

Diabète néonatal : maladie de l’empreinte génétique, mais pas seulement !

Neonatal diabetes: a genomic imprinting disease but not only!

M. Polak*, K. Busiah*, H. Cavé**

points FORTS

▲ Le diabète néonatal, qu’il soit transitoire (DNNT) ou définitif (DNND), est une pathologie rare observée chez un enfant sur 400 000 à 500 000 nés vivants.

▲ Le DNNT se manifeste dans les premières semaines de la vie dans le cadre d’un retard de croissance intra-utérin, entre en rémission au bout de quelques mois, puis récidive sous la forme d’un diabète sucré de type indéterminé mais définitif, souvent vers l’adolescence. Nous pensons que l’altération de la fonction pancréatique dans cette affection existe tout au long de la vie mais s’aggrave lors des périodes de demande métabolique accrue, notamment pendant la puberté ou la grossesse. Les mécanismes mis en jeu dans cette maladie rare pourraient apporter de précieuses informations sur le développement du pancréas fœtal, la physiologie des cellules bêta et la prédisposition au diabète de type 2. Le DNNT pourrait être lié à la surexpression d’un gène situé sur le chromosome 6q2.4 et soumis à un mécanisme d’empreinte parentale, avec une expression exclusive par le chromosome 6 d’origine paternelle.

▲ Dans le DNND, la sécrétion d’insuline devient insuffisante très tôt après la naissance. Diverses pathologies surviennent en association avec le DNND, et les mécanismes moléculaires de certaines d’entre elles ont été maintenant décryptés, mais ne concernent pas l’empreinte génétique.

Mots-clés : Diabète néonatal – Insuffisance pancréatique – Fonction de la cellule bêta – Sécrétion d’insuline – Insulinothérapie – Nouveau-nés – Mécanismes génétiques – Empreinte génétique.

Keywords: Neonatal diabetes mellitus – Insulin secretion imprinting – Insulin therapy.

Tableau I. Étiologies du diabète néonatal.

► Diabète néonatal transitoire

- Détection d’une anomalie du chromosome 6 :
maladie de l’empreinte
 - duplications paternelles
 - isodisomie paternelle
 - anomalie de la méthylation
- Pas de détection d’anomalie du chromosome 6

► Diabète néonatal définitif

- Syndrome IPEX : auto-immunité diffuse
- Maladie mitochondriale
- Hypoplasie pancréatique sévère liée à une mutation IPF1 (PDX1)
- Mutation homozygote du gène de la glucokinase : insensibilité au glucose, MODY 2 chez les parents
- Dysplasie épiphysaire associée : syndrome de Wolcott-Rallison
- Possible lien avec une infection entérovirale
- Association avec une hypoplasie cérébelleuse
- Mutation du gène *KCNJ11* qui code pour le canal potassique de la cellule bêta : *Kir6.2*.

Diabète néonatal “transitoire”

Description clinique

Le DNNT consiste en une anomalie de l’ontogenèse de la production d’insuline qui se corrige après la naissance. Cette forme clinique rend compte de 50 à 60 % des cas de

Le diabète néonatal (DNN) est rare (1/400 000 nouveau-nés) mais peut être gravissime. Deux formes cliniques principales ont été individualisées, une forme transitoire (DNNT) et une forme définitive (DNND), qui se distin-

guent avant tout par la durée de l’insulinodépendance. Plusieurs découvertes récentes concernant le mécanisme moléculaire du développement pancréatique éclairent ces deux formes de DNN (*tableau I*). La présente mise au point met l’accent sur les manifestations cliniques, la biologie moléculaire de ces affections et, en particulier, le DNNT, qui peut être une maladie de l’empreinte génétique.

* Endocrinologie pédiatrique et INSERM EMI 0363, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

** Biochimie génétique, hôpital Robert-Debré, Paris.

DNN (1, 2). Un retard de croissance intra-utérin est la règle, en accord avec le rôle de premier plan de l'insuline dans la croissance fœtale, particulièrement pendant le dernier trimestre de la grossesse. Une hyperglycémie, une mauvaise prise de poids et parfois une déshydratation s'installent après la naissance. La production d'insuline est insuffisante, de sorte que l'apport d'insuline exogène s'impose. On ne retrouve ni anticorps anti-îlots de Langerhans ni les haplotypes HLA de classe II qui prédisposent au diabète de type 1 (2). Une anomalie de la maturation de la cellule bêta a été évoquée (3). Fait intéressant, il est rare d'observer une insuffisance de la fonction pancréatique exocrine (4). Le mécanisme cellulaire du DNNT reste toutefois obscur. Une rémission apparaît habituellement dans la première année de la vie, mais une intolérance intermittente au glucose peut s'observer, et le diabète rechute souvent vers la fin de l'enfance ou à l'âge adulte. Ces rechutes revêtent habituellement l'allure d'un diabète de type 1 non auto-immun, mais il reste à déterminer si elles sont liées à un déficit en insuline et/ou à une résistance à l'insuline (1, 5). En effet, une hyperglycémie permanente obligeant à une insulinothérapie est apparue chez cinq des sept malades âgés de plus de 8 ans dans une cohorte française de cas de DNNT (6). De même, une récurrence a été observée chez onze malades sur dix-huit âgés de plus de 4 ans dans une autre vaste cohorte de DNNT (7). Ainsi, la forme "transitoire" de DNN correspond probablement à une altération définitive de la cellule bêta pancréatique, d'expression variable pendant la période de croissance et de développement. La puberté, qui s'accompagne d'une nette résistance à l'insuline, joue probablement un rôle de premier plan dans la réapparition du diabète. Pour tenter d'éclairer cette apparente anomalie durable de la cellule bêta, nous avons récemment étudié des indices dérivés qui reflètent la fonc-

