

Conversion de cellules α pancréatiques en cellules β

Patrick Collombat, Ahmed Mansouri

> Le pancréas joue un rôle prépondérant dans le maintien de l'équilibre nutritionnel par la sécrétion d'enzymes et d'hormones. Cet organe est composé de trois types cellulaires majeurs : les cellules acinaires (sécrétant des enzymes digestifs), les cellules canalaire (formant un réseau de canaux assurant le transport des enzymes digestifs) et les cellules endocrines (produisant différentes hormones). Ces dernières sont organisées en îlots de cellules appelées îlots de Langerhans composés de 5 types cellulaires : α , β , δ , ϵ et PP, sécrétant respectivement les hormones glucagon, insuline, somatostatine, ghréline et PP (polypeptide pancréatique). Parmi ces hormones, l'insuline induit une diminution de la glycémie en cas d'excès de glucose sanguin, alors que le glucagon a un effet inverse en promouvant une augmentation de la glycémie dans l'éventualité d'une hypoglycémie. Notre groupe étudie le diabète de type I, une maladie touchant plus de vingt millions de personnes dans le monde et que caractérise la perte sélective des cellules β sécrétant l'hormone insuline. Il en résulte une hyperglycémie pouvant s'avérer létale malgré l'administration quotidienne d'insuline.

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la genèse des différents types cellulaires endocrines au cours du développement embryonnaire avec l'espoir de pouvoir appliquer ces connaissances à la génération de cellules β *in vitro* et/ou *in vivo*, nous nous sommes focalisés sur deux facteurs de transcription. Ces facteurs,

Arx (*aristaless related homeobox*) et *Pax4* (*paired box 4 gene*) jouent un rôle prépondérant durant la formation du pancréas endocrine, ce que nous avons démontré en générant puis analysant des souris mutantes pour chacun de ces facteurs. Les souris déficientes en *Arx* meurent d'une hypoglycémie causée par la perte des cellules α , celle-ci s'accompagnant d'une augmentation proportionnelle du nombre de cellules β et δ [1]. La situation inverse fut observée en cas de déficience en *Pax4* : la perte des cellules β et δ et un accroissement relatif du nombre de cellules α entraînent une hyperglycémie létale [2]. En outre, des expériences supplémentaires montrèrent que les protéines *Arx* et *Pax4*, bien que coexprimées précocement, inhibent mutuellement la transcription de leurs gènes [1, 3]. Notre conclusion fut la suivante : au cours du développement embryonnaire, *Arx* et *Pax4* sont initialement produites sous une forme inactive dans les cellules précurseurs des cellules endocrines. L'activation de l'un des facteurs (probablement par des signaux extrinsèques) conduit à l'extinction de l'autre : si *Pax4* prévaut, les destins cellulaires β et δ sont favorisés aux dépens de la formation des cellules α . Inversement, seules les cellules α se développent lorsque *Arx* prédomine.

Plasticité des cellules α et β des îlots de Langerhans

Afin de déterminer si les fonctions inductives de ces deux facteurs de transcription pouvaient aussi s'appliquer à des cellules endocrines différenciées et non

P. Collombat : Max-Planck Institute for Biophysical Chemistry, Department of Molecular Cell Biology, Am Fassberg, D-37077 Göttingen, Allemagne. Nouvelle adresse : Inserm U636, Équipe génétique du diabète, Faculté des sciences, 06108 Nice, France.
A. Mansouri : Max-Planck Institute for Biophysical Chemistry, Department of Molecular Cell Biology, Am Fassberg, D-37077 Göttingen, Allemagne. Department of Clinical Neurophysiology, University of Göttingen, Robert-Koch Strasse 40, D-37075 Göttingen, Allemagne.
collombat@unice.fr
amansou@gwdg.de

pas seulement à leurs précurseurs immatures, nous avons tout d'abord généré des souris transgéniques permettant l'expression conditionnelle et inducible du gène *Arx* dans des cellules β adultes [4]. En combinant cette approche avec une analyse du devenir de ces cellules, nous avons pu montrer que ces cellules β exprimant *Arx* de façon ectopique étaient littéralement converties en cellules présentant toutes les caractéristiques de cellules α ou PP. Ces résultats suggéraient donc que les cellules β sont en fait plus plastiques que nous ne l'avions pensé précédemment. Dans le cadre de la recherche sur le diabète de type I et du besoin associé de remplacer les cellules β perdues, nous nous sommes alors demandé si la conversion inverse (de cellules α en cellules β) pouvait être réalisée. Nous avons donc généré des souris dans lesquelles il est possible d'induire l'expression du gène *Pax4* spécifiquement dans les cellules α exprimant l'hormone glucagon (souris conditionnelles *Pax4Glu*) [5]. Les animaux les plus jeunes étaient initialement hypoglycémiques et devenaient



