



P-004 - EL GEN CANDIDATO A DIABETES TIPO 1, EBI2, MODULA LA DISFUNCIÓN DE LAS CÉLULAS β ETA INDUCIDA POR VIRUS MEDIANTE LA REGULACIÓN DE LA VÍA DE IRF7

R. Sousa dos Santos^{a,b,c}, L. Marroquí^{b,c}, A. MontalvÀ Giménez^b, S. Cortell Mera^b, D. Guzmán-Llorens^b, I. Santin^{c,d,e} y D. Eizirik^f

^aUnidad de Investigación, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Hospital General Universitario de Elche, España. ^bInstituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Universidad Miguel Hernández de Elche, España. ^cCentro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España. ^dDepartment of Biochemistry and Molecular Biology, University of the Basque Country, Leioa, España. ^eBiocruces Bizkaia Health Research Institute, Barakaldo, España. ^fULB Center for Diabetes Research, Université Libre de Bruxelles, Bruselas, Bélgica.

Resumen

Introducción y objetivos: Las etapas iniciales de la diabetes tipo 1 (DT1) se caracterizan por inflamación de los islotes, influenciada en parte por la interacción entre la susceptibilidad genética y los desencadenantes ambientales. Los estudios de ligamiento y asociación en todo el genoma han identificado más de 70 *loci* en el genoma humano asociados con el riesgo de DT1. De interés, un SNP en el gen inducido por el virus de Epstein-Barr 2 (EBI2) ha demostrado regular una red inflamatoria impulsada por el factor regulador de interferón 7 (IRF7) en monocitos que podría contribuir al riesgo de DT1. Como se sabe poco sobre la función de EBI2 en las células β , nuestro objetivo fue evaluar si EBI2 desempeña un papel en las respuestas de las células β a las "señales de peligro" y determinar los mecanismos implicados.

Material y métodos: Células INS-1E fueron transfectadas con ARN de interferencia dirigidos a EBI2 y posteriormente expuestas a ácido poliinosínico-policitidílico (PIC; un análogo sintético de ARN bicatenario viral). La apoptosis se evaluó mediante tinción con Hoechst-yoduro de propidio. La expresión génica y proteica se determinó mediante qPCR y *western blot*, respectivamente. La actividad del promotor del elemento de respuesta estimulado por interferón (ISRE) se evaluó mediante ensayo de luciferasa.

Resultados: La inhibición de EBI2 indujo apoptosis en condiciones basales y aumentó aún más la apoptosis inducida por PIC. En comparación con células control, las células con EBI2 silenciado expuestas a PIC mostraron niveles más altos de ARNm del factor de transcripción IRF7, las quimiocinas CXCL10 y CCL5, y la citocina IFN γ . Los estudios de actividad del promotor mostraron que el silenciamiento de EBI2 incrementó la actividad ISRE inducida por PIC casi 10 veces, mientras que la actividad de IFN γ fue 6 a 10 veces mayor en células con EBI2 inhibido. Cabe destacar que el silenciamiento de EBI2 también exacerbó la actividad ISRE inducida por IFN γ , IFN γ o IFN γ +IL-1 β . Para evaluar si el sensor viral MDA5 estaba implicado en la actividad de IFN γ inducida por PIC, se utilizó un enfoque de doble silenciamiento EBI2/MDA5. Tras la exposición a PIC, el doble silenciamiento de EBI2/MDA5 disminuyó la actividad de IFN γ secundaria a la inhibición de EBI2. Finalmente, un doble silenciamiento EBI2/IRF7 mostró que IRF7 era clave para el aumento de la actividad de IFN γ en células tratadas con PIC y con EBI2 silenciado.

Conclusiones: Estos resultados indican que EBI2 modula las respuestas antivirales en células β a través de la activación de MDA5 e IRF7. Dado que EBI2 regula potencialmente la vía IDIN en monocitos, esta vía

podría ser crucial para la respuesta inmune autónoma de las células β contra infecciones. Estos hallazgos serán confirmados en células β humanas EndoC- β H1 y en islotes humanos.