimatsu, et Shohta Kodama. 2019. « Development and Characteristics of Pancreatic Epsilon Cells ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (8): 1867. <https://doi.org/10.3390/ijms20081867>.
- Salvi, Roberto, et Amar Abderrahmani. 2014. « Decompensation of  $\beta$ -Cells in Diabetes: When Pancreatic  $\beta$ -Cells Are on ICE(R) ». *Journal of Diabetes Research* 2014: 1-7. <https://doi.org/10.1155/2014/768024>.
- Samols, Ellis, Susan Bonner-Weir, et Gordon C Weir. 1986. « Intra-Islet Insulin-Glucagon-Somatostatin Relationships », 26. [https://doi.org/10.1016/s0300-595x\(86\)80041-x](https://doi.org/10.1016/s0300-595x(86)80041-x).
- Sanchez angela, Carlos Relano, Anaceli Carrasco et al. 2017. « Map3k8 controls granulocyte colony-stimulating factor production and neutrophil precursor proliferation in lipopolysaccharide-induced emergency granulopoiesis ». *Sci Rep.* 7(1):5010. <https://doi.org/10.1038/541598-017-04538-3>.
- Sanchez-Rangel, Elizabeth, et Silvio E. Inzucchi. 2017. « Metformin: Clinical Use in Type 2 Diabetes ». *Diabetologia* 60 (9): 1586-93. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4336-x>.
- Sandoval, Darleen A., et David A. D'Alessio. 2015. « Physiology of Proglucagon Peptides: Role of Glucagon and GLP-1 in Health and Disease ». *Physiological Reviews* 95 (2): 513-48. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2014>.
- Saxena, Aditi R., Donal N. Gorman, Ryan M. Esquejo et al. 2021. « Danuglipron (PF-06882961) in type 2 diabetes : a randomized, placebo-controlled, multiple ascending-dose phase 1 trial ». *Nat Med.* 27(6):1079-87. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01391-w>.
- Scheen André J. 2018. « Implications pour le cardiologue des essais cardiovasculaires dans le diabète de type 2 ». *Cardiologie*. <https://www.tvjdc.be/nl/article/23106017/>.
- Schernthaner, Guntram, Heinz Drexel, Evgeny Moshkovich et al. 2019. «SGLT2 inhibitors in T2D and associated comorbidities - differentiating within the class ». *BMC Endocrine Disorders.* 19:64. <https://doi.org/10.1186/s12902-019-0387-y>.
- Schlienger, Jean-Louis. 2013. « Complications du diabète de type 2 ». *La Presse Médicale* 42 (5): 839-48. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2013.02.313>.

- Schroder, Kate, et Jurg Tschopp. 2010. « The Inflammasomes ». *Cell* 140 (6): 821-32. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.040>.
- Schwarz, Dianne S., et Michael D. Blower. 2016. « The Endoplasmic Reticulum: Structure, Function and Response to Cellular Signaling ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 73 (1): 79-94. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2052-6>.
- Senger K, Pham VC, Varfolomeev E, Hackney JA, Corzo CA. 2017. « The kinase TPL2 activates ERK and p38 signaling to promote neutrophilic inflammation ». *Sci Signal*. 10(475):eaah4273. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aah4273>.
- Serebrennikova OB, Tsatsanis C, Mao C, Gounaris E, Ren W, Siracusa LD, Eliopoulos AG, Khazaie K, Tscholis PN. 2012. « Tpl2 ablation promotes intestinal inflammation and tumorigenesis in Apcmin mice by inhibiting IL-10 secretion and regulatory T-cell generation ». *Proc Natl Acad Sci USA*. 09(18):E1082-91. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115098109>.
- Sharma, Rohit B., et Laura C. Alonso. 2014. « Lipotoxicity in the Pancreatic Beta Cell: Not Just Survival and Function, but Proliferation as Well? ». *Current Diabetes Reports* 14 (6): 492. <https://doi.org/10.1007/s11892-014-0492-2>.
- Sheng, Qingfeng, Xiangwei Xiao, Krishna Prasad, Congde Chen, Yungching Ming, Joseph Fusco, Nupur N. Gangopadhyay, David Ricks, et George K. Gittes. 2017. « Autophagy Protects Pancreatic Beta Cell Mass and Function in the Setting of a High-Fat and High-Glucose Diet ». *Scientific Reports* 7 (1): 16348. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16485-0>.
- Sheu, Wayne Huey-Herng, Keng-Hung Lin, Jun-Sing Wang, De-Wei Lai, Wen-Jane Lee, Fu-Yu Lin, Po-Hsun Chen, et al. 2020. « Therapeutic Potential of Tpl2 (Tumor Progression Locus 2) Inhibition on Diabetic Vasculopathy Through the Blockage of the Inflammasome Complex ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, novembre. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.315176>.
- Shigeto, Makoto, Reshma Ramracheya, Andrei I. Tarasov, Chae Young Cha, Margarita V. Chibalina, Benoit Hastoy, Koenraad Philippaert, et al. 2015. « GLP-1 Stimulates Insulin Secretion by PKC-Dependent TRPM4 and TRPM5 Activation ». *Journal of Clinical Investigation* 125 (12): 4714-28. <https://doi.org/10.1172/JCI81975>.
- Shirakawa, Jun, et Yasuo Terauchi. 2020. « Newer Perspective on the Coupling between Glucose-Mediated Signaling and  $\beta$ -Cell Functionality ». *Endocrine Journal* 67 (1): 1-8. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ19-0335>.
- Shyr, Zeenat A., Zhiyu Wang, Nathaniel W. York et al. 2019. « The role of membrane excitability in pancreatic  $\beta$ -cell glucotoxicity ». *Sci Rep*. 9(1):6952. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43452-8>.
- Sidarala, Vaibhav, et Anjaneyulu Kowluru. 2017. « The Regulatory Roles of Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathways in Health and Diabetes: Lessons Learned from the Pancreatic  $\beta$ -Cell ». *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery* 10 (2): 76-84. <https://doi.org/10.2174/1872214810666161020154905>.
- Sies, H. 1997. « Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants ». *Experimental Physiology* 82 (2): 291-95. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>.



- Singh, Sanghamitra, Diti Chatterjee Bhowmick, Satyabrata Pany, Myungkuk Joe, Noor Zaghmla, et Aleksandar M. Jeremic. 2018. « Apoptosis Signal Regulating Kinase-1 and NADPH Oxidase Mediate Human Amylin Evoked Redox Stress and Apoptosis in Pancreatic Beta-Cells ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1860 (9): 1721-33. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.03.024>.
- Sokolova, Marina, Afaf Sahraoui, Merete Høyem, Jonas Øgaard, Egil Lien, Pål Aukrust, Arne Yndestad, Trine Ranheim, et Hanne Scholz. 2018. « NLRP3 Inflammasome Mediates Oxidative Stress-Induced Pancreatic Islet Dysfunction ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 315 (5): E912-23. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00461.2017>.
- Solinas, Giovanni, et Barbara Becattini. 2017. « JNK at the Crossroad of Obesity, Insulin Resistance, and Cell Stress Response ». *Molecular Metabolism* 6 (2): 174-84. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.12.001>.
- Song, C., Y. Lyu, C. Li, P. Liu, J. Li, R. C. Ma, et X. Yang. 2018. « Long-Term Risk of Diabetes in Women at Varying Durations after Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis with More than 2 Million Women: Diabetes in Women after Gestational Diabetes ». *Obesity Reviews* 19 (3): 421-29. <https://doi.org/10.1111/obr.12645>.
- Song, Zhuoyao, Jie Ma, Yuanhua Lu, Chao Zhou, Tongjian Zhao, Xilei Ai, Xuechen Wei, et al. 2019. « The Protective Role of the MKP-5-JNK/P38 Pathway in Glucolipotoxicity-Induced Islet  $\beta$ -Cell Dysfunction and Apoptosis ». *Experimental Cell Research* 382 (1): 111467. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.06.012>.
- Sonoda, N., T. Imamura, T. Yoshizaki, J. L. Babendure, J.-C. Lu, et J. M. Olefsky. 2008. « -Arrestin-1 Mediates Glucagon-like Peptide-1 Signaling to Insulin Secretion in Cultured Pancreatic Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (18): 6614-19. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710402105>.
- Srinivasan, Shanthi, Ernesto Bernal-Mizrachi, Mitsuru Ohsugi, et Marshall Alan Permutt. 2002. « Glucose Promotes Pancreatic Islet  $\beta$ -Cell Survival through a PI 3-Kinase/Akt-Signaling Pathway ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 283 (4): E784-93. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00177.2002>.
- Stafford, Margaret J., Nick A. Morrice, Mark W. Pegg, et Philip Cohen. 2006. « Interleukin-1 Stimulated Activation of the COT Catalytic Subunit through the Phosphorylation of Thr290 and Ser62 ». *FEBS Letters* 580 (16): 4010-14. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.06.004>.
- Stevens, Megan, et Sebastian Oltean. 2019. « Modulation of the Apoptosis Gene Bcl-x Function Through Alternative Splicing ». *Frontiers in Genetics* 10 (septembre): 804. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00804>.
- Subramanian, S. L., R. L. Hull, S. Zraika, K. Aston-Mourney, J. Udayasankar, et S. E. Kahn. 2012. « CJUN N-Terminal Kinase (JNK) Activation Mediates Islet Amyloid-Induced Beta Cell Apoptosis in Cultured Human Islet Amyloid Polypeptide Transgenic Mouse Islets ». *Diabetologia* 55 (1): 166-74. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2338-7>.
- Sun F., Z. Qu, Y. Xiao et al. 2016. « NF-KB1 p105 suppresses lung tumorigenesis through the Tpl2 kinase but independently of its NF-KB function ». *Oncogene* 35(18):2299-310. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.299>.

