



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

R. Sousa dos Santos^{a,b,c}, L. Marroqui^{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 ?, nuestro objetivo fue evaluar si EBI2 desempeña un papel en las respuestas de las células ? 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?. 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? 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?, IFN? o IFN?+IL-1?. Para evaluar si el sensor viral MDA5 estaba implicado en la actividad de IFN? 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? 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? en células tratadas con PIC y con EBI2 silenciado.

Conclusiones: Estos resultados indican que EBI2 modula las respuestas antivirales en células ? 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 ? contra infecciones. Estos hallazgos serán confirmados en células ? humanas EndoC-?H1 y en islotes humanos.