tion de cette cellule, la sensibilité périphérique à l'insuline et la réponse pancréatique à une charge glucosée intraveineuse, chez des enfants qui avaient un antécédent de DNNT. Le diabète était en rémission au moment des examens, qui ont été répétés après 2 ans. Au cours d'une épreuve standardisée d'hyperglycémie par voie intraveineuse, la phase précoce de la réponse insulínique a été étudiée de façon cumulative à 1 minute et à 3 minutes. L'insulinémie et la glycémie à jeun ont été également mesurées pour permettre d'estimer les indices d'insulinosécration (indices dérivés reflétant la fonction des cellules bêta) ainsi que des indices dérivés qui mesurent la sensibilité à l'insuline. Chez les six malades de l'étude (âge médian au début de l'étude : 7,5 ans), le DNNT était en rémission et il n'y avait pas d'indication à administrer de l'insuline exogène. Une disomie uniparentale du chromosome 6 était présente chez deux malades et une anomalie de la méthylation de la région 6q2.4 chez un autre malade ; les trois autres patients n'avaient pas d'anomalie détectable du chromosome 6 (*lire infra*). Pour les indices dérivés de dosages à jeun, qui reflètent la fonction de la cellule bêta et la sensibilité à l'insuline, nous disposons de données comparables à celles de dix-huit témoins d'âge comparable à celui des malades. Chez un malade, la sécrétion d'insuline en réponse au glucose intraveineux était anormalement faible, lors de l'exploration initiale et 2 ans plus tard. En revanche, chez les cinq autres enfants, la réponse insulínique était normale ou proche de la normale aux deux temps de mesure. Les indices reflétant la fonction de la cel-

lule bêta et la sensibilité à l'insuline à jeun étaient comparables chez les malades et les témoins normaux. Ainsi, lors de la période de rémission du DNNT, il n'existe habituellement aucun signe de dysfonctionnement de la cellule bêta ou d'insulinorésistance à jeun. Les mesures de la réponse insulínique à une charge intraveineuse en glucose sont souvent normales ; elles peuvent, toutefois, laisser craindre la survenue ultérieure d'une récurrence lorsqu'elles sont profondément anormales (8).

Mécanismes moléculaires

Bien que la plupart des cas de DNNT soient sporadiques, une histoire familiale de diabète est retrouvée dans environ un tiers des observations décrites. Dans tous les cas familiaux rapportés, la transmission est d'origine paternelle, bien que le père ne soit pas forcément affecté par la maladie (1, 9, 10).

La disomie uniparentale du chromosome 6 d'origine paternelle, initialement décrite chez une dizaine de patients non apparentés, est la première anomalie génétique à avoir été associée au DNNT (*figure 1*). La présence d'une duplication partielle du bras long du chromosome 6 d'origine paternelle a ensuite été mise en évidence chez certains patients (11, 12). Ces observations, ainsi que le mode de transmission du DNNT dans les cas familiaux, ont conduit à l'hypothèse suivante : le DNNT résulte de la surexpression d'un (ou plusieurs) gène(s) localisé(s) en 6q2.4, soumis à empreinte parentale, et exprimé(s) uniquement par l'allèle d'origine paternelle, au

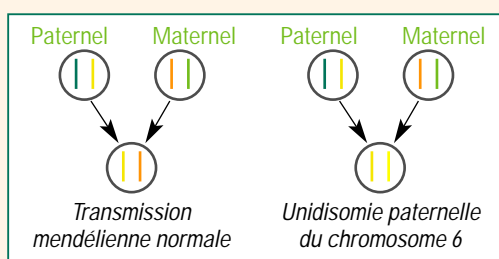


Figure 1. Schéma de la disomie paternelle uniparentale du chromosome 6. Deux allèles du chromosome 6 du père sont présents dans certains cas de diabète néonatal "transitoire".

moins à certaines périodes de la vie. La détermination de la région chromosomique minimale dupliquée chez les patients a permis d'affiner la localisation du gène responsable, et un îlot CpG présentant une méthylation différentielle selon l'origine parentale (caractéristiques des gènes soumis à empreinte) a alors été identifié dans cette région (PAC 340H11). Cet îlot n'est pas méthylé sur l'allèle d'origine paternelle, alors qu'il l'est sur l'allèle d'origine maternelle (12). Certains patients atteints de DNNT, sans autre anomalie apparente du chromosome 6, présentent une absence complète de méthylation de cet îlot. (13). Les bases génétiques à l'origine de ce défaut de méthylation ne sont pas connues, mais cette observation est compatible avec une relaxation anormale de l'empreinte maternelle et l'expression des deux allèles du ou des gène(s) en cause (figures 2 et 3). Tous les cas décrits à ce jour sont sporadiques et l'anomalie de méthylation n'a jamais été retrouvée chez les parents des enfants atteints. La mise en évidence de ce site et de cette méthylation différentielle ont conduit à l'identification de deux gènes candidats, situés à proximité et exprimés exclusivement par l'allèle d'origine paternelle : ZAC (LOT1, PLAGL-1) et HYMAI. ZAC code pour un facteur de transcription mis en jeu dans la régulation de l'arrêt du cycle cellulaire et de l'apoptose et dans l'induction du gène du récepteur 1 du polypeptide activateur de l'adénylate-cyclase hypophysaire humaine (PACAP1). Le PACAP stimule fortement la sécrétion d'insuline. La fonction de l'autre gène, HYMAI, n'est pas connue (14). En utilisant des techniques de transgène, un groupe anglais a récemment montré que la surexpression de ces gènes dans le pancréas de souris entraînait une hyperglycémie transitoire chez les souriceaux (15). Néanmoins, le lien précis entre les anomalies génétiques et le dysfonctionnement de la cellule sécrétrice d'insuline reste à élucider.