Sveceny Jakub, Jana Jiruskova, Karel Hrach et al. 2020. « Sulfonylurea derivatives and risk of hyperglycaemia in type 2 diabetic patients ». *Vnitřní lékařství* 66(6):35-42.

Svendsen, Berit, et Jens J. Holst. 2021. « Paracrine Regulation of Somatostatin Secretion by Insulin and Glucagon in Mouse Pancreatic Islets ». *Diabetologia* 64 (1): 142-51. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05288-0>.

Tabas, Ira, et David Ron. 2011. « Integrating the Mechanisms of Apoptosis Induced by Endoplasmic Reticulum Stress ». *Nature Cell Biology* 13 (3): 184-90. <https://doi.org/10.1038/ncb0311-184>.

Tang, Christine, Lucy Shu Nga Yeung, Khajag Koulajian, Liling Zhang, Kevin Tai, Allen Volchuk, et Adria Giacca. 2018. « Glucose-Induced  $\beta$ -Cell Dysfunction In Vivo: Evidence for a Causal Role of C-Jun N-Terminal Kinase Pathway ». *Endocrinology* 159 (11): 3643-54. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00566>.

Tanti, Jean-François, et Jennifer Jager. 2009. « Cellular Mechanisms of Insulin Resistance: Role of Stress-Regulated Serine Kinases and Insulin Receptor Substrates (IRS) Serine Phosphorylation ». *Current Opinion in Pharmacology* 9 (6): 753-62. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.07.004>.

Tanti, J.F., P. Gual, T. Grémeaux, T. Gonzalez, R. Barrès, et Y. Le Marchand-Brustel. 2004. « Alteration in Insulin Action: Role of IRS-1 Serine Phosphorylation in the Retroregulation of Insulin Signalling ». *Annales d'Endocrinologie* 65 (1): 43-48. [https://doi.org/10.1016/S0003-4266\(04\)95629-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4266(04)95629-6).

Templin, Andrew T., Tanya Samarasekera, Daniel T. Meier, Meghan F. Hogan, Mahnaz Mellati, Michael T. Crow, Richard N. Kitsis, Sakeneh Zraika, Rebecca L. Hull, et Steven E. Kahn. 2017. « Apoptosis Repressor With Caspase Recruitment Domain Ameliorates Amyloid-Induced  $\beta$ -Cell Apoptosis and JNK Pathway Activation ». *Diabetes* 66 (10): 2636-45. <https://doi.org/10.2337/db16-1352>.

Tenenbaum, Mathie, Valérie Plaisance, Raphael Boutry, Valérie Pawlowski, Cécile Jacovetti, Clara Sanchez-Parra, Hélène Ezanno, et al. 2021. « The Map3k12 (Dlk)/JNK3 Signaling Pathway Is Required for Pancreatic Beta-Cell Proliferation during Postnatal Development ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 78 (1): 287-98. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03499-7>.

Tenoutasse, Sylvie, et Harry Dorchy. 2010. « Diabète néonatal : un cas d'agénésie des cellules  $\beta$  et suivi pendant 38 ans d'un diabète néonatal permanent ». *Rev Med Brux*, 4.

Terauchi, Y., I. Takamoto, N. Kubota, J. Matsui, R. Suzuki, K. Komeda, A. Hara, et al. 2007. « Glucokinase and IRS-2 Are Required for Compensatory Cell Hyperplasia in Response to High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance ». *Journal of Clinical Investigation* 117 (1): 246-57. <https://doi.org/10.1172/JCI17645>.

Tesch, Greg H., Frank Y. Ma, et David J. Nikolic-Paterson. 2020. « Targeting Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 in Acute and Chronic Kidney Disease ». *The Anatomical Record* 303 (10): 2553-60. <https://doi.org/10.1002/ar.24373>.

Thorens, B. 2014. « Neural Regulation of Pancreatic Islet Cell Mass and Function ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 16 (S1): 87-95. <https://doi.org/10.1111/dom.12346>.

- Tokarz, Victoria L., Patrick E. MacDonald, et Amira Klip. 2018. « The Cell Biology of Systemic Insulin Function ». *Journal of Cell Biology* 217 (7): 2273-89. <https://doi.org/10.1083/jcb.201802095>.
- Tomas, Alejandra, Ben Jones, et Colin Leech. 2020. « New Insights into Beta-Cell GLP-1 Receptor and CAMP Signaling ». *Journal of Molecular Biology* 432 (5): 1347-66. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.08.009>.
- Tomita, Tatsuo. 2016. « Apoptosis in Pancreatic  $\beta$ -Islet Cells in Type 2 Diabetes ». *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences* 16 (3): 162-79. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2016.919>.
- Topp, B. G., M. D. McArthur, et D. T. Finegood. 2004. « Metabolic Adaptations to Chronic Glucose Infusion in Rats ». *Diabetologia* 47 (9): 1602-10. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1493-5>.
- Vakilian, Mehrdad, Yaser Tahamtani, et Kamran Ghaedi. 2019. « A Review on Insulin Trafficking and Exocytosis ». *Gene* 706 (juillet): 52-61. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.04.063>.
- Van Acker, Gijs J.D., George Perides, Eric R. Weiss, Santasabuj Das, Philip N. Tschlis, et Michael L. Steer. 2007. « Tumor Progression Locus-2 Is a Critical Regulator of Pancreatic and Lung Inflammation during Acute Pancreatitis ». *Journal of Biological Chemistry* 282 (30): 22140-49. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702225200>.
- Vanderford, Nathan L. 2011. « Regulation of  $\beta$ -Cell-Specific and Glucose-Dependent *MafA* Expression ». *Islets* 3 (1): 35-37. <https://doi.org/10.4161/isl.3.1.14032>.
- Varin, E M, A Wojtusciszyn, C Broca, D Muller, M A Ravier, F Ceppo, E Renard, J-F Tanti, et S Dalle. 2016. « Inhibition of the MAP3 Kinase Tpl2 Protects Rodent and Human  $\beta$ -Cells from Apoptosis and Dysfunction Induced by Cytokines and Enhances Anti-Inflammatory Actions of Exendin-4 ». *Cell Death & Disease* 7 (1): e2065-e2065. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.399>.
- Vaxillaire, Martine, Amélie Bonnefond, et Philippe Froguel. 2012. « The Lessons of Early-Onset Monogenic Diabetes for the Understanding of Diabetes Pathogenesis ». *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 26 (2): 171-87. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2011.12.001>.
- Virla, Dimitra, Christos Tsatsanis, et Aristides G. Eliopoulos. 2016. « TPL2 ». In *Encyclopedia of Signaling Molecules*, édité par Sangdun Choi, 1-10. New York, NY: Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6438-9\\_626-1](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6438-9_626-1).
- Vougioukalaki, Maria, Dimitris C. Kanellis, Kalliopi Gkouskou, et Aristides G. Eliopoulos. 2011. « Tpl2 Kinase Signal Transduction in Inflammation and Cancer ». *Cancer Letters* 304 (2): 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.02.004>.
- Vyrla D, Nikolaidis G, Oakley F, Perugorria MJ, Tschlis PN, Mann DA, Eliopoulos AG. 2016. « TPL2 kinase is a crucial signaling factor and mediator of NKT effector cytokine expression in immune-mediated liver injury ». 196(10)4298-310. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501609>.
- Wali, Jibrán A., Esteban N. Gurzov, Stacey Fynch, Lorraine Elkerbout, Thomas W. Kay, Seth L. Masters, et Helen E. Thomas. 2014. « Activation of the NLRP3 Inflammasome Complex Is Not Required for Stress-Induced Death of Pancreatic Islets ». Édité par David M. Ojcius. *PLoS ONE* 9 (11): e113128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113128>.

