

УДК 577.21

ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ PAX4: РОЛЬ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ ИНСУЛИНПРОДУЦИРУЮЩИХ КЛЕТОК В ХОДЕ РАЗВИТИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И СВЯЗЬ С ДИАБЕТОМ

© 2025 г. А. И. Мельникова^{а, б}, Т. С. Краснова^а, П. М. Рубцов^{а, *}^аИнститут молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия^бМосковский физико-технический институт, Долгопрудный, Московская область, 141701 Россия

*e-mail: rubtsov@eimb.ru

Поступила в редакцию 21.08.2024 г.

После доработки 22.10.2024 г.

Принята к публикации 30.10.2024 г.

PAX4 (Paired Box 4) – это фактор транскрипции, который экспрессируется в основном в поджелудочной железе и играет ключевую роль в развитии инсулинпродуцирующих β-клеток в эмбриогенезе. PAX4 является основным регулятором адаптации зрелых β-клеток в условиях патологии. Важность этого фактора для правильного функционирования островковых клеток поджелудочной железы обнаружена при изучении связи мутаций в гене *PAX4* с развитием разных форм сахарного диабета. Сверхэкспрессия этого фактора во взрослых островках стимулирует пролиферацию β-клеток и их устойчивость к апоптозу. В совокупности эти данные указывают на PAX4 как на потенциальную мишень новых методов лечения сахарного диабета, направленных на репрограммирование клеток разного типа в инсулинпродуцирующие и стимуляцию пролиферации этих клеток для восполнения массы β-клеток, утраченных при прогрессировании заболевания. Разработка таких методов требует знания молекулярных механизмов, контролирующих экспрессию гена *PAX4* и его генов-мишеней. В настоящем обзоре суммированы данные о структуре и экспрессии гена *PAX4* человека. Описано взаимодействие разных факторов транскрипции в ходе дифференцировки клеток поджелудочной железы и формирования островков Лангерганса, а также роль PAX4 в этих процессах. Рассмотрена связь мутаций в гене *PAX4* человека с развитием разных форм сахарного диабета и перспективы перепрограммирования клеток разного типа в инсулинпродуцирующие клетки. Обсуждается возможность разработки новых подходов к лечению сахарного диабета, основанных на воздействии на регулируемые PAX4 сигнальные пути.

Ключевые слова: фактор транскрипции PAX4, регуляция транскрипции, сахарный диабет, моногенный диабет MODY, инсулинпродуцирующие клетки, регенеративная медицина

DOI: 10.31857/S0026898425020023, **EDN:** GGXQEP

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД), заболеваемость которым быстро растет во всем мире, признан глобальной социально значимой неинфекционной эпидемией и находится под контролем ООН и национальных систем здравоохранения [1]. Высокий уровень инвалидизации от осложненного СД требует разработки эффективных подходов к ранней диагностике и лечению этого заболевания. Наряду с классическими формами СД типа 1 и типа 2, существуют и моногенные формы, изучение патогенеза которых имеет большое значение для выяснения генетических основ этого многофакторного заболевания. Среди них выделяют так называемый диабет взрослого типа у молодых (MODY, Maturity-Onset Diabetes of the Young). Выделяют до 14 форм MODY, обусловленных мутациями в генах факторов транскрипции, контролирующих развитие β-клеток поджелудочной железы или экспрессию генов в β-клетках, а также в генах других белков, участвующих в контроле метаболизма инсулинпродуцирующих клеток. Мутации в гене фактора транскрипции PAX4 приводят к развитию одной из редких форм MODY – MODY9 [2]. PAX4 вызывает особый интерес, благодаря своей важной роли в спецификации инсулинпродуцирующих клеток поджелудочной железы в эмбриогенезе, а также в поддержании их нормального функционирования в зрелых островках Лангерганса [2–4].

крипции, контролирующих развитие β-клеток поджелудочной железы или экспрессию генов в β-клетках, а также в генах других белков, участвующих в контроле метаболизма инсулинпродуцирующих клеток. Мутации в гене фактора транскрипции PAX4 приводят к развитию одной из редких форм MODY – MODY9 [2]. PAX4 вызывает особый интерес, благодаря своей важной роли в спецификации инсулинпродуцирующих клеток поджелудочной железы в эмбриогенезе, а также в поддержании их нормального функционирования в зрелых островках Лангерганса [2–4].

СЕМЕЙСТВО ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ PAX

Белки семейства PAX представляют собой факторы транскрипции с высококонсерватив-

ным ДНК-связывающим *paired*-доменом (PD), состоящим из 128 аминокислотных остатков. Первоначально *paired*-домен идентифицировали в белке дрозофилы, кодируемом геном сегментации (*prd*) [5]. Позже гомологи PAX обнаружили у многих видов – от нематод и морских ежей до человека. Семейство генов PAX состоит из 9 членов (*PAX1–PAX9*), подразделяемых на четыре группы, исходя из организации двух дополнительных мотивов: наличия или отсутствия консервативного октапептида (OD) и полной или усеченной формы гомеодомена (HD) из 60 аминокислотных остатков [2].

ДНК-связывающий домен PD состоит из двух структурных субдоменов – PAI и RED [6]. N-концевой субдомен PAI напрямую взаимодействует с ДНК, в то время как C-концевой RED не взаимодействует непосредственно с ДНК, но может влиять на связывание PD с ДНК [2, 6]. Белки PAX играют важную роль в регуляции эмбриогенеза. Они участвуют в развитии разных органов, тканей и систем, таких как вилочковая железа (*PAX1* и *PAX7*), позвоночник (*PAX1*), органы слуха (*PAX2* и *PAX8*), почки (*PAX2*), центральная нервная система (*PAX2*, *PAX3*, *PAX5–PAX8*), сердечно-сосудистая система, нервная система кишечника, меланоциты, клетки Шванна (*PAX3* и *PAX7*), поджелудочная железа (*PAX4* и *PAX6*), В-лимфоциты (*PAX5*), глаз (*PAX6*), скелетные мышцы (*PAX3* и *PAX7*), щитовидная железа (*PAX8*) и зубы (*PAX7* и *PAX9*) [7]. Кроме того, белки PAX вовлечены в процессы клеточной пролиферации, устойчивость к апоптозу и миграцию эмбриональных клеток-предшественников. *PAX4* и *PAX6* (группа IV) ассоциированы с развитием и функционированием клеток поджелудочной железы, а мутации в гене *PAX4* приводят к развитию СД разных типов [8].

РАХ4: СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

PAX4 – фактор транскрипции, который распознает консенсусную последовательность ANNN(C/T)CACCC как в промоторах, так и в энхансерах генов-мишеней [9]. Ген *PAX4*, состоящий из 11 экзонов, картирован на длинном плече хромосомы 7 в области 7q32.1.