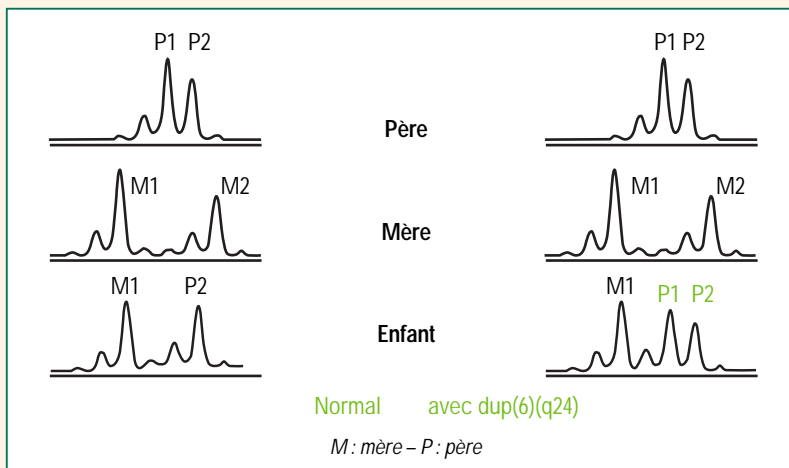


Figure 2. Dup(6)(q2.4) : transmission de deux allèles (P1 + P2).

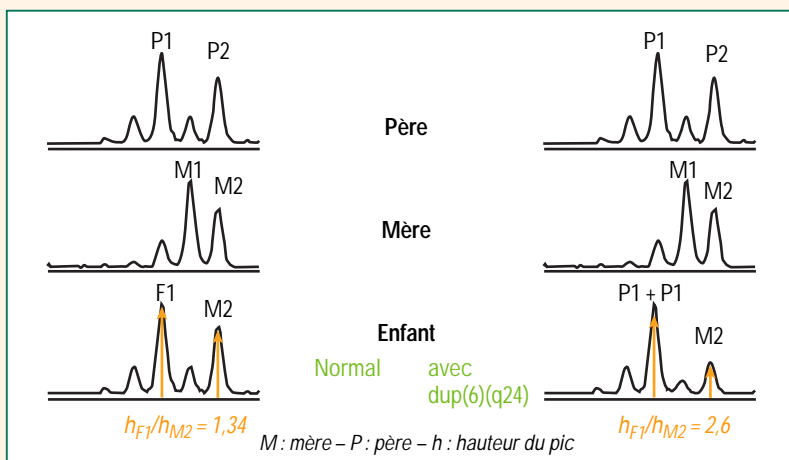


Figure 3. Dup(6)(q2.4) : dosage accru de l'allèle paternel (P1).

Méthodes diagnostiques des anomalies de la région 6q2.4 associées au diabète néonatal transitoire

Comme toute disomie uniparentale, la disomie uniparentale du chromosome 6 peut être mise en évidence par l'analyse de marqueurs polymorphes présents sur le chromosome 6 et l'étude de la ségrégation méiotique des marqueurs en comparant le profil allélique de l'enfant atteint à celui de ses deux parents. En cas de disomie uniparentale d'origine paternelle, aucun des allèles de la mère n'est retrouvé chez l'enfant, et ce pour au moins deux marqueurs informatifs (c'est-à-dire dont les allèles maternels sont tous deux dif-

férents des allèles du père). Il faut noter que la fréquence non négligeable de mutations méiotiques des séquences polymorphes, qui sont par définition instables, conduit à ne rendre un diagnostic que lorsque au moins deux marqueurs sont informatifs. Même si l'anomalie implique en général l'ensemble du chromosome, des disomies uniparentales partielles, relevant d'un mécanisme post-zygotique, ont été parfois décrites, justifiant de privilégier l'emploi de marqueurs polymorphes localisés dans la région d'intérêt (6q2.4). Du fait de leur simplicité relative d'étude et de leur bonne valeur informative, les marqueurs généralement employés sont de type microsatellite, mais d'autres peuvent aussi être utilisés.

L'analyse de marqueurs polymorphes permet également de mettre en évidence, dans certaines conditions, des duplications chromosomiques et leur origine parentale. En effet, ces duplications se traduiront, chez l'enfant, soit par un déséquilibre dans les rapports alléliques, soit par la présence de trois allèles (figures 2 et 3) (11). Il est néanmoins toujours possible de ne pas mettre en évidence de petites duplications si elles ne contiennent pas de marqueur polymorphe informatif. On peut alors préférer une autre technique de dosage génique ciblée sur des séquences non polymorphes, telles que la PCR quantitative. L'hybridation in situ (FISH) peut aussi être utilisée, mais, si elle permet la détection des duplications de grande taille ou avec insertion ectopique, elle risque de passer à côté de petites duplications en tandem.

Une technique de PCR après digestion de l'ADN par des enzymes sensibles à la méthylation a été décrite par Gadner et al. (13). Elle permet de détecter les anomalies de méthylation. On procède dans un premier temps à la digestion de l'ADN génomique d'un patient par une enzyme ayant pour site de restriction une séquence soumise à méthylation différentielle et qui ne reconnaît son site que lorsque celui-ci est non méthylé. On réalise ensuite une amplification par PCR en

utilisant deux amorces situées de part et d'autre du site de méthylation différentielle. Si l'enzyme a préalablement coupé l'allèle au niveau de son site (allèle non méthylé), l'ADN ne pourra pas être amplifié. Dans le cas contraire (ADN méthylé), on aura un signal d'amplification. Dans le cas d'une mutation de l'empreinte, on perd donc le signal d'amplification normalement présent du fait de la présence de l'allèle méthylé d'origine maternelle (figure 4).