- Walter, P., et D. Ron. 2011. « The Unfolded Protein Response: From Stress Pathway to Homeostatic Regulation ». *Science* 334 (6059): 1081-86. <https://doi.org/10.1126/science.1209038>.
- Wang, Jingjing, et Hongjun Wang. 2017. « Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017: 1-9. <https://doi.org/10.1155/2017/1930261>.
- Wang, Q., et P. Brubaker. 2002. « Glucagon-like Peptide-1 Treatment Delays the Onset of Diabetes in 8 Week-Old Db/Db Mice ». *Diabetologia* 45 (9): 1263-73. <https://doi.org/10.1007/s00125-002-0828-3>.
- Wang, Weiping, Qiong Shi, Ting Guo, Zhe Yang, Zhuqing Jia, Ping Chen, et Chunyan Zhou. 2016. « PDX1 and ISL1 Differentially Coordinate with Epigenetic Modifications to Regulate Insulin Gene Expression in Varied Glucose Concentrations ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 428 (juin): 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.03.019>.
- Watford WT, Hissong BD, Durant LR, Yamane H, Muul LM et al. 2008. « Tpl2 kinase regulates T cell interferon-gamma production and host resistance to *Toxoplasma gondii* ». *J Exp Med*. 205(12):2803-12. <https://doi.org/10.1084/jem.20081461>.
- Ward, Meliza G., Ge Li, et Mingming Hao. 2018. « Apoptotic  $\beta$ -Cells Induce Macrophage Reprogramming under Diabetic Conditions ». *Journal of Biological Chemistry* 293 (42): 16160-73. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004565>.
- Webb, Louise V., Sonia Ventura, et Steven C. Ley. 2019. « ABIN-2, of the TPL-2 Signaling Complex, Modulates Mammalian Inflammation ». *Trends in Immunology* 40 (9): 799-808. <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.07.001>.
- Wei, Xiaowei, Nan Gu, Nan Feng, Xiaohui Guo, et Xiaowei Ma. 2018. « Inhibition of P38 Mitogen-Activated Protein Kinase Exerts a Hypoglycemic Effect by Improving  $\beta$  Cell Function via Inhibition of  $\beta$  Cell Apoptosis in Db/Db Mice ». *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 33 (1): 1494-1500. <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1477138>.
- Weir, G. C., L. Marselli, P. Marchetti, H. Katsuta, M. H. Jung, et S. Bonner-Weir. 2009. « Towards Better Understanding of the Contributions of Overwork and Glucotoxicity to the  $\beta$ -Cell Inadequacy of Type 2 Diabetes ». *Diabetes, Obesity and Metabolism* 11 (novembre): 82-90. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01113.x>.
- Weir, Gordon C. 2020. « Glucolipototoxicity,  $\beta$ -Cells, and Diabetes: The Emperor Has No Clothes ». *Diabetes* 69 (3): 273-78. <https://doi.org/10.2337/db19-0138>.
- White, Sarah A., Lisa S. Zhang, Daniel J. Pasula, Yu Hsuan Carol Yang, et Dan S. Luciani. 2020. « Bax and Bak Jointly Control Survival and Dampen the Early Unfolded Protein Response in Pancreatic  $\beta$ -Cells under Glucolipotoxic Stress ». *Scientific Reports* 10 (1): 10986. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67755-3>.
- Willcox, A., S. J. Richardson, A. J. Bone, A. K. Foulis, et N. G. Morgan. 2009. « Analysis of Islet Inflammation in Human Type 1 Diabetes ». *Clinical & Experimental Immunology* 155 (2): 173-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03860.x>.
- Wu, Junjun, Neal Green, Rajeev Hotchandani, Yonghan Hu, Jeffrey Condon, Adrian Huang, Neelu Kaila, et al. 2009. « Selective Inhibitors of Tumor Progression Loci-2 (Tpl2) Kinase with

- Potent Inhibition of TNF- $\alpha$  Production in Human Whole Blood ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19 (13): 3485-88. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.05.009>.
- Wu, Kai Connie, Gary Cain, Janice Corpuz, Daqi Xu, Nina Ljumanovic, et Ali A. Zarrin. 2021. « Tpl2 Kinase Regulates Inflammation but Not Tumorigenesis in Mice ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 418 (mai): 115494. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2021.115494>.
- Wu Q, Li J, Li Z, Sun S, Zhu S, Wang L, Wu J, Yuan J, Zhang Y, Sun S, Wang C. 2019. « Exosomes from the tumour-adipocyte interplay stimulate beige/brown differentiation and reprogram metabolism in stromal adipocytes to promote tumour progression ». *J Exp Clin Cancer Res.* 38(1):223. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1210-3>.
- Xiaosong M, Guan Y, Hua X. 2014. « Glucagon-like peptide 1-potentiated insulin secretion and proliferation of pancreatic beta-cells ». *J. Diabetes.* 6(5):394-402. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12161>.
- Xu, Xuejuan, Jinsong Chen, Lidong Hu, Ming Liang, Xiaozhou Wang, Si Feng, Jie Shen, et Xiaojun Luan. 2018. « Liraglutide Regulates the Viability of Pancreatic  $\alpha$ -Cells and Pancreatic  $\beta$ -Cells through CAMP-PKA Signal Pathway ». *Life Sciences* 195 (février): 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.12.012>.
- Yaginuma, Nobuhisa, Tohru Takahashi, Ken Saito, et Masahisa Kyogoku. 1986. « The Microvasculature of the Human Pancreas and Its Relation to Langerhans Islets and Lobules ». *Pathology - Research and Practice* 181 (1): 77-84. [https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(86\)80191-1](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(86)80191-1).
- Yamaguchi, Kiyoshi, Kohsuke Takeda, Hisae Kadowaki, Ikumi Ueda, Yoshio Namba, Yasuyoshi Ouchi, Hideki Nishitoh, et Hidenori Ichijo. 2013. « Involvement of ASK1–P38 Pathway in the Pathogenesis of Diabetes Triggered by Pancreatic  $\beta$  Cell Exhaustion ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1830 (6): 3656-63. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.01.029>.
- Yan MH, Hao JH, Zhang XG, Shen CC, Zhang DJ, Zhang KS, Zheng HX, Liu XT. 2019. « Advancement in TPL2-regulated innate immune response ». *Immunobiology.* 224(3):383-7. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2019.02.010>.
- Yang, Chul-Su, Dong-Min Shin, et Eun-Kyeong Jo. 2012. « The Role of NLR-Related Protein 3 Inflammasome in Host Defense and Inflammatory Diseases ». *International Neurourology Journal* 16 (1): 2. <https://doi.org/10.5213/inj.2012.16.1.2>.
- Yaomura, Takaaki, Naotake Tsuboi, Yoshinori Urahama, Akinori Hobo, Kenji Sugimoto, Jun Miyoshi, Tetsuya Matsuguchi, Kannagi Reiji, Seiichi Matsuo, et Yukio Yuzawa. 2008. « Serine/Threonine Kinase, Cot/Tpl2, Regulates Renal Cell Apoptosis in Ischaemia/Reperfusion Injury ». *Nephrology* 13 (5): 397-404. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2008.00959.x>.
- Yaribeygi, Habib, Thozhukat Sathyapalan, Stephen L. Atkin, et Amirhossein Sahebkar. 2020. « Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020 (mars): 1-13. <https://doi.org/10.1155/2020/8609213>.
- Ye, Risheng, Toshiharu Onodera, et Philipp E Scherer. 2019. « Lipotoxicity and  $\beta$  Cell Maintenance in Obesity and Type 2 Diabetes ». *Journal of the Endocrine Society* 3 (3): 617-31. <https://doi.org/10.1210/js.2018-00372>.