PAX4 принимает участие в дифференцировке инсулинпродуцирующих β -клеток и соматостатинпродуцирующих δ -клеток поджелудочной железы. У мышей с нокаутом гена *PAX4* полностью отсутствуют зрелые β - и δ -клетки, однако представлены α -клетки. *PAX4* и *PAX6* составляют IV группу семейства PAX, члены которой характеризуются высокой гомологией в пределах ДНК-связывающих доменов – 70% в PD и 65% в HD [9]. Присутствие двух ДНК-связывающих

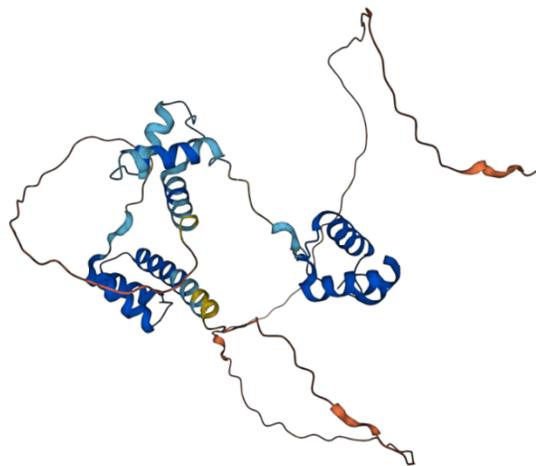


Рис. 1. Пространственная структура белка PAX4 (alphafold.com).

доменов в этих факторах транскрипции обеспечивает высокую специфичность распознавания нуклеотидных последовательностей. N-концевая область домена PD имеет сложную структуру, состоящую из двух мотивов спираль-поворот-спираль (НТН), разделенных гибкой консервативной полипептидной цепью (рис. 1). Высококонсервативный домен PD обеспечивает распознавание целевой ДНК. C-концевой субдомен является более дивергентным и, несмотря на более низкое сродство к ДНК в некоторых белках PAX, может влиять на специфичность связывания ДНК [10]. Гибкий линкер между этими двумя мотивами НТН также контактирует с ДНК [11]. Второй ДНК-связывающий домен, HD, может с достаточно высокой аффинностью связываться с конкретными последовательностями ДНК независимо от PD, однако именно совместное действие PD и HD и функциональная взаимозависимость этих двух доменов регулируют связывание белков PAX с регуляторными элементами генов-мишеней [11].

ДНК-связывающие домены *PAX4* и *PAX6* обладают высоким уровнем гомологии, а сходство консенсусных сайтов связывания позволяет этим факторам конкурировать за одни и те же мишени. Однако более низкое сродство *PAX4* в сочетании с более низким уровнем его экспрессии в β -клетках поджелудочной железы по сравнению с *PAX6* предполагает, что эти два фактора имеют разные гены-мишени [9, 12]. C-концевая область белка *PAX4* менее консервативна, она обогащена остатками пролина/серина/треонина и содержит домен трансактивации (TAD) (рис. 2). У некоторых членов семейства PAX активность TAD не зависит от типа клеток [13], однако у *PAX4* актив-

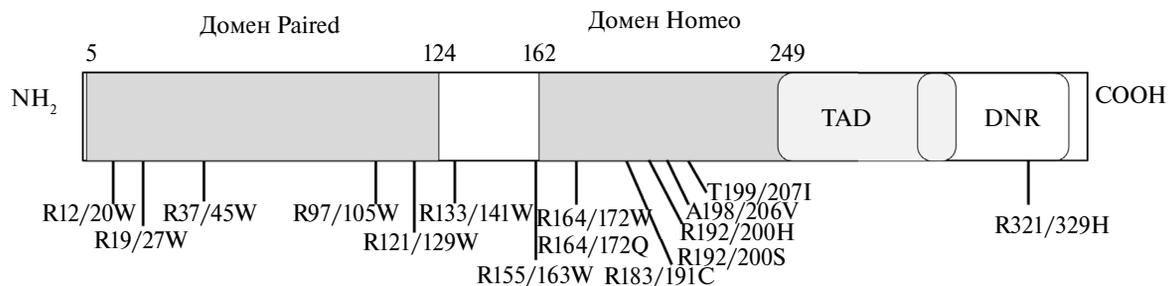


Рис. 2. Схематичное изображение структуры белка PAX4. Консервативная N-концевая половина белка содержит ДНК-связывающие домены, а в состав C-концевой области входят домены трансактивации (TAD) и негативной регуляции (DNR). Отмечены аминокислотные остатки в вариантах PAX4, выявленные при секвенировании гена у пациентов с разными формами СД. Длина N-концевой последовательности у альтернативных изоформ белка отличается на восемь остатков, поэтому указаны положения аминокислотных замен в двух типах изоформ (например, R19/27W).

ность этого домена (аминокислотные остатки 232–314 в PAX4 мыши) зависит от типа клеток и часто связана с E1A-подобной активностью — маркером недифференцированного статуса клеток. Одной из уникальных характеристик PAX4 является домен негативной регуляции (в пределах аминокислотных остатков от 274 до 349 в PAX4 мыши), расположенный рядом с TAD. Этот домен наделяет PAX4 функцией репрессора транскрипции и остается активным независимо от типа клеток [13]. Показано, что клетки инсулиномы способны экспрессировать усеченные с C-конца варианты PAX4 [14, 15]. Функциональный анализ одного из таких вариантов *in vitro* показал, что этот усеченный белок связывает ДНК столь же эффективно, как и белок дикого типа (WT), но активирует, а не подавляет транскрипцию генов.

В 5'-регуляторной области гена PAX4 человека выявлен участок длиной 118 п.н., содержащий сайты связывания факторов транскрипции HNF1, HNF4 и PDX-1. Мутации в генах этих белков приводят к развитию других форм MODY. Кроме того, сам PAX4 имеет как минимум два высокоаффинных сайта связывания в промоторной области собственного гена. Взаимодействие с ними обеспечивает сильное негативное ауторегуляторное действие PAX4 [16]. Таким образом, можно предположить, что в процессе развития поджелудочной железы экспрессия гена PAX4 активируется комбинацией специфических факторов, а затем выключается при достижении белком PAX4 определенного уровня. Установлено также, что мРНК PAX4 подвергается альтернативному сплайсингу, в результате которого образуются варианты, кодирующие белки, отличающиеся структурой N- и C-концевых областей (рис. 3). Транскрипционная активность таких изоформ на промоторах генов инсулина и глюкагона человека в трансфицированных клетках

HEK293 снижена по сравнению с полной формой PAX4, однако aberrантные варианты сохраняют стабильность [17] и способность к ядерной локализации.

СВЯЗЬ МУТАЦИЙ И ПОЛИМОРФИЗМОВ В ГЕНЕ PAX4 С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Большинство вариантов гена PAX4, ассоциированных с развитием разных форм СД, содержат замены нуклеотидов (миссенс-мутации) в участках, кодирующих ДНК-связывающие домены. На рис. 2 и в табл. 1 представлены миссенс-мутации в гене PAX4, идентифицированные у больных СД из разных популяций. В число наиболее хорошо охарактеризованных входит вариант с заменой R121/129W [18]. В отличие от PAX4 дикого типа этот вариант не способен защищать экспериментальных животных от стрептозотоцин-индуцируемой гипергликемии, а изолированные панкреатические островки от опосредуемого цитокинами апоптоза [19]. На сегодняшний день описаны и охарактеризованы и другие варианты гена PAX4 (табл. 1). Например, в России найдены два варианта, кодирующие белки с заменами R19/27W и T199/207I (экзоны 1 и 5 соответственно) [20]. Пациенты с этими вариантами нуклеотидной последовательности в гетерозиготном состоянии не нуждались в инсулинотерапии и могли контролировать уровень глюкозы в крови с помощью диеты.