Dans tous les cas, la détection de l'une de ces anomalies est fortement en faveur d'un diabète transitoire. En revanche, une absence de détection d'anomalie n'exclut pas la nature transitoire du diabète.

Diabète néonatal définitif

La forme définitive de DNN est, dans notre expérience, moins fréquente que la forme transitoire. Par définition, le diabète apparaît pendant la période néonatale et persiste ensuite sans aucune phase de rémission. Chez un nouveau-né diabétique sans dysmorphie, aucun signe clinique ne permet de prédire le caractère transitoire ou définitif du diabète, quoique le retard de croissance intra-utérin, constant dans le DNNT du phénotype 6q, manque parfois en cas de DNND (tableau II) (6, 7). Le diabète du jeune nourrisson est

presque toujours sans rapport avec la forme classique de diabète de type 1 (16). Dans une étude italienne qui a porté sur tous les cas de diabète apparu avant l'âge de 1 an, une différence nette a été mise en évidence entre les malades devenus diabétiques dans les 180 premiers jours de vie et ceux dont le diabète a débuté plus tard. La présence d'allèles "protecteurs" vis-à-vis du diabète de type 1 classique était beaucoup plus fréquente en cas de diabète très précoce qu'en cas de diabète apparu après 180 jours (le nombre d'hétérodimères de prédisposition au diabète était de 0 ou 1 chez 76 % et 12 % des malades de ces deux groupes, respectivement) (17). De plus, les marqueurs d'auto-immunité ont été retrouvés avec une fréquence bien moindre en cas de diabète très précoce (15 %, contre 65 % en cas de début après 180 jours).

Plusieurs syndromes cliniques distincts ont été individualisés dans le contexte du DNND.

IPF-1 (Insulin Promoter Factor 1)

La première observation décrite fut celle d'un enfant qui avait une agénésie pancréatique et, consécutivement, une insuffisance pancréatique endocrine et exocrine sévère. L'implication d'une anomalie de l'IPF-1 dans l'agénésie pancréatique était plau-

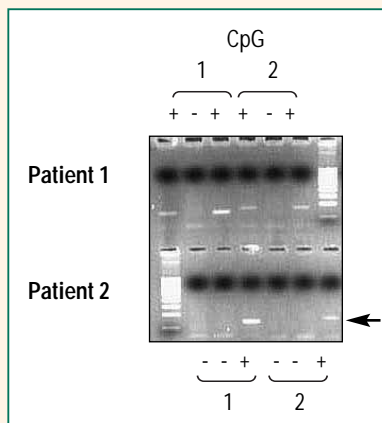


Figure 4. Détection des anomalies de méthylation PCR et coupure enzymatique par une enzyme de restriction sensible à la méthylation.

Tableau II. Comparaison de divers signes de DNNT et de DNND dans la cohorte française (n = 50) étudiée par Metz et al. (2002) ; reproduit avec autorisation.

	DNNT n = 21	DNND n = 29	p
Terme (semaines)	39,2 ± 1,6	38,2 ± 2,2	0,15
Poids de naissance (g)	2 497 ± 690	1 987 ± 510	< 0,006
Taille à la naissance (cm)	47,5 ± 2,4	44,3 ± 3,4	< 0,006
Périmètre crânien (cm)	33 ± 1,9	31,5 ± 1,8	< 0,02
Retard de croissance intra-utérin	n = 7/19 36 %	n = 20/27 74 %	< 0,03
Âge médian au diagnostic (jours) (extrêmes)*	27 (1-127)	6 (1-81)	< 0,01
Dose initiale d'insuline (U/kg/j)	1,4 ± 1,2	0,6 ± 0,25	< 0,006

* Étant donné le caractère non gaussien de la distribution des âges dans la population étudiée, un test non paramétrique, le test U de Mann-Whitney, a été utilisé pour comparer l'âge dans les deux groupes.

sible, puisque l'inactivation ciblée du gène correspondant chez la souris avait provoqué des troubles graves du développement pancréatique endocrin et exocrine (18) et que d'autres résultats étaient en faveur d'un effet régulateur de l'IPF-1 sur l'expression des gènes de l'insuline et de la somatostatine (19). Il s'est en effet avéré que l'enfant était homozygote pour une délétion d'un seul nucléotide dans le codon 63 du gène *IPF-1* (Pro63fsdelC) (20). D'autres sujets ont été identifiés comme hétérozygotes pour la même mutation. L'isoforme mutante tronquée du gène *IPF-1* agit alors comme un inhibiteur dominant négatif de l'activité du gène *IPF-1* de type sauvage (21).

Glucokinase

Une autre forme de diabète MODY, le MODY 2, est liée à la présence de mutations du gène de la glucokinase et se manifeste habituellement par une hyperglycémie modérée (22). La glucokinase joue un rôle de premier plan dans la régulation du métabolisme du glucose dans la cellule bêta, contrôlant ainsi la quantité d'insuline sécrétée. Toutefois, dans deux familles (l'une norvégienne et l'autre italienne) comportant plusieurs sujets diabétiques, deux nourrissons souffraient de DNND classique (diagnostiqué au premier jour postnatal) et avaient des mutations faux-sens du gène de la glucokinase présentes à l'état homozygote (23). Ces mutations étaient responsables d'un déficit complet de l'activité glycolytique, tandis que les parents, apparemment consanguins et souffrant d'une intolérance au glucose discrète ou modérée, étaient hétérozygotes pour ces mutations (23). Aucun autre cas de DNND lié à des mutations homozygotes du gène de la glucokinase n'a été mis en évidence dans des cohortes britanniques et françaises (18 malades en tout), ce qui laisse à penser qu'il ne s'agit pas d'une étiologie majeure de DNND (24, 25).