- Yu CG, Fu Y, Fang Y, Zhand N, Sun RX, Zhao D, Feng YM, Zhang BY. 2019. « Fighting Type-2 Diabetes: Present and future perspectives ». *Curr Med Chem.* 29(12):2614-34. <https://doi.org/10.2174/0929867324666171009115356>.
- Zarrin, Ali A., Katherine Bao, Patrick Lupardus, et Domagoj Vucic. 2021. « Kinase Inhibition in Autoimmunity and Inflammation ». *Nature Reviews Drug Discovery* 20 (1): 39-63. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0082-8>.
- Zeke, András, Mariya Misheva, Attila Reményi, et Marie A. Bogoyevitch. 2016. « JNK Signaling: Regulation and Functions Based on Complex Protein-Protein Partnerships ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80 (3): 793-835. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00043-14>.
- Zerilli T et Pyon EY. 2007. « Sitagliptin phosphate: a DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus ». *Clin Ther.* 29(12):2614-34. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2007.12.034>.
- Zhang, Chuan, Takashi Moriguchi, Miwako Kajihara, Ritsuko Esaki, Ayako Harada, Homare Shimohata, Hisashi Oishi, et al. 2005. « MafA Is a Key Regulator of Glucose-Stimulated Insulin Secretion ». *Molecular and Cellular Biology* 25 (12): 4969-76. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.12.4969-4976.2005>.
- Zhang Z, Hu Y, Xu N, Zhou W, Yang L, Chen R, Yang R, Sun J, Chen H. 2019. « A new way for beta cell neogenesis: transdifferentiation from alpha cells induced by glucagon-like peptide 1 ». *J Diabetes Res.* 13;2019:2583047. <https://doi.org/10.1155/2019/25583047>.
- Zhou, Poudel, Welchko, Mekala, Chandramani-Shivalingappa, Rosca et Li. 2019. « Liraglutide improves insulin sensitivity in high fat diet induced diabetic mice through multiple pathways ». *Eur J Pharmacol.* 15;861:172594 <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172594>.
- Zhu, Yaxi, Qian Liu, Zhiguang Zhou, et Yasuhiro Ikeda. 2017. « PDX1, Neurogenin-3, and MAFA: Critical Transcription Regulators for Beta Cell Development and Regeneration ». *Stem Cell Research & Therapy* 8 (1): 240. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0694-z>.
- Zhu, Lu, Joana Almaça, Prasanna K. Dadi et al. 2017. «  $\beta$ -arrestin-2 is an essential regulator of pancreatic  $\beta$ -cell function under physiological and pathological conditions ». *Nat Commun.* 8:14295. <https://doi.org/10.1038/ncomms14295>.
- Zummo, Francesco P., Kirsty S. Cullen, Minna Honkanen-Scott, James A.M. Shaw, Penny E. Lovat, et Catherine Arden. 2017. « Glucagon-Like Peptide 1 Protects Pancreatic  $\beta$ -Cells From Death by Increasing Autophagic Flux and Restoring Lysosomal Function ». *Diabetes* 66 (5): 1272-85. <https://doi.org/10.2337/db16-1009>.



## ANNEXES

---

- **Manuscrit publié :**

Revue n°1 :

Morgane Delobel and Stéphane Dalle. « G-protein-coupled receptors controlling pancreatic  $\beta$ -cell functional mass for the treatment of type 2 diabetes ». *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*. 2020 ; 16 :113-8.

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.09.010>

- **Manuscrits en préparation / soumis :**

Article n°1 :

Morgane Delobel, Valérie Plaisance, Dany Muller, Elodie Varin, Gyslaine Bertrand, Safia Costes, Christophe Broca, Anne Wojtuszczyz, Amar Abderrahmani, Eric Renard, Magalie A. Ravier, Stéphane Dalle. « A small-molecule inhibitor of the MAP3 Kinase TPL2 improves nutrient-induced  $\beta$ -cell dysfunction and death ».

En préparation, soumission prévue pour Septembre 2021.

Revue n°2 :

Morgane Delobel and Stéphane Dalle. « Pharmacological inhibitors of  $\beta$ -cell dysfunction and death for the treatment of Type 2 Diabetes ».

En préparation, soumission prévue pour Septembre 2021.

Sur invitation du journal *Cells*.

Article n°2 :

Matthew R. Brown, Damien Laouteouet, Morgane Delobel, Oriane Villard, Gyslaine Bertrand, Anne Wojtuszczyz, Stéphane Dalle, Magalie A. Ravier, Aleksey V. Matveyenko, Safia Costes. « The circadian clock nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  is implicated in the alteration of  $\beta$ -cell autophagy and survival under diabetogenic conditions ».

Soumis à Cell Death and Disease.

- **Communications :**

- Poster :

« Inhibition of the MAP3 Kinase TPL2 protects pancreatic  $\beta$ -cells from dysfunction and death induced by diabetogenic environment ». M. Delobel, E.M. Varin, G. Bertrand, S. Costes, C. Broca, A. Wojtuszczyz, E. Renard, M.A. Ravier, S. Dalle. Montpellier Diabetes Day. 2019.

- Communication orale :

« Les effets d'un agoniste du récepteur GLP-1 sur les cellules  $\beta$  pancréatiques sont renforcés par combinaison avec un inhibiteur de la kinase TPL2 ». M. Delobel, V. Plaisance, G. Bertrand, S. Costes, C. Broca, A. Wojtuszczyz, A. Abderrahmani, E. Renard, M.A. Ravier, S. Dalle. Congrès de la SFD, 2021.



## Reviews

# G-protein–coupled receptors controlling pancreatic $\beta$ -cell functional mass for the treatment of type 2 diabetes

Morgane Delobel and Stéphane Dalle

**Abstract**

The first phase of insulin secretion is altered during the early stages of diabetes and is followed by progressive loss of the ability of glucose to stimulate insulin secretion. The primary causes of insulin secretory defects are still unknown. Better understanding of the signaling pathways linked to the activation of G-protein–coupled receptors and their mutual interactions in the  $\beta$ -cells remains crucial. This represents a prerequisite for any strategy to develop therapeutic tools that aim to modulate the insulin secretory function and/or mass of  $\beta$ -cells. This review summarizes knowledge over the last two years on G-protein–coupled receptors functionally expressed in  $\beta$ -cells, which present key features for the development of therapy for type 2 diabetes.

**Addresses**

Institut de Génomique Fonctionnelle, CNRS, INSERM, Université Montpellier, Montpellier, France

Corresponding author: Dalle, Stéphane ([stephane.dalle@igf.cnrs.fr](mailto:stephane.dalle@igf.cnrs.fr))

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2021, 16:113–118

This review comes from a themed issue on **GPCRs**

Edited by **Aylin Hanyaloglu & Eric Reiter**

For a complete overview see the [Issue](#) and the [Editorial](#)

Available online 16 October 2020

<https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.09.010>

2451-9650/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords**

G-protein–coupled receptor, Pancreatic  $\beta$ -cell, Insulin secretion, Diabetes, Therapeutic strategies, Signal transduction.

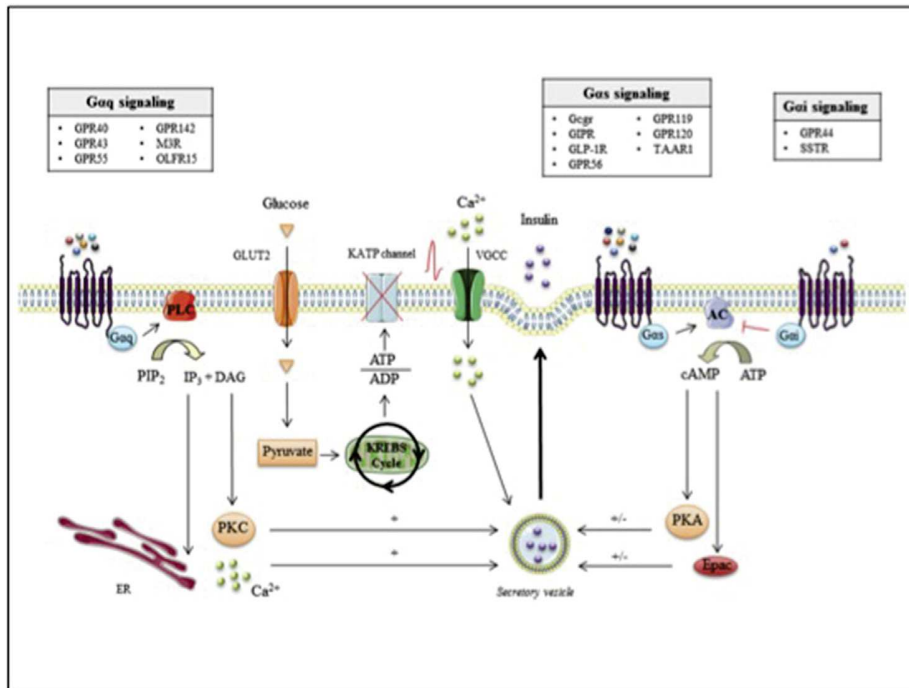
**Introduction**

Type 2 diabetes (T2D) is a serious health problem that affects million people worldwide [1]. The pathophysiology of T2D is characterized by insulin resistance and progressive impairment of  $\beta$ -cell function. The insulin resistance of T2D, although important for its pathophysiology, is not sufficient to establish the disease unless major deficiency of  $\beta$ -cell function coexists [2]. Reduced  $\beta$ -cell mass has also been proposed to be associated with T2D [3]. Therefore, innovative therapeutic strategies aiming at preserving  $\beta$ -cell function and survival are of great interest to slow the progression

or even to prevent T2D [4,5].  $\beta$ -Cell dysfunction and death are caused by multiple stressors including chronic hyperglycemia (glucotoxicity), lipotoxicity, oxidative stress, endoplasmic reticulum (ER) stress, the formation of amyloid deposits, and proinflammatory cytokines [6]. Unfortunately, none of the currently and widely prescribed antidiabetic drugs favor the maintenance of endogenous functional  $\beta$ -cell mass, revealing an unmet medical need.