В экспериментах на клетках βTC3 и αTC1.9 показано снижение репрессорной активности белка PAX4 с аминокислотной заменой R192/200H в HD на промоторах генов инсулина и глюкагона соответственно. Нарушение функций β-клеток, экспрессирующих PAX4 с этой заменой, может приводить к развитию MODY или СД2 [21]. Показано также, что сверхэкспрессия

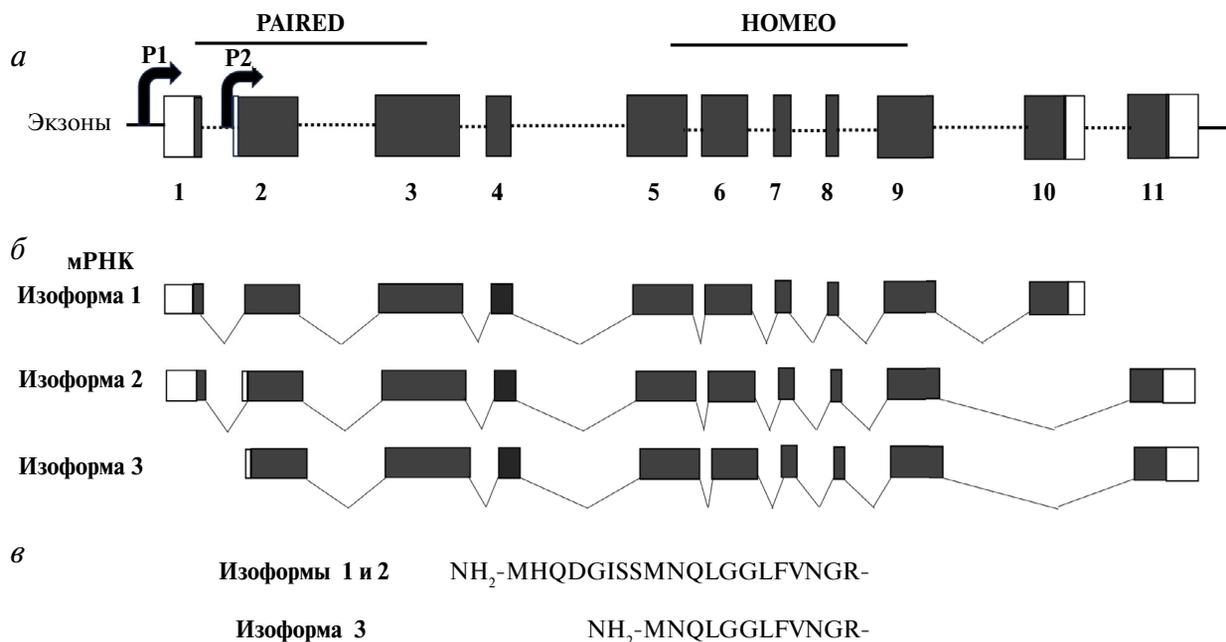


Рис. 3. Схематичное изображение экзон-интронной структуры гена *PAX4* (а), альтернативных изоформ мРНК *PAX4* (б) и N-концевых участков изоформ белка (в). P1, P2 – альтернативные промоторы гена. Синтез белка, кодируемого изоформой мРНК 3, инициируется с альтернативного AUG-кодона, поэтому этот белок укорочен с N-конца на восемь аминокислотных остатков по сравнению с белками, кодируемыми изоформами мРНК 1 и 2 (база данных Uniprot: O43316).

PAX4 с заменой R192/200H и/или P321/329H ведет к снижению жизнеспособности β -клеток в условиях глюкотоксического стресса, что также повышает риск развития СД2 [22]. Повышение частоты вариантов p.R192/200H и p.R192/200S выявлено в популяциях Китая и Юго-Восточной Азии у пациентов с ранними формами СД2, для которых характерен низкий уровень С-пептида [23, 24].

PAX4 с заменой R164/172W в HD, выявленный в тайской популяции, сегрегирует с *MODY*. Эта аминокислотная замена также снижает репрессорную активность *PAX4* на промоторах генов инсулина и глюкагона [24]. С использованием целевой панели секвенирования генов в выборке пациентов с ранними формами СД2 из корейской популяции обнаружен вариант p.R164/172Q [25]. Гетерозиготная делеция в экзоне 3 (с.374-412 del39) гена *PAX4* описана в Японии. У мутантного белка отсутствует часть HD, что приводит к потере репрессорной функции и развитию *MODY* [26]. Замена нуклеотида в акцепторном сайте сплайсинга интрона 7 IVS7-1G>A нарушает сплайсинг пре-мРНК, что приводит к образованию мРНК, в экзоне 8 которой отсутствует кодон, кодирующий глутамин Q250/258. У мутантного белка, кодируемого этой мРНК, снижена репрессорная активность на промоторах генов инсулина и глюкагона в клетках INS-1 832/13 и α TC1.9, а его экспрес-

сия в условиях высокой концентрации глюкозы повышает восприимчивость клеток INS-1 к апоптозу [27]. Гетерозиготная замена с.487C>T (p.R155/163W) в гене *PAX4* приводит к развитию диабета *MODY9* [28]. С использованием секвенирования нового поколения проведен поиск новых мутаций и полиморфизмов в генах, связанных с диабетом *MODY*, и в других популяциях [29–32] (табл. 1).

Проведен детальный анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в гене *PAX4 in silico*, в ходе которого в базе данных dbSNP были найдены 4145 SNP, из которых 362 оказались несинонимическими [39]. Дальнейший анализ этих SNP биоинформатическими методами позволил отобрать 11, соответствующих заменам аминокислот, которые предсказываются как патогенные. Это белки с заменами R12/20W, R31/39Q, R37/45Q, R52/60H, G57/65D, R192/200H, R192/200S, R215/223D, R218/226C, R218/226H и R219/227W. С помощью моделирования структуры белков на основе анализа гомологии аминокислотных последовательностей Phyre2 получены результаты, подтверждающие важность соответствующих аминокислотных остатков для функционирования и стабильности белка. Примечательно, что все они локализируются в пределах ДНК-связывающих доменов *PAX4*. Замены лишь трех из них – R12/20W, R37/45W и R192/200S (R192/200H) – были найдены ра-

Таблица 1. Миссенс-мутации в гене *PAX4* у больных диабетом в разных популяциях

Вариант PAX4*	Диабет, тип	Фенотип	Страна, регион	Ссылка
R12/20W	MODY9	Гипергликемия	Китай	[32]
R19/27W	MODY9	Умеренная гипергликемия, гестационный диабет у матери	Россия	[20]
R37/45W	СД2, склонный к кетозу	Нарушение функции β -клеток и секреции инсулина	Западная Африка	[33]
R97/105W	Латентный аутоиммунный диабет	Высокий уровень аутоантител, гипергликемия	Китай	[34]
R121/129W	СД2	Нарушение ДНК-связывающей активности и толерантности к глюкозе, семейная история СД2	Таиланд, Япония	[18, 19]
R133/141W	СД2	Снижение репрессорной активности, повышение риска кетоацидоза	Западная Африка	[33]
R155/163W	MODY9	Раннее развитие СД, полидипсия, полиурия, гипергликемия	Китай	[28]
R164/172W	MODY9	Снижение репрессорной активности, нарушение толерантности к глюкозе, семейная история СД	Таиланд, Ю. Корея	[22]
R164/172Q	MODY9	Гетерогенные клинические проявления, полинейропатия	Ю. Корея, Бразилия	[25, 35]
R183/191C	MODY9	Не описан	Ю. Корея	[36]
R192/200H	Ранний СД2, MODY9	Диабетический кетоацидоз, нарушение репрессорной активности PAX4, низкий уровень С-пептида в оральном тесте толерантности к глюкозе	Таиланд, Китай, Сингапур	[21–24, 37]
R192/200S	Ранний СД2	Низкий уровень С-пептида в оральном тесте толерантности к глюкозе, высокий индекс массы тела	Китай, Россия	[23, 30]
A198/206V	MODY9	Предположительное снижение репрессорной активности	Италия	[38]
T199/207I	MODY9	СД в семейном анамнезе	Россия	[20]
P321/329H	СД1	Снижение репрессорной активности, нарушение пролиферации β -клеток, предрасположенность к развитию СД1	Швейцария, Германия, Таиланд	[21]
IVS7-1G>A	MODY9	Нарушение репрессорной функции, повышение чувствительности к апоптозу при высоком уровне глюкозы	Таиланд	[24, 27]

*Приведены номера аминокислотных остатков в вариантах PAX4, кодируемых альтернативными изоформами мРНК (см. подписи к рис. 2 и 3).