Toutefois, en cas d'antécédent de diabète gravidique, nous conseillons un dosage de la glycémie à jeun chez les deux parents. La découverte d'une intolérance discrète au glucose chez les deux parents doit alors conduire à un examen de dépistage à la recherche de mutations du gène de la glucokinase.

FOXP3 (IPEX)

Plusieurs auteurs ont décrit un syndrome lié à l'X et caractérisé par l'association d'une dermatite exfoliatrice, d'une diarrhée réfractaire avec atrophie villositaire, d'une anémie hémolytique, d'une thyroïdite auto-immune et d'un DNN. La plupart de ces enfants sont décédés d'infection grave avant l'âge de 1 an (26). Une agénésie des îlots de Langerhans a été décrite dans certains cas (27). La possibilité d'une étiologie auto-immune à cette maladie a été étayée par l'efficacité apparente de la ciclosporine dans un ou deux cas (28). Des anticorps spécifiques de la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD, *Glutamic Acid Decarboxylase*) ont été mis en évidence chez un malade avant une greffe de moelle, ce qui constitue un argument supplémentaire en faveur de l'origine auto-immune de cette forme de DNN. Le conditionnement pour la greffe de moelle a provoqué la disparition du diabète une semaine avant la greffe, et, après celle-ci, la diarrhée et les lésions cutanées ont régressé. Après 2 ans de rémission, un syndrome hémophagocytaire est apparu, provoquant le décès (29). La mutation responsable de cette maladie se situe dans le gène *FOXP3*, qui code pour une protéine contenant un domaine *forkhead* (30). On constate, chez la souris *scurfy* porteuse d'une mutation faux-sens du gène *FOXP3*, une prolifération excessive des lymphocytes T CD4+/CD8-, qui infiltrent de nombreux organes. Les mâles meurent 15 à 25 jours après la naissance (31). Il a maintenant été

démonstré que la protéine codée par ce gène, ou "scurfine", est indispensable à une homéostasie normale du système immunitaire.

EIF2AK3

Le syndrome de Wolcott-Rallison est une affection autosomale récessive caractérisée par l'apparition d'un diabète dans la toute première enfance (souvent en période néonatale) et par une dysplasie spondylo-épiphysaire. Il existe toute une série d'anomalies associées, notamment une hépatomégalie, un retard mental et une insuffisance rénale. L'évolution peut être rapidement mortelle (32). En 2000, Delepine et son équipe ont réussi, grâce à l'étude de deux familles consanguines, à mettre en cause le locus 2p12 (33). Ce locus contient le gène *EIF2AK3*, qui est fortement exprimé dans les îlots bêta et contribue à la régulation de la synthèse protéique. Les protéines, dont l'insuline, sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique. En réponse aux agressions exogènes, les cellules réduisent leur synthèse protéique en phosphorylant la sous-unité alpha de l'EIF2 (facteur initiateur de la traduction chez les eucaryotes) grâce à une enzyme, l'*EIF2AK3* (kinase 3 de l'EIF2). Les protéines dont le repliement se fait de façon anormale dans le réticulum endoplasmique renforcent l'inhibition de l'initiation de la traduction médiée par la phosphorylation accrue de l'EIF2-alpha. L'inactivation ciblée du gène *EIF2AK3* de la souris (PERK) conduit à une accumulation dans le réticulum endoplasmique de protéines comportant des erreurs de repliement, ce qui provoque une augmentation anormale de la synthèse protéique et fait peser un stress supplémentaire sur l'appareil de repliement du réticulum endoplasmique (34). Le gène *PERK* est fortement exprimé dans le pancréas de la souris. Sa délétion expérimentale n'altère pas le développement

du pancréas endocrine et/ou exocrine. Après la naissance, toutefois, on observe une distension du réticulum endoplasmique, un taux accru de mort cellulaire et un diabète accompagné d'une insuffisance pancréatique exocrine qui s'aggrave progressivement (35). Une autre étude de familles consanguines touchées par le syndrome de Wolcott-Rallison a confirmé la présence dans le gène *EIF2AKA3* de mutations qui présentaient une ségrégation avec la maladie dans chacune des familles étudiées (35).

Autres syndromes comportant un diabète néonatal définitif

En 1992, Christen et ses collègues ont décrit deux observations d'hyperactivité de la phosphoribosyl-ATP pyrophosphatase liée à l'X. Chez ces deux garçons, un diabète a été diagnostiqué au premier jour de vie postnatale. Le déficit en insuline a persisté ensuite à mesure de l'avancée en âge, avec toutefois quelques périodes sans insuline. Les deux garçons présentaient d'autres anomalies graves, notamment un retard mental, une ataxie et une neuropathie axonale d'aggravation progressive. Dans les deux cas, la mère avait une hyperuricémie (goutte) et une intolérance au glucose avec un antécédent de diabète gravidique (36). En 1994, Yorifuji et son équipe ont décrit une association pathologique faite d'un DNN lié à une hypoplasie pancréatique sévère (seule la tête pancréatique était présente) et d'une cardiopathie congénitale cyanogène (transposition des gros vaisseaux de la base ou tétralogie de Fallot). Tous les malades appartenaient à la même famille et la transmission semblait être autosomique dominante. Le diabète n'était pas constamment présent dès la période néonatale, la date d'apparition dépendant probablement de la quantité de tissu pancréatique résiduel (37).

