

## Pourrait-on traiter le diabète de type 1 en stimulant les lymphocytes T régulateurs ?

Yenkel Grinberg-Bleyer, Audrey Baeyens, Eliane Piaggio, Benoit L. Salomon

I3, immunology, immunopathology, immunotherapy, CNRS/UPMC UMR7211, Inserm U959, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, 75013 France. [elianepiaggio@yahoo.com](mailto:elianepiaggio@yahoo.com) [benoit.salomon@upmc.fr](mailto:benoit.salomon@upmc.fr)  
E. Piaggio et B.L.Salomon : participation égale.



### Les lymphocytes T régulateurs, cellules essentielles à la régulation de l'auto-immunité

Les maladies auto-immunes résultent d'une attaque du système immunitaire contre son propre hôte, conséquence d'une rupture de la tolérance au soi. Elles sont souvent associées à des signes cliniques graves altérant la qualité de vie des patients. La prévalence de ces pathologies atteint 5 à 10 % de la population dans les pays occidentaux. Les maladies auto-immunes constituent donc un problème de santé publique majeur. Malheureusement, la plupart de ces pathologies ne peuvent être guéries ; les traitements disponibles ne sont souvent que palliatifs et doivent être administrés à vie. L'étude de la physiopathologie des maladies auto-immunes et la découverte de nouveaux traitements présentent donc un intérêt indéniable. Les lymphocytes T régulateurs CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (T<sub>reg</sub>), qui représentent 5 à 15 %

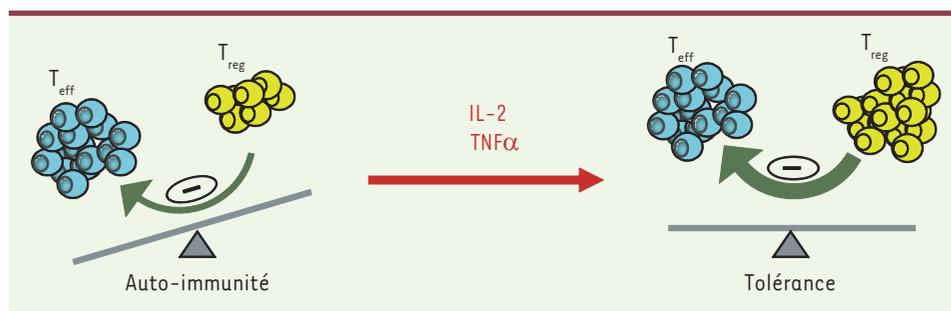
des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> dans les organes lymphoïdes, sont des acteurs majeurs de la régulation des réponses immunes [1, 2]. Ils participent au maintien de la tolérance au soi, prévenant ainsi les maladies auto-immunes. En effet, un déficit sévère en T<sub>reg</sub> dû à la présence de mutations dans *Foxp3*, gène codant pour un facteur de transcription essentiel au développement et à la fonction des T<sub>reg</sub>, conduit à un syndrome auto-immun léthal chez l'homme et la souris [3]. De plus, les souris *non-obese diabetic* (NOD) - modèles de diabète de type 1 - développent, lorsqu'elles sont déficientes en T<sub>reg</sub>, un diabète accéléré et aggravé [4]. À l'inverse, l'injection de T<sub>reg</sub> spécifiques d'antigènes pancréatiques permet de prévenir le diabète et même d'induire une rémission des signes cliniques [5]. Le rôle protecteur des T<sub>reg</sub> a été observé dans la plupart des pathologies auto-immunes étudiées. C'est pourquoi, depuis plusieurs années, de nombreuses équipes s'intéressent à l'utilisation des T<sub>reg</sub>

en biothérapies. À ce jour, nous ne savons pas produire de T<sub>reg</sub> spécifiques d'auto-antigènes d'un tissu cible en conditions de grade clinique, ce qui limite l'intérêt d'une thérapie cellulaire. Une alternative thérapeutique consisterait à administrer des molécules capables de stimuler préférentiellement le compartiment des T<sub>reg</sub> du patient pour augmenter leur capacité à contrôler une autoréactivité pathogène. Récemment, nous avons montré que l'interleukine-2 (IL-2) et le *tumor necrosis factor* (TNF) sont capables de stimuler les T<sub>reg</sub> spécifiquement dans le pancréas enflammé des souris NOD, jouant ainsi un rôle régulateur dans le diabète.