нее путем секвенирования гена *PAX4* у больных MODY или СД2.

В то же время, проведенное за последнее время на больших выборках экзомное секвенирование подтвердило, что, по крайней мере в европейских популяциях, MODY9 является одной из наиболее редких форм MODY. Так, статистический анализ представленных в Биобанке Великобритании результатов экзомного секвенирования ассоциированных с MODY генов у 14622 человек с разными формами СД и 185509 человек без этого заболевания, позволило сделать вывод о низкой пенетрантности мутаций в гене *PAX4* [40]. Низкий уровень косегрегации вариантов *PAX4* с СД выявлен также в когорте MODY, включающей 1227 человек. В связи с этим обсуждается целесообразность исключения гена *PAX4* из первой линии диагностического генетического тестирования [41].

Проведенное недавно детальное изучение *in vitro* и *in vivo* двух мутантных аллелей гена *PAX4* — распространенного в Юго-Восточной Азии варианта р.R192/200H и выявленного в сингапурской семье нонсенс-варианта р.Y186/192X — с использованием клеточных линий на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) подтвердило тот факт, что и гаплонедостаточность, и утрата функции *PAX4* негативно влияют как на развитие β -клеток поджелудочной железы, так и на секрецию ими инсулина. В то же время, редкие варианты гена *PAX4*, как правило, не приводят к высокопенетрантным формам моногенного СД, но повышают риск развития СД2 [42].

РАХ4 В РАЗВИТИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИИ β -КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Островки Лангерганса — скопления гормонпродуцирующих клеток поджелудочной железы. Каждый островок содержит клетки пяти типов: 1) глюкагонпродуцирующие α -клетки, 2) инсулинпродуцирующие β -клетки, 3) соматостатинпродуцирующие δ -клетки, 4) клетки, продуцирующие панкреатический полипептид (PP), и 5) грелинпродуцирующие ϵ -клетки. В поджелудочной железе новорожденных островки Лангерганса еще незрелые и неспособные к секреции инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой. В дальнейшем эти клетки подвергаются пролиферации, дифференцировке и созреванию за счет изменения профиля экспрессии некоторых генов с образованием полностью функциональных островков.

Ген *ARX* (Aristaless Related Homeobox) кодирует фактор транскрипции, участвующий в развитии переднего мозга, поджелудочной железы и яичек. *PAX4* совместно с белком *ARX* играет ключевую роль в дифференцировке клеток-предшественников поджелудочной железы в процессе эмбрионального развития. Эмбриональные стволовые клетки человека с нокаутом гена *ARX* сохраняют способность к дифференцировке в клетки поджелудочной железы, а дифференцировка эндокринных клеток-предшественников смещается в сторону соматостатинпозитивных клеток с пониженным уровнем экспрессии панкреатического полипептида, глюкагона и инсулина [43]. Такие фенотипические изменения противоположны тем, которые наблюдаются у мышей с дефицитом *PAX4* [8]. Было высказано предположение, что на ранних стадиях эндокринного развития *ARX* и *PAX4* ингибируют друг друга, что и определяет дальнейшую судьбу эндокринных клеток поджелудочной железы. На раннем этапе спецификации островковых клеток их предшественники могут стать предшественниками либо β -/ δ -клеток, либо α -клеток, причем выбор альтернативного пути стимулируется *PAX4* и *ARX* соответственно [44]. Кроме того, оказалось, что избирательного подавления экспрессии гена *ARX* в α -клетках достаточно, чтобы способствовать превращению α -клеток в β -подобные клетки в любом возрасте. Следует также отметить, что при утрате экспрессии гена *ARX* в α -клетках происходит восстановление необходимой для нормального функционирования поджелудочной железы массы β -клеток, сниженной в ходе развития СД. Таким образом, ингибирование экспрессии *ARX* или его молекулярных мишеней/кофакторов может стать потенциальным подходом к лечению СД [44].

В зрелых островках Лангерганса *PAX4* действует как фактор выживания β -клеток. Он способен ингибировать экспрессию нескольких маркеров зрелых β -клеток, в том числе фактора транскрипции MAFA, который регулирует экспрессию гена инсулина, связываясь с элементами С1-A2 промотора, что обеспечивает нормальное функционирование островковых β -клеток у мыши [45, 46]. Фактор MAFA играет также важную роль в приобретении неонатальными β -клетками чувствительности к глюкозе. Повышение экспрессии *PAX4* активирует несколько факторов внутреннего апоптотического пути. Так, например, уровень антиапоптотического фактора Bcl-xL увеличивается после сверхэкспрессии *PAX4* в клеточной линии инсулиномы INS-s1E, а также в изолированных островках поджелудочной железы крыс [47].

Подавление экспрессии *PAX4* снижает уровень Bcl-xL, коррелируя со спонтанным апопто-

зом, и повышает чувствительность к апоптозу, вызванному цитокинами. Обработка клеточной линии MIN6 инсулиномы мыши рекомбинантным белком PAX4 защищает эти клетки от апоптоза, индуцированного фактором некроза опухоли TNF- α , и сопровождается повышением экспрессии *Bcl-xL* [48]. Существует связь между повышенной экспрессией *PAX4* и повышенным уровнем еще одного антиапоптотического фактора – *Bcl-2* – в островках новорожденных крыс, обработанных цилиарным нейротрофическим фактором (CNTF), который способствует выживанию β -клеток [49]. Эктопическая экспрессия *PAX4* в β -клетках островков мыши также коррелирует с увеличением экспрессии *Bcl-2* и отменой высвобождения цитохрома *c* после обработки цитокинами, что свидетельствует о важной роли *PAX4* в контроле апоптотического пути.

PAX4 может также косвенно контролировать пролиферацию β -клеток. Так установлено, что активация *SREBP1c*, ключевого фактора липогенеза *de novo*, регулирующего также компенсацию β -клеток при метаболическом стрессе, стимулирует экспрессию генов клеточного цикла и пролиферацию β -клеток поджелудочной железы, действуя через *PAX4* [50].