Un autre syndrome sévère a été décrit plus récemment chez trois membres d'une famille consan-

guine. Ce syndrome associe un diabète néonatal et une hypoplasie cérébelleuse. La transmission serait autosomique récessive. Les trois enfants sont décédés dans les premiers mois de vie en raison de troubles métaboliques, d'altérations de la fonction respiratoire et, semble-t-il, d'infections graves (38). Fait intéressant, plusieurs activateurs spécifiques de la transcription, qui régulent l'expression génétique, sont présents à la fois dans les cellules bêta et dans les neurones (39) : un dysfonctionnement d'un quelconque de ces activateurs pourrait expliquer les deux éléments de ce syndrome, bien que les études de liaison génétique soient pour l'instant restées négatives.

Une observation laisse à penser qu'une infection maternelle par un entérovirus (échovirus 6) pendant la grossesse (fin du premier trimestre) pourrait conduire à un diabète auto-immun à début néonatal, caractérisé par la présence d'anticorps anti-insuline et antidécarboxylase de l'acide glutamique dès la naissance ou à partir des tout premiers jours de la vie postnatale. Il s'agit de celle d'une petite fille, ce qui élimine un IPEX, dont le pancréas est sévèrement hypoplasique. Les auteurs évoquent un rôle étiologique de la transmission transplacentaire d'un entérovirus qui a pu directement altérer l'organogénèse pancréatique ou provoquer une réaction immunitaire intense dirigée contre la cellule bêta (40).

Il convient de remarquer que le DNN peut s'observer dans le cadre d'une pathologie mitochondriale (6). Il existe alors le plus souvent d'autres dysfonctionnements d'organe qui sont parfois découverts après le diagnostic de diabète.

Mutation du gène *KCNJ11* qui code pour le canal potassique de la cellule bêta : *Kir6.2*

Très récemment, des mutations du canal potassique de la cellule bêta

ont été reliées au diabète néonatal définitif. Le canal potassique sensible à l'ATP joue un rôle crucial dans la stimulation de la sécrétion d'insuline par la cellule bêta pancréatique en réponse au glucose. Ce canal potassique de la cellule bêta est constitué de sous-unités qui forment la conductance potassique proprement dite (*Kir6.2*) et d'une sous-unité régulatrice (*SUR1*). Le gène codant pour la sous-unité *Kir6.2* du canal potassique, *KCNJ11*, a été impliqué dans des cas d'hyperinsulinisme lorsque des mutations inactivatrices sont présentes (à l'état homozygote). De plus, des polymorphismes de ce gène ont été liés à une susceptibilité au diabète de type 2. Il était donc logique de chercher, par hypothèse d'un mécanisme physiopathologique en miroir de ceux de l'hyperinsulinisme lié à *Kir6.2*, des mutations du gène codant pour la sous-unité potassique *Kir6.2* dans les cas de diabète néonatal permanent. Six mutations à l'état hétérozygote ont d'abord été identifiées chez 10 des 29 patients atteints d'un diabète néonatal permanent qui ont été testés (41). Chez deux de ces patients, le diabète était familial, tandis que, chez huit autres, il n'est apparu que chez les sujets porteurs de la mutation, qui était donc une néomutation. Ces diabètes néonataux permanents étaient caractérisés par une acidocétose ou une hyperglycémie très marquée et étaient traités par insuline. Les patients ne répondaient par une sécrétion d'insuline ni au glucose ni au glucagon. En revanche, trois des patients testés étaient capables de produire de l'insuline en réponse au tolbutamide, un sulfamide hypoglycémiant dont l'action passe par sa liaison à la sous-unité régulatrice du canal potassique *SUR1*. Fait intéressant, quatre des patients porteurs d'une mutation du gène codant *Kir6.2* avaient des retards du développement et des anomalies musculaires. Trois d'entre eux avaient aussi une épilepsie et des traits dysmorphiques. La plus fréquente des mutations a été testée in vitro, et

c'est ainsi que le caractère activateur de la mutation pour le canal potassique a pu être démontré. Le mécanisme intime de ce diabète néonatal réside donc dans l'incapacité du glucose à entraîner une activation de la conductance potassique en raison d'une réduction de la sensibilité à l'ATP. Elle entraîne une incapacité de dépolarisation de la membrane de la cellule bêta et, consécutivement, une activation des canaux calciques voltage-dépendants. La conséquence ultime est une incapacité de la cellule bêta à sécréter de l'insuline. Fait remarquable rapporté dans ce premier article, la plupart des patients avaient un petit poids de naissance. Ce signe objective à nouveau le rôle important de la sécrétion d'insuline dans la constitution d'un poids de naissance normal. Dans notre travail, dix-sept patients atteints d'un diabète néonatal permanent ont pu être étudiés. Neuf d'entre eux ont une mutation dans le gène *KCNJ11* codant pour *Kir6.2*. Six de ces neuf patients ont des poids de naissance inférieurs au 5^e percentile. Deux patients, qui ont des mutations privées et non décrites dans le premier travail publié, ont des poids de naissance normaux. Aucune des caractéristiques cliniques recueillies ne permet de distinguer le groupe des patients porteurs de la mutation de ceux qui n'en sont pas porteurs. Néanmoins, on remarque que seuls deux des neuf patients non porteurs de la mutation ont un poids de naissance inférieur au 5^e percentile pour le terme. On note aussi, dans notre travail, que des convulsions sont observées chez un patient qui n'est pas porteur de la mutation. Dans notre série, les mutations de *KCNJ11* expliquent donc environ 50 % des cas de diabète néonatal permanent. Aucune vraie corrélation génotype-phénotype n'a pu être dégagée (42).

Ces travaux passionnants ouvrent de nouvelles perspectives d'exploration et de traitement de ces patients, notamment par les insulino-sécréteurs (43).