In vivo, the insulin secretion is triggered by the circulating nutrients, mainly by the glucose [7,8]. Glucose triggers insulin secretion when it is taken up into the  $\beta$ -cell through the glucose transporter 2. When glucose is metabolized, the ATP/ADP ratio is increased. This results in the closure of the ATP-sensitive potassium channels and membrane depolarization which favors the opening of the voltage-gated calcium channels increasing the calcium influx within the  $\beta$ -cell. Elevation of the calcium concentration in the cytosol triggers insulin secretion (Figure 1) [8]. The glucose-induced insulin secretion is radically modulated in terms of amplitude by many factors such as hormones, growth factors, or neurotransmitters, most which act by activation or inhibition of intracellular signaling pathways engaged by seven membrane-spanning G-protein–coupled receptors (GPCRs) or tyrosine kinase receptors. Activation of GPCRs results in different  $\beta$ -cell signaling, involving the cAMP/protein kinase A (PKA)/Epac, and the inositol triphosphate (IP3)/diacylglycerol (DAG) pathways, as well as changes in protein phosphorylation and protein acylation. The cAMP/PKA and the IP3/DAG pathways engaged during the activation of GPCRs are among the most important signaling pathways for the  $\beta$ -cell biology (Figure 1).  $G\alpha_s$  mediates increases in intracellular cAMP associated with increased insulin secretion, while  $G\alpha_i$  mediates decreases in intracellular cAMP and inhibition of insulin secretion.  $G\alpha_q$  mediates increases in IP3 and DAG production through the activation of phospholipase C (PLC) associated with increased release of calcium ( $Ca^{2+}$ ) from the ER and enhanced insulin secretion [9,10]. GPCRs control the dynamics of the exocytosis of insulin granules to maintain the state of differentiation and to regulate the  $\beta$ -cell survival programs [9]. Table 1 presents the GPCRs expressed in  $\beta$ -cells (in bold the GPCRs covered in this review).

Figure 1



**Insulin secretion induced by glucose and modulated by GPCRs.** After its entry in  $\beta$ -cells, glucose is metabolized by glycolysis leading to production of pyruvate. Pyruvate enters the Krebs cycle in the mitochondria increasing ATP/ADP ratio. This favors the closure of ATP-sensitive potassium (KATP) channels, membrane depolarization triggering calcium entry through the opening of voltage-gated calcium channels (VGCC) leading to insulin secretion. G-protein-coupled receptors (GPCRs) coupled to  $G\alpha_q$  and  $G\alpha_s$  proteins act on phospholipase C (PLC) and adenylate cyclase (AC), respectively. Inositol triphosphate ( $IP_3$ ) and diacylglycerol (DAG) stimulate protein kinase C (PKC), while cAMP production activates protein kinase A (PKA) and Epac, which potentiate the glucose-induced insulin secretion.  $G\alpha_i$  coupling leads the inhibition of AC, reducing cAMP production and decreasing insulin secretion.

### Glucagon-like peptide-1 receptor

Specific glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors (GLP-1Rs) are coupled to  $G\alpha_s$  with subsequent activation of adenylate cyclase and elevation of cAMP levels in  $\beta$ -cells. When activated, GLP-1R potentiates glucose-induced insulin secretion through cAMP production. GLP-1R is a key target for T2D treatment [11].

Beyond  $G\alpha_s$  coupling to cAMP production, GLP-1R undergoes agonist-mediated endocytosis. Over the last two years, the consequences of modulating GLP-1R endocytic trafficking were investigated. Using a targeted RNAi screen strategy, Buenaventura et al [12] identified key modulators of GLP-1R endocytic trafficking and signaling that may provide novel targets to increase insulin secretion in T2D. Clathrin, dynamin1, AP2, and sorting nexins were found to increase, whereas huntingtin-interacting protein 1, HIP14, GASP-1, and Nedd4 were shown to decrease insulin secretion in response to the GLP-1 analog exendin-4. Huntingtin-interacting protein 1 couples the cell surface GLP-1R activation with clathrin-dependent endocytosis. Sorting nexin proteins control the balance between GLP-1R

recycling and lysosomal degradation regulating the  $\beta$ -cell responses to GLP-1 [12]. A series of biased GLP-1R agonists with variable propensities for GLP-1R internalization and recycling were tested. Compounds that prompt less GLP-1R internalization and retain the receptor at the plasma membrane were reported to favor greater and long-term glucose-induced insulin secretion. These compounds elicited glycemic benefits in mice [13]. Translocation of active GLP-1Rs into liquid-ordered plasma membrane nanodomains was also found to be essential for optimal coordination of clathrin-mediated endocytosis and intracellular signaling. Biased GLP-1R agonists and small-molecule allosteric modulators were described to both influence GLP-1R nanodomain internalization and signaling. These molecular processes may be relevant to GLP-1R actions in  $\beta$ -cells and might be therapeutically targetable [14,15].

### Glucagon and somatostatin receptors

The islet hormones glucagon and somatostatin affect  $\beta$ -cell function through paracrine effects within the islets: glucagon released from  $\alpha$ -cells stimulates insulin

secretion and somatostatin released from  $\delta$ -cells inhibits insulin secretion. Somatostatin from  $\delta$ -cells acts on SSTR2 receptor coupled to Gi/Go proteins, which results in the inhibition of adenylate cyclase activity and a decrease in cAMP production.  $\delta$ -Cells and the paracrine interaction between the  $\delta$ -cells and  $\beta$ -cells were shown to be essential for neonatal survival, normal islet function, and glucose homeostasis [16]. Glucagon receptors are also expressed on  $\beta$ -cells, and glucagon stimulates insulin secretion. Binding of glucagon results in the activation of  $G\alpha_s$ , adenylate cyclase activity, and in an increase in cAMP production. Rodriguez-Diaz et al [17] confirmed that glucagon secreted by  $\alpha$ -cells plays a major role in regulating the neighboring  $\beta$ -cell through paracrine interactions.

### Lipid-binding GPCRs

Activation of GPR40 is known to potentiate glucose-induced insulin secretion from  $\beta$ -cells and enhances incretin hormone release from enteroendocrine cells of the small intestine. When activated by long-chain free fatty acids such as palmitate and oleic acid, GPR40 stimulates PLC through  $G\alpha_q$  coupling. The IP<sub>3</sub> pathway was found to play an important role in GPR40-mediated potentiation of glucose-induced insulin release in  $\beta$ -cells [18]. Full agonist and synthetic small-molecule superagonists of GPR40 enhancing insulin secretion in a glucose-dependent manner *in vitro* and *in vivo* were recently described [19–21]. A light-controllable GPR40 agonist (FAAzo-10) was reported to be a useful tool to investigate the effects of fatty acid derivatives in mouse  $\beta$ -cell function [22].

Activation of the GPCR 119 (GPR119) expressed in  $\beta$ -cells and intestinal L cells both stimulates insulin secretion and GLP-1 release. Activation of GPR119 in  $\beta$ -cells by lysophosphatidylcholine and oleoylethanolamide increases cAMP and insulin secretion. Investigations in GPR119 drug discovery were conducted, and novel structural diverse small-molecule modulators of GPR119 were recently found [23,24].

Free fatty acid receptor 4 (FFAR4) also called GPR120 is also expressed in  $\beta$ -cells. Activation of GPR120 stimulates Akt/ERK1/2 and PLC/ $Ca^{2+}$  signaling pathways and regulates insulin secretion, suggesting GPR120 as a valuable therapeutic target for T2D [25].

The adhesion GPCR 56 is the most abundant islet-expressed GPCR, indicating a potential role in pancreatic islet function. Olaniru et al [26] reported that this GPCR can be activated by its endogenous ligand extracellular matrix collagen III and when activated increases insulin secretion.

The role of free fatty acid receptor 2/GPCR 43 in mediating the effects of the short-chain fatty acids,

sodium acetate and sodium propionate, on islet function was recently investigated. This GPCR was shown to mediate both the stimulatory effects of sodium acetate and sodium propionate on insulin secretion and their protective effects against apoptosis [27].