Причиной нарушений функций β -клеток при разных формах СД могут быть изменения эндоплазматического ретикулума (ER). В связи с этим особый интерес представляет тот факт, что *PAX4* может способствовать сохранению целостности ER. Выявить участие *PAX4* в поддержании целостности ER позволила обработка изолированных панкреатических островков крысы тапсигаргином – ингибитором Ca^{2+} -АТФазы, который индуцирует апоптоз, зависящий от стресса ER. Показано, что после обработки тапсигаргином в островках поджелудочной железы, сверхэкспрессирующих *PAX4*, сохраняется целостность ER и снижается уровень апоптоза β -клеток [51]. Мутантный вариант *PAX4*, R121/129W, не способен защитить ER от действия тапсигаргина. Механизм защитного действия *PAX4* основан на повышении экспрессии кальретикулина (CALR) – Ca^{2+} -связывающего белка, поддерживающего гомеостаз ER.

В период эмбрионального развития *PAX4* экспрессируется в предшественниках всех эндокринных клеток поджелудочной железы и абсолютно необходим для созревания β -клеток. С возрастом экспрессия *PAX4* снижается и сохраняется в субпопуляции β -клеток, составляющей 30% от их общей массы у взрослых мышей и 15% у старых животных [52]. У взрослых мышей субпопуляция β -клеток *PAX4*⁺ динамична и может увеличиваться в условиях повышенной потребности в инсулине при беременности

и СД. Высокая устойчивость к апоптозу клеток, сверхэкспрессирующих *PAX4*, и его способность активировать пролиферацию клеток, указывает на возможность использования этого белка в качестве активатора регенерации эндогенных β -клеток [53]. Гетерогенная популяция β -клеток содержит четыре подтипа β -клеток, которые отличаются профилями экспрессии генов и характеризуются разными уровнями базальной и стимулируемой глюкозой секреции инсулина [54]. Соотношение этих подтипов сильно изменяется при СД2.

Гетерогенность β -клеток может быть связана с наличием субпопуляций с разными функциональными возможностями, которые находятся на разных стадиях жизненного цикла [54]. Кроме того, при метаболическом стрессе и старении происходят дальнейшие изменения фенотипа β -клеток. Идентифицированы маркеры старения β -клеток, в частности *IGF1R*, экспрессия которого коррелирует с возрастом, дисфункцией клеток и экспрессией известных возрастных маркеров *p16ink4a* и *p53BP1*. Индукция резистентности к инсулину и хронический стресс ER также приводят к повышению экспрессии маркеров старения [55]. Обнаружено существование двух фенотипически разных субпопуляций β -клеток, отличающихся уровнем экспрессии инсулина: основная популяция, *INSHIGH*, с повышенным уровнем маркеров зрелых β -клеток, таких как *MAFA*, *NKX6.1*, *SLC2A2 (GLUT2)* и *GSK*, и популяция *INSLOW*, характеризующаяся повышенным уровнем пролиферации и экспрессии *PAX4*, *MAFB*, *NKX2.2*. Идентификация клеток по маркерам старения (*p16*, *p53BP1*, *IGF1R*) выявила более и менее зрелые β -клетки в пределах одного островка [55]. Менее зрелые клетки являются временными и динамичными, они способны переходить из незрелого состояния в зрелое. Относительное соотношение субпопуляций инсулинпродуцирующих клеток в панкреатических островках меняется с возрастом, а также в условиях метаболического стресса, что ведет к накоплению старых β -клеток одновременно со снижением их пролиферативной способности [56]. Это коррелирует с увеличением риска заболеваемости СД2 с возрастом. Кроме того, при определенных обстоятельствах островковые не- β -клетки могут трансдифференцироваться в β -клетки, способствуя восстановлению необходимой клеточной массы последних. В нескольких модельных системах показана возможность конверсии глюкагонпродуцирующих α -клеток в инсулинпродуцирующие β -клетки [57, 58]. Описана также способность конверсии в β -клетки и соматостатинпродуцирующих δ -клеток поджелудочной железы [59, 60]. Известны и другие источники клеток,

способные трансформироваться в β -подобные инсулинпродуцирующие клетки, например, экзокринные клетки поджелудочной железы [61] или соматостатинпродуцирующие клетки желудочно-кишечного тракта [62].

Суммируя полученные данные, можно сделать вывод, что для создания новых терапевтических подходов, эффективных при СД, необходимо выполнить несколько условий. Во-первых, нужно поддерживать гетерогенность популяции β -клеток с наличием в ней разных субпопуляций; во-вторых, требуется обеспечить сохранность внутренней пластичности, за счет которой будет осуществляться трансдифференцировка островковых не- β -клеток в β -клетки; и, в-третьих, необходимо иметь возможность использовать факторы, способствующие формированию полностью функционального фенотипа β -клеток для уменьшения процесса их дедифференцировки. В качестве одного из таких факторов рассматривается и фактор транскрипции PAX4 [63].

ПУТИ, РЕГУЛИРУЕМЫЕ PAX4, В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

В последнее десятилетие изучается возможность воздействия на регулируемые PAX4 сигнальные пути для создания новых подходов к лечению СД2. Существующие методы основаны на введении экзогенных аналогов инсулина или средств, которые стимулируют секрецию инсулина β -клетками, улучшают чувствительность периферических тканей к инсулину, способствуют выведению глюкозы или задерживают усвоение углеводов. Однако это паллиативные методы, они не предотвращают развитие опасных для жизни осложнений. Трансплантация инсулинпродуцирующих β -клеток может быть многообещающим подходом к длительному лечению СД2, однако применение этого метода сдерживается сложностью получения количества островков, достаточного для трансплантации. Поскольку PAX4 не только играет ключевую роль в развитии β -клеток поджелудочной железы, но и является фактором выживания инсулинпродуцирующих β -клеток, стимуляция экспрессии гена PAX4 и/или его мишеней может представлять интерес как способ эндогенного пополнения массы β -клеток, утраченной при СД2 [63].

Одним из таких способов может стать опосредованное транскрипционными факторами перепрограммирование экзокринной ткани поджелудочной железы человека. Экзокринные клетки можно эффективно перепрограммировать в островковые, используя комбинацию факторов транскрипции (PDX1, NGN3, MAFA

и PAX4) в сочетании с факторами роста [61]. Сверхэкспрессия экзогенного PAX4 с одновременным подавлением эндогенного фактора транскрипции ARX значительно усиливает продукцию функциональных, секретирующих инсулин β -подобных клеток с сопутствующей супрессией α -клеток [61]. PAX4 заметно повышает склонность PDX1-позитивных мезенхимальных стволовых клеток к образованию зрелых островковых кластеров и функциональных инсулинпродуцирующих β -подобных клеток [64]. Кроме того, описаны успешные попытки создания β -подобных инсулинпродуцирующих клеток с использованием генов MAFA, PAX4 и NGN3. Стволовые клетки, происходящие из островков поджелудочной железы, обрабатывали этими факторами транскрипции и исследовали влияние их эктопической экспрессии на эффективность дифференцировки. Оказалось, что эктопическая экспрессия MAFA и PAX4 приводила к повышению эффективности дифференцировки этих клеток в инсулинсекретирующие клетки [65]. Другие подходы к репрограммированию клеток для получения функциональных суррогатных β -клеток рассмотрены в обзоре [66]. В качестве альтернативного подхода к разработке новых методов терапии СД рассматривается поиск нижестоящих мишеней PAX4, потенциально поддающихся медикаментозному воздействию, а также путей регуляции, участвующих в процессах иммуномодуляции и регенерации [63].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 23-24-00581).