Diabètes néonataux définitif et transitoire : un même mécanisme moléculaire ?

La différence clinique entre DNNT et DNND n'est pas toujours sous-tendue par des mécanismes moléculaires distincts. Les anomalies de méthylation (anomalie de l'empreinte) n'ont jamais à ce jour été associées à un DNND. Ainsi qu'il a été précédemment mentionné, des récurrences de DNNT existent néanmoins. En revanche, les anomalies de la sous-unité *Kir6.2* du canal potassique ont pu être associées très récemment à la fois à des formes définitives et transitoires (44).

Conclusion

Certains éléments se dégagent des données de la littérature et de notre expérience personnelle :

- Le retard de croissance intra-utérin est plus fréquent et l'acidocétose diabétique moins fréquente dans le DNNT que dans le DNND.
- Dans le DNNT, le diagnostic est porté plus tôt dans la vie et les besoins en insuline sont initialement plus bas.
- Le chevauchement entre les deux groupes est considérable, de sorte que le DNNT ne peut être différencié du DNND d'après les signes cliniques.
- Le diabète à début très précoce semble habituellement être sans rapport avec un mécanisme auto-immun.
- La récurrence du diabète est fréquente dans la forme dite "transitoire", et un suivi prolongé est donc indispensable.
- Le diagnostic moléculaire des anomalies du chromosome 6 permet de différencier la forme transitoire de la forme définitive en période néonatale.
- De 35 à 50 % des formes définitives sont expliquées par des mutations du gène codant pour le canal potassique de la cellule sécrétrice d'insuline.

– La prise de conscience des énormes difficultés du traitement du diabète en période néonatale doit inciter les cliniciens à transférer ces malades en centre spécialisé.

– L'insulinothérapie et un apport calorique important constituent la base du traitement.

– L'insulinothérapie à la pompe peut constituer un outil thérapeutique intéressant à cet âge, à condition d'être utilisée par une équipe expérimentée.

Malgré sa grande rareté, le diabète néonatal constitue probablement une source précieuse d'informations sur la pathogénie du diabète de type 2 dans la population générale. Nous pensons que ces rares maladies monogéniques sont des modèles naturels permettant de découvrir de nouveaux gènes susceptibles d'être impliqués dans le diabète de type 2. Comme cela a déjà été montré, la mutation du gène *IPF-1* est importante dans le MODY 4 et certaines formes familiales de diabète de type 2 à début précoce. Dans le DNNT, Lindsay et al. ont mis en évidence un lien faible entre le diabète des Indiens Pima et des allèles d'origine paternelle situés en 6q2.4 (45). Nous formons le vœu que l'élucidation des causes d'autres formes de diabète néonatal enrichira nos connaissances sur le développement du pancréas et sur la pathogénie des anomalies fonctionnelles pancréatiques. ■

Remerciements

Nous remercions l'Aide aux Jeunes Diabétiques (AJD), une association à but non lucratif qui a généreusement soutenu certains de nos travaux sur le diabète néonatal. Pour leur participation active à notre projet consacré au diabète néonatal, nous exprimons notre reconnaissance au Pr Paul Czernichow, du service d'endocrinologie pédiatrique de l'hôpital Robert-Debré à Paris, ainsi qu'au Dr Martine Vaxillaire et au Pr Philippe Froguel, de l'Institut Pasteur de Lille.