### Propriétés régulatrices de l'IL-2 dans le diabète par ses effets sur les Treg

L'IL-2 est l'un des facteurs essentiels à la survie et la fonction des T<sub>reg</sub>. Ainsi, les souris déficientes en IL-2 présentent un fort déficit en T<sub>reg</sub> et meurent d'un syndrome auto-immun généralisé [6].

En 2008, nous avons mis en évidence un déficit local en IL-2 dans le pancréas des souris NOD, entraînant une survie diminuée des T<sub>reg</sub> dans ce tissu, ce qui pourrait précipiter la destruction des cellules β productrices d'insuline [7]. De façon intéressante, l'injection prolongée de faibles doses d'IL-2 à des souris NOD jeunes entraîne une réduction importante de l'incidence du diabète, associée à une augmentation du nombre et de la survie



**Figure 1.** La stimulation des T<sub>reg</sub> par l'IL-2 ou le TNFα rétablit l'équilibre inflammation/tolérance dans le diabète. Lors du développement du diabète de type 1, certains lymphocytes T effecteurs (T<sub>eff</sub>) autoréactifs s'activent fortement, entraînant une inflammation destructrice dans le pancréas. L'IL-2 et le TNFα pourraient favoriser un rétablissement de l'équilibre entre T<sub>eff</sub> et T<sub>reg</sub> et un retour à la tolérance en stimulant préférentiellement les T<sub>reg</sub> infiltrant le pancréas.

des  $T_{reg}$  infiltrant le pancréas. Nous avons ensuite testé un éventuel effet curatif de l'IL-2 chez des souris NOD nouvellement diabétiques. De façon remarquable, un traitement de seulement 5 jours avec des faibles doses d'IL-2 induit une rémission de l'hyperglycémie chez près de 60 % des souris [8]. Chez la majorité de ces animaux, la glycémie est normalisée à long terme (plus de 10 semaines après le traitement). Toutefois, il est notable que ce traitement ne fonctionne pas si la glycémie des souris est supérieure à 350 mg/dL, mettant en évidence la nécessité, pour espérer avoir une efficacité thérapeutique, d'agir à des temps précoces après le diagnostic, quand la quantité résiduelle de cellules  $\beta$  productrices d'insuline est suffisante pour réguler la glycémie. Nous avons ensuite étudié l'implication des  $T_{reg}$  dans ce traitement. D'une part, nous avons observé que l'administration de ces faibles doses d'IL-2 induit une augmentation significative de la proportion de  $T_{reg}$  dans le pancréas. Celle-ci est associée à une réduction de l'agressivité des lymphocytes T effecteurs ( $T_{eff}$ ) diabétogènes qui sécrètent moins d'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), cytokine toxique pour les cellules  $\beta$  productrices d'insuline. D'autre part, cette thérapie par l'IL-2 s'avère inefficace chez des souris NOD génétiquement déficientes en  $T_{reg}$ . Ceci montre que l'IL-2 permet une rémission du diabète clinique par un effet local sur les lymphocytes infiltrant le pancréas. Il est important de remarquer que ces faibles doses thérapeutiques d'IL-2 ne semblent pas avoir d'effet systémique. En effet, dans les tissus lymphoïdes, le traitement ne modifie pas la proportion de  $T_{reg}$  et n'a que peu d'effet sur la signature ARN des  $T_{reg}$  et  $T_{eff}$  déterminée par analyse des transcriptomes. Ces résultats et les données chez l'homme suggèrent une relative innocuité de l'administration de faibles doses d'IL-2. Jusqu'à ce jour, l'IL-2 a surtout été utilisée à fortes doses dans certains cancers et maladies infectieuses pour stimuler le système immunitaire, avec des effets thérapeutiques modérés voire discutables. Dans le futur, cette même cytokine pourrait être utilisée à faible dose pour traiter certaines maladies auto-immunes.