### Neurotransmitter receptor

Activation of the parasympathetic nerves stimulates insulin secretion. The major parasympathetic neurotransmitters are acetylcholine, vasoactive intestinal polypeptide, pituitary, adenylate cyclase-activating polypeptide, and gastrin-releasing peptide [28]. M<sub>3</sub> muscarinic ACh receptors (M3Rs) are functionally expressed in  $\beta$ -cells and enhance insulin secretion *via* coupling to  $G\alpha_q$  activating PLC. A positive allosteric modulator of M3R function was found to improve

**Table 1**

**GPCRs expressed in pancreatic beta-cells.**

Receptor	Ligand	G-protein signaling	Effect on insulin secretion
B2	Noradrenaline	$G\alpha_s$	Stimulation
<b>Gcgr</b>	Glucagon		
<b>GIPR</b>	GIP		
<b>GLP-1R</b>	GLP-1RA		
GPR30	Estrogen		
GPR39	Obestatin/ $Zn^{2+}$		
<b>GPR56</b>	Collagen III		
<b>GPR119</b>	Fatty acid		
<b>GPR120</b>	Fatty acid		
TGR5	Oleic acid		
<b>TAAR1</b>	Trace amine		
PAC1	PACAP		
P2Y	ATP/ADP		
VPAC2	VIP/PACAP		
A2	Noradrenaline	$G\alpha_i$	Inhibition
CB1R	Cannabinoids		
GHS-R	Ghrelin		
<b>GPR44</b>	Prostaglandin D <sub>2</sub>		
NPYR	Peptide YY		
<b>SSTR2</b>	Somatostatin		
Y1	Neuropeptide Y		
AT1	Angiotensin II	$G\alpha_q$	Stimulation
CCK1	CCK		
FZD	Carbamazepine		
GPR39	Obestatin/ $Zn^{2+}$		
<b>GPR40</b>	Fatty acid		
<b>GPR43</b>	Fatty acid		
GPR54	Kisspeptin		
<b>GPR55</b>	Cannabinoids		
<b>GPR142</b>	Rhodopsin		
IL-6R	IL-6		
<b>M3R</b>	Acetylcholine		
<b>OLFR15</b>	Octanoic acid		
HTR2B	Serotonin		
V1B	Vasopressin		

GPCRs covered in this review are given in bold. GPCR, G-protein-coupled receptor.

glucose homeostasis in mice by promoting insulin secretion, suggesting that M3R positive allosteric modulators may become clinically useful as novel anti-diabetic agents [29].

### Novel GPCRs expressed in $\beta$ -cells

GPR55 is a cannabinoid receptor coupled to  $G\alpha_q$  signaling. GPR55 activation was shown to increase glucose-induced insulin secretion, to decrease ER stress-mediated apoptosis, to upregulate antiapoptotic genes such as Bcl-2 and Bcl-xL, and to induce the phosphorylation/activation of the transcription factor cAMP response element binding protein crucial for  $\beta$ -cell survival [30,31].

A class A of GPCR family, GPR142, has been recently reported to be highly expressed in  $\beta$ -cells and to play a role for the maintenance of  $\beta$ -cell function and the potentiation of glucose-stimulated insulin secretion [32–34].

The trace amine-associated receptor 1 is a GPCR expressed in  $\beta$ -cells. After activation, trace amine-associated receptor 1 was shown to be coupled to  $G\alpha_s$ -signaling pathways enhancing PKA/Epac-dependent insulin secretion, mitogen-activated protein kinase, cAMP response element binding protein signaling, and  $\beta$ -cell proliferation [35].

The olfactory receptor chemosensing machinery was reported to be functional in  $\beta$ -cells and to regulate the insulin secretion. Olfactory receptor isoforms were found to be expressed in pancreatic islets and in a  $\beta$ -cell line (i.e. MIN6) including OLF15 and OLF821. A medium-chain fatty acid contained in food, octanoic acid, which interacts with OLF15, potentiates glucose-stimulated insulin secretion and improves glucose tolerance *in vivo* [36].

### New technologies to investigate GPCR expression and signaling

A microfluidic system allowing the registration of intracellular signaling dynamics and hormone secretion within the pancreatic islets was developed and confirmed differences in GPCR signaling pathways between human  $\beta$ - and  $\alpha$ -cells [37].

Using quantification of mRNAs encoding all peptide ligands of GPCRs in isolated human and mouse pancreatic islets, Atanes et al [38] proposed detailed islet GPCR peptide ligand atlases favoring the identification of GPCR/peptide signaling pathways relevant for human islet physiology.

Quantitative markers to investigate and to evaluate the  $\beta$ -cell mass in human pancreas are still lacking. GPR44 was recently proposed as a putative marker for  $\beta$ -

cells and potential target for visualization of  $\beta$ -cell mass. Development of ligands in clinical testing is now needed to further investigate the role of GPR44 as a surrogate marker for  $\beta$ -cell mass in humans [39].

### Toward the development of new therapy for T2D: dual agonist and triagonist strategy to activate GPCRs

Current pharmacological therapies that target single GPCR were reported to exert limited efficacy for T2D treatment. It is important to note that novel approaches with hybrid peptides designed that activate more than one GPCR at once to generate beneficial effects through synergistic actions have shown great promising results for T2D treatment. Unimolecular dual and triagonists, mainly associated with GPCRs such as GLP-1/glucagon/GIP receptors, have shown great efficacy in preclinical models to preserve insulin secretion. These unimolecular dual agonists and triagonists are currently being evaluated in clinical trials to study their safety and beneficial effects in humans and patients with T2D [40–45].

### Signaling cross-talks between GPCRs, tyrosine kinase, and sulfonylurea receptors

We and others reported signaling cross-talks between GPCRs and tyrosine kinase receptors controlling  $\beta$ -cell function and survival. Regulation of FFAR4 (GPR120) by activation of receptor tyrosine kinases was recently reported. Insulin, insulin-like growth factor-1, epidermal growth factor, and, to a lesser extent, platelet-derived growth factor were found to induce GPR120 internalization. Whether this new evidenced signaling cross-talk between FFAR4/GPR120 and tyrosine kinase receptors is functional and plays a role in  $\beta$ -cell function remain to be studied [46].

Recently, Hart et al [42] demonstrated that multivalent activation of different type of receptors such as GLP-1R and sulfonylurea receptors modulated  $\beta$ -cell cAMP and calcium second messengers and increased glucose-stimulated insulin secretion in a dose-dependent manner.  $\beta$ -arrestin 1 and  $\beta$ -arrestin 2 are well described as intracellular scaffold and signaling molecules regulating key functions of GPCRs, such as desensitization and internalization. Recently, Barella et al [47] reported that  $\beta$ -arrestin 1 enhanced sulfonylurea-stimulated insulin secretion by promoting sulfonylurea-mediated activation of Epac2.  $\beta$ -arrestin 1 was found to directly interact with Epac2. Sulfonylurea such as glibenclamide promoted  $\beta$ -arrestin 1/Epac2 complex formation, triggering enhanced Rap1 signaling and insulin secretion. Strategies aimed at promoting  $\beta$ -arrestin 1 signaling in  $\beta$ -cells may prove useful for the development of efficacious antidiabetic drugs targeting



not only GPCRs but also sulfonylurea receptors [47].

## Conclusion

GPCRs expressed in  $\beta$ -cells receive considerable attention because of their potential as targets in drug development for T2D treatment. Over the next few years, the complex interdependencies between the different messengers and signaling pathways engaged by the activation of GPCRs in  $\beta$ -cells that regulate and shape the insulin secretory response have to be considered. In addition, GPCRs with known ligands need to be further studied in terms of ligand specificity, intracellular signaling, and endocytic trafficking and recycling.

## Conflict of interest statement

Nothing declared.

## Acknowledgements

Morgane Delobel is supported by the CIFRE grant Phd fellowship from MedBioMed.

## References

Papers of particular interest, published within the period of review, have been highlighted as:

\* of special interest

- Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, Colagiuri S, Guariguata L, Motala AA, Ogurtsova K, Shaw JE, Bright D, Williams R, Committee IDFDA: **Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition.** *Diabetes Res Clin Pract* 2019, **157**:107843.
- Nolan CJ, Prentki M: **Insulin resistance and insulin hypersecretion in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: time for a conceptual framework shift.** *Diabetes Vasc Dis Res* 2019, **16**:118–127.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC: **Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes.** *Diabetes* 2003, **52**:102–110.
- Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S: **Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future.** *Lancet* 2014, **383**:1068–1083.
- Yehya A, Sadhu AR: **New therapeutic strategies for type 2 diabetes (CME).** *Methodist Debakey Cardiovasc J* 2018, **14**:281–288.
- Burgos-Moron E, Abad-Jimenez Z, Maranon AM, Iannantuoni F, Escribano-Lopez I, Lopez-Domenech S, Salom C, Jover A, Mora V, Roldan I, Sola E, Rocha M, Victor VM: **Relationship between oxidative stress, ER stress, and inflammation in type 2 diabetes: the battle continues.** *J Clin Med* 2019, **8**.
- Mouille VS, Ghislain J, Poitout V: **Nutrient regulation of pancreatic beta-cell proliferation.** *Biochimie* 2017, **143**:10–17.
- Henquin JC: **Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose.** *Diabetes* 2000, **49**:1751–1760.
- Winzell MS, Ahren B: **G-protein-coupled receptors and islet function-implications for treatment of type 2 diabetes.** *Pharmacol Ther* 2007, **116**:437–448.
- Persaud SJ: **Islet G-protein coupled receptors: therapeutic potential for diabetes.** *Curr Opin Pharmacol* 2017, **37**:24–28.
- Baggio LL, Drucker DJ: **Biology of incretins: GLP-1 and GIP.** *Gastroenterology* 2007, **132**:2131–2157.
- Buenaventura T, Kanda N, Douzenis PC, Jones B, Bloom SR, Chabosseau P, Correa Jr IR, Bosco D, Piemonti L, Marchetti P, Johnson PR, Shapiro AMJ, Rutter GA, Tomas A: **A targeted RNAi screen identifies endocytic trafficking factors that control GLP-1 receptor signaling in pancreatic beta-cells.** *Diabetes* 2018, **67**:385–399.
- Jones B, Buenaventura T, Kanda N, Chabosseau P, Owen BM, Scott R, Goldin R, Angkathunyakul N, Correa Jr IR, Bosco D, Johnson PR, Piemonti L, Marchetti P, Shapiro AMJ, Cochran BJ, Hanyaloglu AC, Inoue A, Tan T, Rutter GA, Tomas A, Bloom SR: **Targeting GLP-1 receptor trafficking to improve agonist efficacy.** *Nat Commun* 2018, **9**:1602.
- Buenaventura T, Bitsi S, Laughlin WE, Burgoyne T, Lyu Z, Oqua AI, Norman H, McGlone ER, Klymchenko AS, Correa Jr IR, Walker A, Inoue A, Hanyaloglu A, Grimes J, Koszegi Z, Calebiro D, Rutter GA, Bloom SR, Jones B, Tomas A: **Agonist-induced membrane nanodomain clustering drives GLP-1 receptor responses in pancreatic beta cells.** *PLoS Biol* 2019, **17**, e3000097.  
This study shows that organization of GLP-1R into plasma membrane lipid nanodomains is important for optimal intracellular signaling. Biased agonists regulate these nanodomain and downstream signaling.
- Manchanda Y, Bitsi S, Kang Y, Jones B, Tomas A: **Spatiotemporal control of GLP-1 receptor activity.** *Curr Opin Endocrin Metabol Res* February 2021, **16**:19–27.
- Li N, Yang Z, Li Q, Yu Z, Chen X, Li JC, Li B, Ning SL, Cui M, Sun JP, Yu X: **Ablation of somatostatin cells leads to impaired pancreatic islet function and neonatal death in rodents.** *Cell Death Dis* 2018, **9**:682.
- Rodriguez-Diaz R, Molano RD, Weitz JR, Abdulreda MH, Berman DM, Leibiger B, Leibiger IB, Kenyon NS, Ricordi C, Pileggi A, Caicedo A, Berggren PO: **Paracrine interactions within the pancreatic islet determine the glycemic set point.** *Cell Metabol* 2018, **27**:549–558.e544.  
This study shows paracrine effects of  $\alpha$ -cells and  $\beta$ -cells which determine the glycemic regulation within the organism.
- Usui R, Yabe D, Fauzi M, Goto H, Botagarova A, Tokumoto S, Tatsuoka H, Tahara Y, Kobayashi S, Manabe T, Baba Y, Kurosaki T, Herrera PL, Ogura M, Nagashima K, Inagaki N: **GPR40 activation initiates store-operated Ca(2+) entry and potentiates insulin secretion via the IP3R1/STIM1/Orai1 pathway in pancreatic beta-cells.** *Sci Rep* 2019, **9**:15562.
- Huang H, Meegalla SK, Lanter JC, Winters MP, Zhao S, Littrell J, Qi J, Rady B, Lee PS, Liu J, Martin T, Lam WW, Xu F, Lim HK, Wilde T, Silva J, Otieno M, Poci A, Player MR: **Discovery of a GPR40 superagonist: the impact of aryl propionic acid alpha-fluorination.** *ACS Med Chem Lett* 2019, **10**:16–21.
- Abdel-Magid AF: **GPR40 receptor agonists for the treatment of type 2 diabetes and related diseases.** *ACS Med Chem Lett* 2018, **9**:870–871.
- Meegalla SK, Huang H, Martin T, Xu J, Zhao S, Liu J, Hall M, Gunnet J, Wang Y, Rady B, Silva J, Otieno M, Arnoult E, Paul Lee S, Poci A, Player MR: **Discovery of a novel potent GPR40 full agonist.** *Bioorg Med Chem Lett* 2018, **28**:720–726.
- Frank JA, Yushchenko DA, Fine NHF, Duca M, Citir M, Broichhagen J, Hodson DJ, Schultz C, Trauner D: **Optical control of GPR40 signalling in pancreatic beta-cells.** *Chem Sci* 2017, **8**:7604–7610.
- Nieto A, Fernandez-Vega V, Spicer TP, Sturchler E, Adhikari P, Kennedy N, Mandat S, Chase P, Scampavia L, Bannister T, Hodder P, McDonald PH: **Identification of novel, structurally diverse, small molecule modulators of GPR119.** *Assay Drug Dev Technol* 2018, **16**:278–288.
- Matsumoto K, Yoshitomi T, Ishimoto Y, Tanaka N, Takahashi K, Watanabe A, Chiba K: **DS-8500a, an orally available G protein-coupled receptor 119 agonist, upregulates glucagon-like peptide-1 and enhances glucose-dependent insulin secretion and improves glucose homeostasis in type 2 diabetic rats.** *J Pharmacol Exp Therapeut* 2018, **367**:509–517.

