

## Rapport final

**Titre du projet :** Impact de la fractalkine (CX3CL1) sur les cellules musculaires humaines en situations contrôle et insulino-résistante.

### I. Objectif

**L'objectif principal du projet est de comprendre l'impact de la fractalkine sur le muscle squelettique humain en situation contrôle et/ou de résistance à l'insuline dans le diabète de type 2. Pour cela, nous avons traité les cellules musculaire à la fractalkine et étudié leur métabolisme. Les expériences proposées dans notre projet ont permis de répondre aux questions suivantes :**

1. Quel est l'impact de la fractalkine sur les cellules musculaire ?
2. La fractalkine prévient-elle l'insulino-résistance induite par le TNF-alpha dans les myotubes primaires humains ?
3. Est-ce que l'effet de la fractalkine est identique dans les myotubes primaires humains issus de sujet contrôles et diabétiques de type II ?

### II. Résultats

**Question 1-2. Quel est l'impact de la fractalkine sur les cellules musculaire en condition contrôle et après traitement au TNF-alpha ?**

*Captation de glucose :*

Nous avons démontré que les cellules musculaires squelettiques traitées avec de la fractalkine ont une augmentation de la captation basale de glucose. Alors que le TNF-alpha induit une perte de réponse à l'insuline, le traitement à la fractalkine prévient ces effets néfastes. Afin de comprendre les mécanismes moléculaires médiés par la fractalkine, nous avons étudié la voie de signalisation canonique de l'insuline.

*Signalisation :*

Nous avons montré que la fractalkine augmente l'expression protéique d'IRS1 sans effet sur IRS2. Ce qui nous a permis de conclure que la fractalkine impacte le métabolisme glucidique dans le muscle squelettique humain.

Nous avons publié précédemment que le TNF-alpha diminue l'activation de la voie de signalisation de l'insuline au niveau musculaire (Bouzakri et Zierath 2008). Ici, nous démontrons que le traitement à la fractalkine permet de prévenir les effets négatifs du TNF-alpha au niveau de la phosphorylation des protéines Akt et AS160. De plus, les kinases, qui sont activées par phosphorylation en réponse au TNF-alpha et responsables de la résistance à l'insuline (Plomgaard, Bouzakri et al 2004), sont inhibées après une exposition à la fractalkine. Nous avons montré ici pour la première fois qu'un traitement musculaire par une myokine permet de restaurer la résistance à l'insuline médiée par le TNF-alpha.

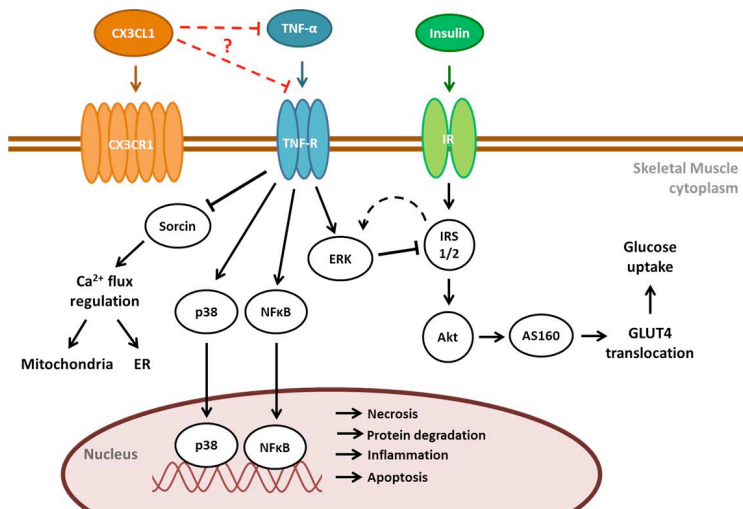
*Effet sur le réticulum endoplasmique (RE) et les mitochondries :*

Afin de comprendre au mieux les effets d'un traitement à la fractalkine, nous avons étudié par microscopie son impact sur la mitochondrie et l'organisation du RE. En condition, la fractalkine n'a pas d'effet visible sur le RE mesuré par marquage à la calnexin. En revanche, on observe une forte augmentation du marquage cytochrome C correspondant au nombre de mitochondries. En situation de résistance à l'insuline induite par le TNF-alpha, nous avons observé pour la première fois une désorganisation du RE qui est corrigé, là aussi, par un prétraitement à la fractalkine.