Работа выполнена без привлечения людей и животных в качестве объекта исследования.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Сазонова Д.В., Мокрышева Н.Г. (2023) Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010–2022 гг. *Сахарный диабет*. **26**, 104–123.
2. Lorenzo P.I., Juárez-Vicente F., Cobo-Vuilleumier N., García-Domínguez M., Gauthier B.R. (2017) Diabetes-linked transcription factor PAX4: from gene to functional consequences. *Genes (Basel)*. **8**(3), 101.
3. Napolitano T., Avolio F., Courtney M., Vieira A., Druelle N., Ben-Othman N., Hadzic B., Navarro S., Collombat P. (2015) Pax4 acts as a key player in pancreas development and plasticity. *Semin. Cell. Dev. Biol.* **44**, 107–114.

4. Ko J., Fonseca V.A., Wu H. (2023) Pax4 in health and diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 8283.
5. Gutjahr T., Vanario-Alonso C.E., Pick L., Noll M. (1994) Multiple regulatory elements direct the complex expression pattern of the *Drosophila* segmentation gene *paired*. *Mech. Dev.* **48**, 119–128.
6. Czerny T., Schaffner G., Busslinger M. (1993) DNA sequence recognition by Pax proteins: bipartite structure of the paired domain and its binding site. *Genes Dev.* **7**, 2048–2061.
7. Wang Q., Fang W.H., Krupinski J., Kumar S., Slevin M., Kumar P. (2008) Pax genes in embryogenesis and oncogenesis. *J. Cell. Mol. Med.* **12**, 2281–2294.
8. Sosa-Pineda B., Chowdhury K., Torres M., Oliver G., Gruss P. (1997) The *PAX4* gene is essential for differentiation of insulin-producing β cells in the mammalian pancreas. *Nature*. **386**, 399–402.
9. Smith S.B., Ee H.C., Connors J.R., German M.S. (2015) Paired-homeodomain transcription factor PAX4 acts as a transcriptional repressor in early pancreatic development. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 8272–8280.
10. Mayran A., Pelletier A., Drouin J. (2015) Pax factors in transcription and epigenetic remodelling. *Semin. Cell. Dev. Biol.* **44**, 135–144.
11. Maas R.L., Xu W., Pabo C.O., Xu H.E., Epstein J.A., Rould M.A. (2008) Crystal structure of the human *Pax6* paired domain-DNA complex reveals specific roles for the linker region and carboxy-terminal subdomain in DNA binding. *Genes Dev.* **13**, 1263–1275.
12. Jun S., Desplan C. (1996) Cooperative interactions between paired domain and homeodomain. *Development*. **112**, 2639–2650.
13. Fujitani Y., Kajimoto Y., Yasuda T., Matsuoka T.A., Kaneto H., Umayahara Y., Fujita N., Watada H., Miyazaki J.I., Yamasaki Y., Hori M. (1999) Identification of a portable repression domain and an E1A-responsive activation domain in Pax4: a possible role of Pax4 as a transcriptional repressor in the pancreas. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 8281–8291.
14. Tokuyama Y., Yagui K., Sakurai K., Hashimoto N., Saito Y., Kanatsuka A. (1998) Molecular cloning of rat *Pax4*: identification of four isoforms in rat insulinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **248**, 1153–1156.
15. Miyamoto T., Kakizawa T., Ichikawa K., Nishio S., Kajikawa S., Hashizume K. (2001) Expression of dominant negative form of PAX4 in human insulinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **282**, 34–40.
16. Smith S.B., Watada H., Scheel D.W., Mrejen C., German M.S. (2000) Autoregulation and maturity onset diabetes of the young transcription factors control the human *PAX4* promoter. *J. Biol. Chem.* **275**, 36910–36919.
17. Мельникова А.И., Краснова Т.С., Зубкова Н.А., Тюльпаков А.Н., Рубцов П.М. (2021) Альтернативные варианты фактора транскрипции PAX4 человека: сравнение транскрипционной активности. *Молекуляр. биология.* **54**, 849–857.
18. Shimajiri Y., Sanke T., Furuta H., Hanabusa T., Nakagawa T., Fujitani Y., Kajimoto Y., Takasu N., Nanjo K.A. (2001) Missense mutation of *PAX4* gene (R121W) is associated with type 2 diabetes in Japanese. *Diabetes*. **50**, 2864–2869.
19. Hu He K.H., Lorenzo P.I., Brun T., Jimenez Moreno C.M., Aeberhard D., Vallejo Ortega J., Cornu M., Thorel F., Gjinovci A., Thorens B., Herrera P.L., Meda P., Wollheim C.B., Gauthier B.R. (2011) *In vivo* conditional *Pax4* overexpression in mature islet β -cells prevents stress-induced hyperglycemia in mice. *Diabetes*. **60**, 1705–1715.
20. Зубкова Н.А., Гюева О.А., Петров В.М., Васильев Е.В., Тимофеев А.В., Аbruкова А.В., Тюльпаков А.Н. (2017) Наследственный вариант сахарного диабета, обусловленного дефектом гена *PAX4* (MODY9). – Первое описание в России. *Сахарный диабет.* **20**, 384–387.
21. Kooptiwut S., Plengvidhya N., Chukijrungrat T., Sujitjoo J. (2012) Defective PAX4 R192H transcriptional repressor activities associated with Maturity Onset Diabetes of the Young and Early Onset-Age of Type 2 Diabetes. *J. Diabetes Complications*. **26**, 343–347.
22. Sujitjoo J., Kooptiwut S., Chongjaroen N., Semprasert N., Hanchang W., Chanprasert K., Tangjitipokin W., Yenchitsomanus P.T., Plengvidhya N. (2016) PAX4 R192H and P321H polymorphisms in type 2 diabetes and their functional defects. *J. Hum. Genet.* **61**, 943–949.
23. Gao A., Gu B., Zhang J., Fang C., Su J., Li H., Han R., Ye L., Wang W., Ning G., Wang J., Gu W. (2021) Missense variants in *PAX4* are associated with early-onset diabetes in Chinese. *Diabetes Ther.* **12**, 289–300.
24. Plengvidhya N., Kooptiwut S., Songtawee N., Doi A., Furuta H., Nishi M., Nanjo K., Tantibhedhyangkul W., Boonyasrisawat W., Yenchitsomanus P.T., Doria A., Banchuin N. (2017) *PAX4* mutations in Thais with maturity-onset diabetes of the young. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **92**, 2821–2826.
25. Lee D.H., Kwak H., Park H.S., Ku E.J., Jeon H.J., Oh T.K. (2021) Identification of candidate gene variants of monogenic diabetes using targeted panel sequencing in early onset diabetes patients. *BMJ Open Diabetes Res. Care.* **9**, e002217.
26. Jo W., Endo M., Ishizu K., Nakamura A., Tajima T. (2011) A novel *PAX4* mutation in a Japanese patient with maturity-onset diabetes of the young. *Tohoku J. Exp. Med.* **223**, 113–118.
27. Sujitjoo J., Kooptiwut S., Chongjaroen N., Tangjitipokin W., Plengvidhya N., Yenchitsomanus P.T. (2016) Aberrant mRNA splicing of paired box 4 (*PAX4*) IVS7-1G>A mutation causing maturity-onset diabetes of the young, type 9. *Acta Diabetol.* **53**, 205–216.
28. Zhang D., Chen C., Yang W., Piao Y., Ren L., Sang Y. (2022) C.487C>T mutation in *PAX4* gene causes MODY9: a case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. **101**, e32461.