25. Wang Y, Xie T, Zhang D, Leung PS: **GPR120 protects lipotoxicity-induced pancreatic beta-cell dysfunction through regulation of PDX1 expression and inhibition of islet inflammation.** *Clin Sci (Lond)* 2019, **133**:101–116.
26. Olaniru OE, Pingitore A, Giera S, Piao X, Castanera Gonzalez R, Jones PM, Persaud SJ: **The adhesion receptor GPR56 is activated by extracellular matrix collagen III to improve beta-cell function.** *Cell Mol Life Sci* 2018, **75**:4007–4019.
27. Pingitore A, Gonzalez-Abuin N, Ruz-Maldonado I, Huang GC, Frost G, Persaud SJ: **Short chain fatty acids stimulate insulin secretion and reduce apoptosis in mouse and human islets in vitro: role of free fatty acid receptor 2.** *Diabetes Obes Metabol* 2019, **21**:330–339.
28. Gylfe E, Tegenholm A: **Neurotransmitter control of islet hormone pulsatility.** *Diabetes Obes Metabol* 2014, **16**(Suppl 1): 102–110.
29. \* Zhu L, Rossi M, Cohen A, Pham J, Zheng H, Dattaroy D, Mukaibo T, Melvin JE, Langel JL, Hattar S, Matschinsky FM, Appella DH, Doliba NM, Wess J: **Allosteric modulation of beta-cell M3 muscarinic acetylcholine receptors greatly improves glucose homeostasis in lean and obese mice.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019, **116**:18684–18690.
- This study shows efficacy of an allosteric agent acting on M3R to improve plasma insulin and glucose tolerance without side effects.
30. McCloskey AG, Miskelly MG, Moore CBT, Nesbit MA, Christie KA, Owolabi AI, Flatt PR, McKillop AM: **CRISPR/Cas9 gene editing demonstrates metabolic importance of GPR55 in the modulation of GIP release and pancreatic beta cell function.** *Peptides* 2020, **125**:170251.
31. Vong CT, Tseng HHL, Kwan YW, Lee SM, Hoi MPM: **Novel protective effect of O-1602 and abnormal cannabidiol, GPR55 agonists, on ER stress-induced apoptosis in pancreatic beta-cells.** *Biomed Pharmacother* 2019, **111**:1176–1186.
32. Al-Amily IM, Duner P, Groop L, Salehi A: **The functional impact of G protein-coupled receptor 142 (Gpr142) on pancreatic beta-cell in rodent.** *Pflügers Archiv* 2019, **471**:633–645.
33. Kaushik AC, Kumar S, Wei DQ, Sahi S: **Structure based virtual screening studies to identify novel potential compounds for GPR142 and their relative dynamic analysis for study of type 2 diabetes.** *Front Chem* 2018, **6**:23.
34. Rudenko O, Shang J, Munk A, Ekberg JP, Petersen N, Engelstoft MS, Egerod KL, Hjorth SA, Wu M, Feng Y, Zhou YP, Mokrosinski J, Thams P, Reimann F, Gribble F, Rehfeld JF, Holst JJ, Treebak JT, Howard AD, Schwartz TW: **The aromatic amino acid sensor GPR142 controls metabolism through balanced regulation of pancreatic and gut hormones.** *Mol Metab* 2019, **19**:49–64.
35. Michael ES, Covic L, Kuliopulos A: **Trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) promotes anti-diabetic signaling in insulin-secreting cells.** *J Biol Chem* 2019, **294**:4401–4411.
36. Munakata Y, Yamada T, Imai J, Takahashi K, Tsukita S, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Chiba Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Hatakeyama H, Kanzaki M, Miyazaki JI, Oka Y, Katagiri H: **Olfactory receptors are expressed in pancreatic beta-cells and promote glucose-stimulated insulin secretion.** *Sci Rep* 2018, **8**:1499.
37. \* Walker JT, Haliyur R, Nelson HA, Ishahak M, Poffenberger G, Aramandla R, Reihsmann C, Luchsinger JR, Saunders DC, Wang P, Garcia-Ocana A, Bottino R, Agarwal A, Powers AC, Brissova M: **Integrated human pseudoislet system and microfluidic platform demonstrate differences in GPCR signaling in islet cells.** *JCI Insight* 2020, **5**.
- This study shows the differences in GPCR signaling pathways between  $\alpha$ -cells and  $\beta$ -cells thanks to the use of pseudoislets and microfluidic system.
38. Atanes P, Ruz-Maldonado I, Hawkes R, Liu B, Zhao M, Huang GC, Al-Amily IM, Salehi A, Amisten S, Persaud SJ: **Defining G protein-coupled receptor peptide ligand expressions and signalomes in human and mouse islets.** *Cell Mol Life Sci* 2018, **75**:3039–3050.
39. Eriksson O: **GPR44 as a target for imaging pancreatic beta-cell mass.** *Curr Diabetes Rep* 2019, **19**:49.
40. Pathak NM, Pathak V, Gault VA, McClean S, Irwin N, Flatt PR: **Novel dual incretin agonist peptide with antidiabetic and neuroprotective potential.** *Biochem Pharmacol* 2018, **155**: 264–274.
41. Chepurny OG, Bonaccorso RL, Leech CA, Wollert T, Langford GM, Schwede F, Roth CL, Doyle RP, Holz GG: **Chimeric peptide EP45 as a dual agonist at GLP-1 and NPY2R receptors.** *Sci Rep* 2018, **8**:3749.
42. Hart NJ, Weber C, Papas KK, Limesand SW, Vagner J, Lynch RM: **Multivalent activation of GLP-1 and sulfonylurea receptors modulates beta-cell second-messenger signaling and insulin secretion.** *Am J Physiol Cell Physiol* 2019, **316**: C48–C56.
43. Tillner J, Posch MG, Wagner F, Teichert L, Hijazi Y, Einig C, Keil S, Haack T, Wagner M, Bossart M, Larsen PJ: **A novel dual glucagon-like peptide and glucagon receptor agonist SAR425899: results of randomized, placebo-controlled first-in-human and first-in-patient trials.** *Diabetes Obes Metabol* 2019, **21**:120–128.
44. \* Ambery P, Parker VE, Stumvoll M, Posch MG, Heise T, Plum-Moerschel L, Tsai LF, Robertson D, Jain M, Petrone M, Rondinone C, Hirshberg B, Jermutus L: **MEDI0382, a GLP-1 and glucagon receptor dual agonist, in obese or overweight patients with type 2 diabetes: a randomised, controlled, double-blind, ascending dose and phase 2a study.** *Lancet* 2018, **391**: 2607–2618.
- This study (in a phase 2a) shows an improvement of glycemia and bodyweight in obese individuals with T2D after the use of MEDI0382, a dual agonist of GLP-1R and glucagon receptor.
45. Capozzi ME, DiMarchi RD, Tschop MH, Finan B, Campbell JE: **Targeting the incretin/glucagon system with triagonists to treat diabetes.** *Endocr Rev* 2018, **39**:719–738.
46. Villegas-Comonfort S, Guzman-Silva A, Romero-Avila MT, Takei Y, Tsujimoto G, Hirasawa A, Garcia-Sainz JA: **Receptor tyrosine kinase activation induces free fatty acid 4 receptor phosphorylation, beta-arrestin interaction, and internalization.** *Eur J Pharmacol* 2019, **855**:267–275.
47. Barella LF, Rossi M, Zhu L, Cui Y, Mei FC, Cheng X, Chen W, Gurevich VV, Wess J: **beta-Cell-intrinsic beta-arrestin 1 signaling enhances sulfonylurea-induced insulin secretion.** *J Clin Invest* 2019, **129**:3732–3737.

**Introduction :** Les preuves suggèrent que les stress métaboliques induits par les nutriments, tel que l'hyperglycémie chronique, établissent un lien entre le diabète de type 2 et le dysfonctionnement et la mort des cellules  $\beta$ . Si la MAP3 kinase 8, Tumor progression locus 2 (TPL2), joue un rôle important dans la mort des cellules  $\beta$  après une exposition aux cytokines, son implication dans la dysfonction et la mort induite par hyperglycémie chronique est inconnue.

**Méthode :** La sécrétion d'insuline est mesurée par HTRF. Les expressions protéiques (TPL2, caspase 3 clivée et JNK1/2 (marqueurs de mort), sont évaluées par Western Blotting. L'expression d'ARNm d'*Icer*, est mesurée par RT-qPCR.

**Résultats :** Nous avons montré que TPL2 est surexprimée dans les îlots de rats GK et de souris *db/db*. L'hyperglycémie chronique augmente l'expression de TPL2 dans les cellules  $\beta$  et les îlots humains. Le traitement des souris *db/db* avec une petite molécule inhibitrice de TPL2 entraîne une réduction de la progression du diabète avec une diminution de l'hyperglycémie et de l'hyperinsulinémie à jeun, une meilleure tolérance au glucose, sans affecter la sensibilité à l'insuline. L'inhibition de TPL2 améliore les effets néfastes de l'hyperglycémie sur la sécrétion d'insuline induite par le glucose, réduit l'apoptose des cellules  $\beta$ , et empêche la régulation positive de l'ARNm d'*Icer*, un répresseur transcriptionnel de l'insuline et des gènes clés des protéines d'exocytose, et de l'activation des kinases c-Jun N-terminales 1/2 (JNK1/2). L'association d'un agoniste du récepteur du GLP-1 (GLP-1RA, exendine-4) avec l'inhibiteur de TPL2 a totalement empêché l'apoptose induite par l'hyperglycémie.

**Conclusion :** Nos résultats identifient l'inhibition de TPL2, seule ou en association avec un GLP-1RA, comme une nouvelle stratégie thérapeutique potentielle prometteuse pour prévenir le dysfonctionnement et l'apoptose des cellules et pour ralentir le développement du DT2.

**Mots clefs :** diabète, cellule  $\beta$ , hyperglycémie, stratégie thérapeutique, GLP-1, signalisation intracellulaire.

---

**Introduction :** Evidences suggest that nutrient-induced metabolic stresses such as chronic hyperglycemia provide a link between type 2 diabetes and  $\beta$ -cell dysfunction and death. If The MAP3 kinase 8, Tumor progression locus 2 (TPL2), plays an important role in  $\beta$ -cell death after cytokine exposure, its involvement in  $\beta$ -cell dysfunction and death induced by chronic hyperglycemia is unknown.

**Methods :** Insulin secretion is measured by HTRF. Protein expressions (TPL2, cleaved caspase 3 and JNK1 / 2 (death markers), are assessed by Western blotting. *Icer* mRNA expression is measured by RT-qPCR.

**Results :** We found TPL2 is overexpressed in islets of diabetic GK rats and *db/db* mice. Chronic hyperglycemia increases TPL2 expression in  $\beta$ -cells and human islets. Treatment of *db/db* mice with a small molecule inhibitor of TPL2 results in a reduction of diabetes progression with decreased fasting hyperglycemia and hyperinsulinemia, improved glucose tolerance, without affecting insulin sensitivity. Inhibition of TPL2 improves the detrimental effects of hyperglycemia on glucose-induced insulin secretion, reduces apoptosis of  $\beta$ -cells, and prevents the mRNA upregulation of *Icer*, a transcriptional repressor of insulin and key exocytotic proteins genes, and c-Jun N-terminal kinases 1/2 (JNK1/2) activation. Combination of a GLP-1 receptor agonist (GLP-1RA, exendin-4) with the TPL2 inhibitor totally prevented the apoptosis of  $\beta$ -cells induced by hyperglycemia.

**Conclusion :** Our results identify TPL2 inhibition, alone or in combination with a GLP-1RA, as potential new therapeutic avenues to prevent  $\beta$ -cell dysfunction and apoptosis and to slow down T2D development.

**Keywords :** diabetes,  $\beta$ -cell, hyperglycemia, therapeutic strategy, GLP-1, intracellular signaling.

---

**Discipline :** Biologie-Santé ; **Laboratoire :** Institut de Génomique Fonctionnelle, INSERM U661, CNRS UMR 5203, Université Montpellier, 141 rue de la Cardonille, 34094 Montpellier, Cedex 5.