Références

- Von Mühlendahl KE, Herkenhoff H. Long-term course of neonatal diabetes. *N Engl J Med* 1995; 333:704-8.
- Shield JP, Gardner RJ, Wadsworth EJ et al. Aetiopathology and genetic basis of neonatal diabetes. *Arch Dis Child* 1997;76:39-42.
- Ferguson AW, Milner RDG. Transient neonatal diabetes mellitus in sibs. *Arch Dis Child* 1970;45: 80-1.
- Fösel S. Transient and permanent neonatal diabetes. *Eur J Pediatr* 1999;154:944-8.
- Shield JPH, Baum JD. Transient neonatal diabetes and later onset diabetes. A case of inherited insulin resistance. *Arch Dis Child* 1995;72:56-7.
- Metz C, Cave H, Bertrand AM et al. Neonatal diabetes mellitus: chromosomal analysis in transient and permanent cases. *J Pediatr* 2002.
- Temple IK, Gardner RJ, MacKay DJG et al. Transient neonatal diabetes mellitus: widening our understanding of the aetiopathogenesis of diabetes. *Diabetes* 2000;49:1359.
- Shield JP, Temple IK, Sabin M et al. An assessment of pancreatic endocrine function and insulin sensitivity in patients with transient neonatal diabetes in remission. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004;89:F341-3.
- Temple IK, James RS, Crolla JA et al. An imprinted gene(s) for diabetes? *Nat Genet* 1995;9:110-2.
- Christian SL, Rich BH, Loebl C et al. Significance of genetic testing for paternal uniparental disomy of chromosome 6 in neonatal diabetes mellitus. *J Pediatr* 1999;134:42-6.
- Cave H, Polak M, Drumat S et al. Refinement of the 6q chromosomal region implicated in transient neonatal diabetes. *Diabetes* 2000;49:108-13.
- Temple IK, Gardner RJ, Robinson DO et al. Further evidence for an imprinted gene for neonatal diabetes localized to chromosome 6q22-23. *Hum Mol Genet* 1996;5:1117-21.
- Gardner RJ, Mackay DJ, Mungall AJ et al. An imprinted locus associated with transient neonatal diabetes mellitus. *Hum Mol Genet* 2000; 9:589-96.
- Arima T, Drewell RA, Arney KL et al. A conserved imprinting control region at the HYMAI/ZAC domain is implicated in transient neonatal diabetes mellitus. *Hum Mol Genet* 2001;10:1475-83.
- Ma D, Shield JP, Dean W et al. Impaired glucose homeostasis in transgenic mice expressing the human transient neonatal diabetes mellitus locus, TNDM. *J Clin Invest* 2004;114:339-48.
- Marquis E, Le Mommier de Gouville I, Bouvattier C et al. HLA-DRB1 and DQB1 genotypes in patients with insulin-dependent neonatal diabetes mellitus. A study of 13 cases. *Tissue Antigens* 2000;58:217-22.
- Iafusco D, Stazi MA, Cotichini R et al. Early Onset Diabetes Study Group of the Italian Society of Paediatric Endocrinology and Diabetology. Permanent diabetes mellitus in the first year of life. *Diabetologia* 2002;45(6):798-804.
- Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice. *Nature* 1994;371:606-9.
- Vaulont S, Vasseur-Cognet M, Kahn A. Glucose regulation of gene transcription. *J Biol Chem* 2000;275:31555-8.
- Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V et al. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in human IPF-1 coding region. *Nat Genet* 1997;15:106-10.
- Stoffers DA, Stanojevic V, Habener JF. Insulin Promoter Factor-1 gene mutation linked to early onset type 2 diabetes mellitus directs expression of dominant negative isoprotein. *J Clin Invest* 1998; 102:232-41.
- Velho G, Froguel P. Genetic, metabolic and clinical characteristics of maturity onset diabetes of the young. *Eur J Endocrinol* 1998;138:233-9.
- Njolstad PR, Oddmund S, Cuesta-Munoz A et al. Permanent neonatal diabetes mellitus due to glucokinase deficiency: an inborn error of the glucose/insulin signaling pathway. *N Engl J Med* 2001;344:1588-92.
- Gloyn AL, Ellard S, Shield JP et al. Complete glucokinase deficiency is not a common cause of permanent neonatal diabetes. *Diabetologia* 2002; 45(2):290.
- Vaxillaire M, Samson C, Cave H et al. Glucokinase gene mutations are not a common cause of permanent neonatal diabetes in France. *Diabetologia* 2002;45:454.
- Peake JE, McCrossin RB, Byrne G, Shepherd R. X-linked immune dysregulation, neonatal insulin-dependent diabetes, and intractable diarrhoea. *Arch Dis Child* 1996;74:F195-F199.
- Roberts J, Searle J. Neonatal diabetes mellitus associated with severe diarrhoea, hyperimmunoglobulin E syndrome and absence of islets of Langerhans. *Pediatr Pathol Lab Med* 1995;15:477-83.
- Satake N, Nakanishi M, Okano M et al. A Japanese family of X-linked auto-immune enteropathy with haemolytic anaemia and polyendocrinopathy. *Eur J Pediatr* 1993;152:313-5.
- Baud O, Goulet O, Canioni D et al. Treatment of the immune dysregulation, poly-endocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) by allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 2001;344:1758-62.
- Bennett C, Christie J, Ramsdell F et al. The immune dysregulation, poly-endocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001;27:20-1.
- Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001;27:68-73.
- Wolcott CD, Rallison ML. Infancy-onset diabetes mellitus and multiple epiphyseal dysplasia. *J Pediatr* 1972;80:292-736.
- Delepine M, Nicolino M, Barrett T et al. EIF2AK3, encoding translation initiation factor 2-alpha kinase 3, is mutated in patients with Wolcott-Rallison syndrome. *Nat Genet* 2000;25: 406-9.
- Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A et al. Perk is essential for translational regulation and cell survival during unfolded protein response. *Molecular Cell* 2000;5:897-904.
- Harding HP, Zeng H, Zhang Y et al. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in perk-/- mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Molecular Cell* 2001;7:1153-63.
- Christen HJ, Hanefeld F, Duley JA, Simmonds HA. Distinct neurological syndrome in two brothers with hyperuricaemia. *Lancet* 1992; 340:1167-8.
- Yorifuji T, Matsumura M, Okuno T et al. Hereditary pancreatic hypoplasia, diabetes mellitus, congenital heart disease: a new syndrome? *J Med Genet* 1994;31:331-3.
- Hoveyda N, Shield JPH, Garrett C et al. Neonatal diabetes mellitus and cerebellar hypoplasia/agenesis: report of an association in three members of a consanguineous family. *J Med Genet* 1999;36:700-4.
- Atouf F, Czernichow P, Scharfmann R. Expression of neuronal traits in pancreatic beta cells. *J Biol Chem* 1997;272:1929-34.
- Otonkoski T, Roivainen M, Vaaral O et al. Neonatal type 1 diabetes associated with maternal echovirus 6 infection: a case report. *Diabetologia* 2000;43:1235-8.
- Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF et al. Activating mutations in the ATP-sensitive potassium channel subunit Kir6.2 gene are associated with permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350:1838-49.
- Vaxillaire M, Populaire C, Busiah K et al. Permanent neonatal diabetes mellitus and Kir6.2 mutations: genotype phenotype correlation in a large cohort of French patients. *Diabetes* 2004; 53:2719-22.
- Sagen JV, Raeder H, Hathout E et al. Permanent neonatal diabetes due to mutations in KCNJ11 encoding Kir6.2: patient characteristics and initial response to sulfonylurea therapy. *Diabetes* 2004;53:2713-8.
- Gloyn AL, Reimann F, Girard C et al. Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in KCNJ11. *Hum Mol Genet* 2005;14:925-34.
- Lindsay RS, Kobes S, Knowler WC et al. Genome-wide linkage analysis assessing parent-of-origin effects in the inheritance of type 2 diabetes and BMI in Pima Indians. *Diabetes* 2001; 50:2850-7.