29. Cheung C.Y., Tang C.S., Xu A., Lee C.H., Au K.W., Xu L., Fong C.H., Kwok K.H., Chow W.S., Woo Y.C., Yuen M.M., Hai J.S., Jin Y.L., Cheung B.M., Tan K.C., Cherny S.S., Zhu F., Zhu T., Thomas G.N., Cheng K.K., Jiang C.Q., Lam T.H., Tse H.F., Sham P.C., Lam K.S. (2017) Exome-chip association analysis reveals an Asian-specific missense variant in *PAX4* associated with type 2 diabetes in Chinese individuals. *Diabetologia*. **60**, 107–115.
30. Glotov O.S., Serebryakova E.A., Turkunova M.E., Efimova O.A., Glotov A.S., Barbitoff Y.A., Nasykhova Y.A., Predeus A.V., Polev D.E., Fedyakov M.A., Polyakova I.V., Ivashchenko T.E., Shved N.Y., Shabanova E.S., Tiselko A.V., Romanova O.V., Sarana A.M., Pendina A.A., Scherbak S.G., Musina E.V., Petrovskaia-Kaminskaia A.V., Lonishin L.R., Ditkovskaya L.V., Zhelenina L.A., Tyrtova L.V., Berseneva O.S., Skitchenko R.K., Suspitsin E.N., Bashnina E.B., Baranov V.S. (2019) Whole-exome sequencing in Russian children with non-type 1 diabetes mellitus reveals a wide spectrum of genetic variants in MODY-related and unrelated genes. *Mol. Med. Rep.* **20**, 4905–4914.
31. Zubkova N., Burumkulova F., Plechanova M., Petrukhin V., Petrov V., Vasilyev E., Panov A., Sorkina E., Ulyatovskaya V., Makretskaya N., Tiulpakov A. (2019) High frequency of pathogenic and rare sequence variants in diabetes-related genes among Russian patients with diabetes in pregnancy. *Acta Diabetol.* **56**, 413–420.
32. Wang D.W., Yuan J., Yang F.Y., Qiu H.Y., Lu J., Yang J.K. (2022) Early-onset diabetes involving three consecutive generations had different clinical features from age-matched type 2 diabetes without a family history in China. *Endocrine*. **78**, 47–56.
33. Mauvais-Jarvis F., Smith S.B., Le May C., Leal S.M., Gautier J.F., Molokhia M., Riveline J.P., Rajan A.S., Kevorkian J.P., Zhang S., Vexiau P., German M.S., Vaisse C. (2004) (*PAX4*) gene variations predispose to ketosis-prone diabetes. *Hum. Mol. Genet.* **13**, 3151–3159.
34. Zhou G.H., Tao M., Wang Q., Chen X.Y., Liu J., Zhang L.L. (2023) Maturity-onset diabetes of the young type 9 or latent autoimmune diabetes in adults: a case report and review of literature. *World J. Diabetes*. **14**, 1137–1145.
35. Abreu G.M., Soares C., Tarantino R.M., Fonseca A.C.P., Souza R.B., Pereira M.F.C., Cabello P.H., Rodacki M., Zajdenverg L., Zembrzusi V.M., Campos Junior M. (2020) Identification of the first *PAX4*-MODY family reported in Brazil. *Diabetes Metab. Syndr. Obesity*. **13**, 2623–2631.
36. Kwak S.H., Jung C.H., Ahn C.H., Park J., Chae J., Jung H.S., Cho Y.M., Lee D.H., Kim J., Park K.S. (2016) Clinical whole exome sequencing in early onset diabetes patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **122**, 71–77.
37. Lau H.H., Krentz N.A.J., Abaitua F., Perez-Alcantara M., Chan J.W., Ajeian J., Ghosh S., Lee Y., Yang J., Thaman S., Champon B., Sun H., Jha A., Hoon S., Tan N.S., Gardner D.S., Kao S.L., Tai E.S., Gloyne A.L., Teo A.K.K. (2023) *PAX4* loss of function increases diabetes risk by altering human pancreatic endocrine cell development. *Nat. Commun.* **14**, 6119.
38. Pezzilli S., Ludovico O., Biagini T., Mercuri L., Alberico F., Lauricella E., Dallali H., Capocefalo D., Carella M., Miccinilli E., Piscitelli P., Scarale M.G., Mazza T., Trischitta V., Prudente S. (2018) Insights from molecular characterization of adult patients of families with multigenerational diabetes. *Diabetes*. **67**, 137–145.
39. Kamal M.M., Islam M.N., Rabby M.G., Zahid M.A., Hasan M.M. (2024) *In silico* functional and structural analysis of non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) in human *paired box 4* gene. *Biochem. Genet.* **62**, 2975–2998.
40. Billings L.K., Shi Z., Resurreccion W.K., Wang C.H., Wei J., Pollin T.I., Udler M.S., Xu J. (2022) Statistical evidence for high-penetrance MODY-causing genes in a large population-based cohort. *Endocrinol. Diabetes Metab.* **5**, e372.
41. Laver T.W., Wakeling M.N., Knox O., Colclough K., Wright C.F., Ellard S., Hattersley A.T., Weedon M.N., Patel K.A. (2022) Evaluation of evidence for pathogenicity demonstrates that *BLK*, *KLF11*, and *PAX4* should not be included in diagnostic testing for MODY. *Diabetes*. **71**, 1128–1136.
42. Lau H.H., Krentz N.A.J., Abaitua F., Perez-Alcantara M., Chan J.W., Ajeian J., Ghosh S., Lee Y., Yang J., Thaman S., Champon B., Sun H., Jha A., Hoon S., Tan N.S., Gardner D.S., Kao S.L., Tai E.S., Gloyne A.L., Teo A.K.K. (2023) *PAX4* loss of function increases diabetes risk by altering human pancreatic endocrine cell development. *Nat. Commun.* **14**(1), 6119.
43. Gage B.K., Asadi A., Baker R.K., Webber T.D., Wang R., Itoh M., Kieffer T.J. (2015) The role of *ARX* in human pancreatic endocrine specification. *PLoS One*. **10**(12), e0144100.
44. Collombat P., Hecksher-Sørensen J., Broccoli V., Krull J., Ponte I., Mundiger T., Mansouri A. (2005) The simultaneous loss of *Arx* and *Pax4* genes promotes a somatostatin-producing cell fate specification at the expense of the α - and β -cell lineages in the mouse endocrine pancreas. *Development*. **132**, 2969–2980.
45. Ravaut C., Courtney M., Gjernes E., Vieira A., Ben-Othman N., Pfeifer A., Collombat P. (2013) The inactivation of *Arx* in pancreatic α -cells triggers their neogenesis and conversion into functional β -like. *PLoS Genet.* **9**, 1–19.
46. Eto K., Nishimura W., Oishi H., Udagawa H., Kawaguchi M., Hiramoto M., Fujiwara T., Takahashi S., Yasuda K. (2014) *MafA* is required for postnatal proliferation of pancreatic β -cells. *PLoS One*. **9**(8), e104184.
47. Bonnavion R., Jaafar R., Kerr-Conte J., Assade F., van Stralen E., Leteurtre E., Pouponnot C., Gargani S., Pattou F., Bertolino P., Cordier-Bussat M., Lu J., Zhang C.X. (2013) Both *PAX4* and *MAFA* are expressed in a substantial proportion of normal human