### Un mécanisme de rétrocontrôle de l'auto-immunité impliquant le TNF $\alpha$

Les  $T_{eff}$  étant les principales cellules productrices d'IL-2, ils pourraient être capables de stimuler les  $T_{reg}$ . Nous avons étudié cette question dans un modèle murin de diabète de type 1 par des expériences de transfert adoptif de  $T_{reg}$  et  $T_{eff}$  spécifiques d'antigènes pancréatiques. De façon remarquable, le cotransfert de  $T_{eff}$  diabétogènes entraîne une très forte augmentation de l'expansion des  $T_{reg}$  dans les ganglions pancréatiques et le pancréas, d'un facteur 10 à 15 par rapport aux souris qui n'ont reçu que des  $T_{reg}$  [9]. Nous avons ensuite étudié les implications physiopathologiques de ce phénomène dans le diabète. Lorsque les  $T_{reg}$  sont transférés seuls, ils ne permettent pas de prévenir l'apparition du diabète induit par l'injection de  $T_{eff}$  diabétogènes 3 semaines plus tard. En revanche, si les  $T_{reg}$  sont initialement cotransférés avec les  $T_{eff}$ , les souris sont protégées à long terme contre l'induction de la maladie. Ainsi, des  $T_{eff}$  diabétogènes limitent leur propre effet pathogène en activant les  $T_{reg}$  spécifiques d'antigènes d'îlots pancréatiques. De façon inattendue, cet effet stimulant des  $T_{eff}$  sur les  $T_{reg}$  est indépendant de l'IL-2, et partiellement dépendant du TNF $\alpha$ . En effet, l'augmentation de l'expansion des  $T_{reg}$  par les  $T_{eff}$  est significativement réduite par des traitements qui neutralisent cette cytokine. Ces résultats pourraient permettre de révéler le mécanisme responsable de la composante immuno-régulatrice du TNF $\alpha$ . En effet, cette cytokine est surtout connue pour ses propriétés pro-inflammatoires et les effets bénéfiques des anti-TNF dans le traitement de certaines maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde. Cependant, des données chez l'homme et la souris montrent au contraire un rôle protecteur du TNF $\alpha$  dans d'autres maladies auto-immunes, comme la sclérose en plaques [10, 11]. Nos données suggèrent que cette facette immuno-régulatrice du TNF $\alpha$  pourrait s'expliquer par la capacité de cette cytokine à stimuler les  $T_{reg}$ .

L'identification de facteurs capables de stimuler de façon préférentielle le compartiment des  $T_{reg}$  dans les tissus cibles des maladies auto-immunes peut présenter un intérêt thérapeutique majeur. Nos données suggèrent que l'IL-2 et le TNF $\alpha$  ont un rôle protecteur dans le diabète de type 1 par leur capacité à favoriser l'expansion des  $T_{reg}$  dans le pancréas. La rémission du diabète obtenue après administration d'IL-2 chez la souris NOD nous conduit à proposer un essai clinique à visée thérapeutique chez des patients atteints de diabète de type 1 récemment diagnostiqués.  $\diamond$

### Could we cure type 1 diabetes by stimulating $T_{reg}$ ?

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

#### RÉFÉRENCES

1. Tang Q, Bluestone JA. The Foxp3+ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 239-44.
2. Salomon BL. Les lymphocytes T régulateurs CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>: vers une immuno-modulation thérapeutique ? *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 1066-8.
3. Wildin RS, Ramsdell F, Peake J, et al. X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 18-20.
4. Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity* 2000 ; 12 : 431-40.
5. Tang Q, Henriksen KJ, Bi M, et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med* 2004 ; 199 : 1455-65.
6. Sadlack B, Merz H, Schorle H, et al. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 1993 ; 75 : 253-61.
7. Tang Q, Adams JY, Penaranda C, et al. Central role of defective interleukin-2 production in the triggering of islet autoimmune destruction. *Immunity* 2008 ; 28 : 687-97.
8. Grinberg-Bleyer Y, Baeyens A, You S, et al. IL-2 reverses established type 1 diabetes in NOD mice by a local effect on pancreatic regulatory T cells. *J Exp Med* 2010 ; 207 : 1871-8.
9. Grinberg-Bleyer Y, Saadoun D, Baeyens A, et al. Pathogenic T cells have a paradoxical protective effect in murine autoimmune diabetes by boosting  $T_{regs}$ . *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 4558-68.
10. TNF neutralization in MS : results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. The Lenercept multiple sclerosis study group and the University of British Columbia MS/MRI analysis group. *Neurology* 1999 ; 53 : 457-65.
11. Liu J, Marino MW, Wong G, et al. TNF is a potent anti-inflammatory cytokine in autoimmune-mediated demyelination. *Nat Med* 1998 ; 4 : 78-83.