*Impact sur l'expression génique :*

Afin d'étudier l'effet de la fractalkine sur la régulation génétique, nous avons réalisé une approche de « RNA sequencing » sur des cellules musculaires humaines en situation contrôle, traitées : (1) à la fractalkine, (2) au TNF-alpha et (3) à la fractalkine plus TNF-alpha. Cette approche, réalisée en collaboration avec le Pr E. Dermitzakis (CMU, Genève), nous a permis de définir le nombre de gènes différemment régulés en condition : (1) CTRL vs. CX3CL1 1291 gènes ; (2) CTRL vs. TNF-alpha 5297 gènes ; (3) CTRL vs. CX3CL1+TNF-alpha 3816 gènes ; (4) CX3CL1 vs CX3CL1+TNF-alpha : 3824 gènes ; (5) TNF-alpha vs. CX3CL1+TNF-alpha 32 gènes.

Afin de comprendre les effets médiés par la fractalkine en situation de résistance à l'insuline, nous nous sommes concentrés sur la comparaison (5) TNF-alpha vs. CX3CL1+TNF-alpha. Cette comparaison nous a permis de mettre en évidence une série de gènes qui ont une expression diminuée par le TNF-alpha alors



qu'un traitement combiné TNF-alpha+Fractalkine prévient cette diminution. De plus, ces mêmes gènes se retrouvent fortement augmentés lors du traitement TNF-alpha+Fractalkine. Une étude de « gène ontologie » nous a ainsi permis de définir les voies de signalisation impactées par la fractalkine et/ou le TNF-alpha.

L'ensemble de ces résultats nous a permis de proposer le schéma suivant résumant l'action de la fractalkine au niveau musculaire en situation de résistance à l'insuline.

### Question 3. Est-ce que l'effet de la fractalkine est identique dans les myotubes primaires humains issues de sujets contrôles et diabétiques de type II ?

Les résultats obtenus au niveau métabolique, signalling et RNA-sequencing, nous montrent que chez des patients diabétiques de type 2 déclarés depuis plus de 10 ans et sous traitement à l'insuline, la réponse à la fractalkine est différente de celle mentionnée plus haut. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence une résistance à la fractalkine. Je tiens à mentionner ici que ce nouveau concept de résistance au sport est en cours de développement chez nos collaborateur au Danemark (Pr P. Plomgaard).

### III. Visibilité et remerciements

Présentation à l'EASD 2015:

**Fractalkine (CX3CL1) a novel myokine protecting skeletal muscle from insulin resistance in humans**  
Alice Zoso<sup>1</sup>, Peter Plomgaard<sup>2</sup>, Jakob S. Hansen<sup>2</sup> Claus Brandt<sup>2</sup>, Cédric Howald<sup>1</sup>, Emmanouil T. Dermitzakis<sup>1</sup>, Bente K. Pedersen<sup>2</sup>, Philippe A. Halban<sup>1</sup> and Karim Bouzakri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Genetic Medicine and Development, Geneva University, Geneva, Switzerland

<sup>2</sup>The Centre of Inflammation and Metabolism, Department of Infectious Diseases and CMRC, Rigshospitalet, Faculty of Health Sciences, University of Copenhagen, Denmark

Présentation à CARMEN, Lyon Sud Janvier 2016

**Fractalkine (CX3CL1) a novel myokine protecting skeletal muscle from insulin resistance in humans.**

Alice Zoso and Karim Bouzakri

### IV. Article soumis

**Fractalkine (CX3CL1) a novel myokine protecting skeletal muscle from insulin resistance in humans**  
Alice Zoso<sup>1</sup>, Sabine rutti<sup>1</sup>, Peter Plomgaard<sup>2</sup>, Jakob S. Hansen<sup>2</sup> Claus Brandt<sup>2</sup>, Cédric Howald<sup>1</sup>, Emmanouil T. Dermitzakis<sup>1</sup>, Bente K. Pedersen<sup>2</sup>, Michel Pinget<sup>3</sup> and Karim Bouzakri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Genetic Medicine and Development, Geneva University, Geneva, Switzerland

<sup>2</sup>The Centre of Inflammation and Metabolism, Department of Infectious Diseases and CMRC, Rigshospitalet, Faculty of Health Sciences, University of Copenhagen, Denmark

Centre Européen d'Etude du Diabète, 1 Boulevard René Leriche 67200 Strasbourg, France.