- pancreatic alpha cells and deregulated in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*. **8**(8), e72194.
48. Brun T., Duhamel D.L., Hu He K.H., Wollheim C.B., Gauthier B.R. (2007) The transcription factor PAX4 acts as a survival gene in INS-1E insulinoma cells. *Oncogene*. **26**, 4261–4271.
 49. Lu J., Li G., Lan M. S., Zhang S., Fan W., Wang H., Lu D. (2007) Pax4 paired domain mediates direct protein transduction into mammalian cells. *Endocrinology*. **148**, 5558–5565.
 50. Rezende L.F., Stoppiglia L.F., Souza K.L., Negro A., Langone F., Boschero A.C. (2007) Ciliary neurotrophic factor promotes survival of neonatal rat islets via the BCL-2 anti-apoptotic pathway. *J. Endocrinol.* **195**, 157–165.
 51. Lee G., Jang H., Kim Y.Y., Choe S.S., Kong J., Hwang I., Park J., Im S.S., Kim J.B. (2019) SREBP1c-PAX4 axis mediates pancreatic β -cell compensatory responses upon metabolic stress. *Diabetes*. **68**, 81–94.
 52. Mellado-Gil J.M., Jiménez-Moreno C.M., Martín-Montalvo A., Alvarez-Mercado A.I., Fuente-Martín E., Cobo-Vuilleumier N., Lorenzo P.I., Brutarí E., Herrera-Gómez Ide G., López-Noriega L., Pérez-Florido J., Santoyo-López J., Spyranis A., Meda P., Boehm B.O., Quesada I., Gauthier B.R. (2016) PAX4 preserves endoplasmic reticulum integrity preventing beta cell degeneration in a mouse model of type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*. **59**, 755–765.
 53. Lorenzo P.I., Fuente-Martín E., Brun T., Cobo-Vuilleumier N., Jimenez-Moreno C.M., Herrera Gomez I.G., López Noriega L., Mellado-Gil J.M., Martín-Montalvo A., Soria B., Gauthier B.R. (2015) PAX4 defines an expandable β -cell subpopulation in the adult pancreatic islet. *Sci. Rep.* **5**, 1–14.
 54. Dorrell C., Schug J., Canaday P.S., Russ H.A., Tarlow B.D., Grompe M. T., Grompe M. (2016) Human islets contain four distinct subtypes of β -cells. *Nat. Commun.* **7**, 1–9.
 55. Aguayo-Mazzucato C., van Haaren M., Mruk M., Lee T.B. Jr., Crawford C., Hollister-Lock J., Sullivan B.A., Johnson J.W., Ebrahimi A., Dreyfuss J.M., Van Deursen J., Weir G.C., Bonner-Weir S. (2017) B-Cell aging markers have heterogeneous distribution and are induced by insulin resistance. *Cell. Metab.* **25**, 898–910.
 56. Katsuta H., Aguayo-Mazzucato C., Katsuta R., Akashi T., Hollister-Lock J., Sharma A.J., Bonner-Weir S., Weir G.C. (2012) Subpopulations of GFP-marked mouse pancreatic β -cells differ in size, granularity, and insulin secretion. *Endocrinology*. **153**, 5180–5187.
 57. Thorel F., Népote V., Avril I., Kohno K., Desgraz R., Chera S., Herrera P.L. (2010) Conversion of adult pancreatic α -cells to β -cells after extreme β -cell loss. *Nature*. **464**, 1149–1154.
 58. Zhang Y., Fava G.E., Wang H., Mauvais-Jarvis F., Fonseca V.A., Wu H. (2016) PAX4 gene transfer induces α - to β -cell phenotypic conversion and confers therapeutic benefits for diabetes treatment. *Mol. Ther.* **24**, 251–260.
 59. Chera S., Baronnier D., Ghila L., Cigliola V., Jensen J.N., Gu G., Herrera P.L. (2014) Diabetes recovery by age-dependent conversion of pancreatic δ -cells into insulin producers. *Nature*. **514**, 503–507.
 60. Druelle N., Vieira A., Shabro A., Courtney M., Mondin M., Rekima S., Collombat P. (2017) Ectopic expression of PAX4 in pancreatic δ cells results in β -like cell neogenesis. *J. Cell. Biol.* **216**, 4299–4311.
 61. Lima M.J., Muir K.R., Docherty H.M., McGowan N.W., Forbes S., Heremans Y., Heimberg H., Casey J., Docherty K. (2016) Generation of functional beta-like cells from human exocrine pancreas. *PLoS One*. **11**, e0156204.
 62. Garrido-Utrilla A., Ayachi C., Friano M.E., Atlija J., Balaji S., Napolitano T., Silvano S., Druelle N., Collombat P. (2022) Conversion of gastrointestinal somatostatin-expressing D cells into insulin-producing beta-like cells upon Pax4 misexpression. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **13**, 861922.
 63. Lorenzo P.I., Cobo-Vuilleumier N., Gauthier B.R. (2018) Therapeutic potential of pancreatic PAX4-regulated pathways in treating diabetes mellitus. *Curr. Opin. Pharmacol.* **43**, 1–10.
 64. Xu L., Xu C., Zhou S., Liu X., Wang J., Liu X., Tang X. (2017) PAX4 promotes PDX1-induced differentiation of mesenchymal stem cells into insulin-secreting cells. *Am. J. Transl. Res.* **9**, 874–886.
 65. Açıksarı A., Duruksu G., Karaöz E. (2017) Improved insulin-secreting properties of pancreatic islet mesenchymal stem cells by constitutive expression of Pax4 and MafA. *Turk. J. Biol.* **41**, 979–991.
 66. Kalo E., Read S., Ahlenstiel G. (2022) Reprogramming – evolving path to functional surrogate β -cells. *Cells*. **11**, 2813.

Transcription Factor PAX4: Role in Differentiation of Insulin Producing Beta Cells during Pancreas Development and Association with Diabetes

© 2025 A. I. Melnikova^{1, 2}, T. S. Krasnova¹, P. M. Rubtsov^{1, *}

¹Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

²Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, Moscow Region, 141701 Russia

*e-mail: rubtsov@eimb.ru

PAX4 (Paired Box 4) is a transcription factor that is expressed mainly in the pancreas and plays a key role in the development of insulin-producing β -cells at the embryonic stage, and in mature cells it is the main regulator of their adaptation under pathological conditions. The importance of this factor for the proper functioning of the pancreatic islets was demonstrated by studying the relationship between mutations in the *PAX4* gene and the development of diabetes mellitus. Overexpression of this factor in adult islets stimulates β -cell proliferation and resistance to apoptosis. Taken together, these data indicate that PAX4 may be a potential target in the development of new diabetes treatments aimed at reprogramming different cell types into insulin-producing cells and promoting their proliferation to replenish β -cell mass lost during disease progression. The development of such methods requires knowledge of the molecular mechanisms that control the expression of PAX4 and its target genes. This review summarizes data on the structure and expression of the human *PAX4* gene. The interaction of different transcription factors during the differentiation of pancreatic cells and the formation of islets of Langerhans and the role of PAX4 in these processes are described. The relationship between mutations in the human *PAX4* gene and the development of various forms of diabetes mellitus is examined. The final part of the review examines the prospects for reprogramming different types of cells into insulin-producing cells and influencing PAX4-regulated signaling pathways in the development of new approaches to the treatment of diabetes mellitus.

Keywords: PAX4 transcription factor, transcription regulation, diabetes mellitus, MODY monogenic diabetes, insulin-producing cells, regenerative medicine