hyperglycémiques avec l'âge, ne survivant pas plus de douze semaines. En outre, une hyperplasie des cellules exprimant l'insuline fut aussi observée, les îlots de Langerhans de ces animaux Pax4Glu étant approximativement six fois plus volumineux que ceux des animaux sauvages. Une analyse approfondie de ces cellules exprimant l'hormone insuline indiqua qu'elles présentaient toutes les caractéristiques de cellules β normales et qu'elles dérivait toutes de cellules α .

Régénération de cellules α compensant la diminution du glucagon

La démonstration de la conversion des cellules α en cellules β ne suffisant pas à expliquer le surnombre de ces dernières, nous avons essayé d'en comprendre le mécanisme et la genèse. Notre étude révéla la présence continue de cellules exprimant l'hormone glucagon dans les îlots de Langerhans des souris Pax4Glu, ces cellules étant toujours détectées au voisinage de canaux pancréatiques. Les cellules α Pax4Glu ayant été « transdifférenciées » en cellules β sécrétant de l'insuline ne pouvaient pas être à l'origine de cette hyperplasie ; nous avons donc conclu que la régénération des cellules α faisait intervenir la prolifération d'une autre population de cellules qui se trouvaient dans un état de transition avant l'induction de Pax4 et leur transformation en cellules β . Plusieurs

modèles de souris transgéniques caractérisées par une hyperplasie des cellules α ont été décrits antérieurement, et leur dénominateur commun était une altération des voies de signalisation du glucagon induisant une augmentation compensatrice du nombre de cellules α . Nous étions dans une situation similaire, où la perte des cellules α provoquée par leur transformation en cellules β pouvait expliquer leur régénération. Pour le vérifier, nous avons traité nos souris Pax4Glu avec l'hormone glucagon durant trois semaines. De fait, le nombre de cellules β et donc la taille des îlots diminuèrent significativement indiquant que la déficience en glucagon provoquée par l'expression ectopique de Pax4 dans les cellules α et leur conversion en cellules β était le stimulus responsable de la régénération des cellules α . Ce cycle glucagon-dépendant de régénération/conversion semblait donc à l'origine de l'hyperplasie des cellules β observée dans nos animaux.

Réactivation de Ngn3 dans les cellules canalaire : source de nouvelles cellules α

Une hypothèse plausible impliquait les cellules canalaire : elles peuvent exprimer le gène *Ngn3*, normalement détectable exclusivement au cours du développement embryonnaire et responsable de la spécification vers le destin endocrine [6]. En effet, le groupe de

H. Heimberg a récemment observé la réactivation de ce gène dans les canaux pancréatiques de souris secondairement à leur ligature [7] et la conversion des cellules canalaire en cellules endocrines. En collaboration avec ce groupe, nous avons alors suivi le devenir des cellules canalaire dans le pancréas de nos souris Pax4Glu. Ce travail nous permis de démontrer la réactivation de *Ngn3* et de suggérer la conversion des cellules canalaire en cellules endocrines, un processus requérant l'expression de *Ngn3*. Reste à comprendre les mécanismes précis par lesquels le déficit en glucagon stimule l'expression de *Ngn3* dans les cellules canalaire, et leur spécification en cellules endocrines...

Une « transdifférenciation » fonctionnelle *in vivo*

Finalement, dans le but de vérifier si les cellules β induites dans les souris Pax4Glu étaient fonctionnelles, nous avons induit un diabète de type I chimique par l'injection de streptozotocine, un composé provoquant la destruction sélective des cellules β . Les souris contrôles soumises à un tel traitement, mais aussi les souris Pax4Glu âgées de plus de 4 semaines, décédèrent rapidement des conséquences d'une hyperglycémie. Il est important de noter que de plus amples analyses des souris Pax4Glu les plus vieilles montrèrent que celles-ci étaient déjà hyperglycémiques

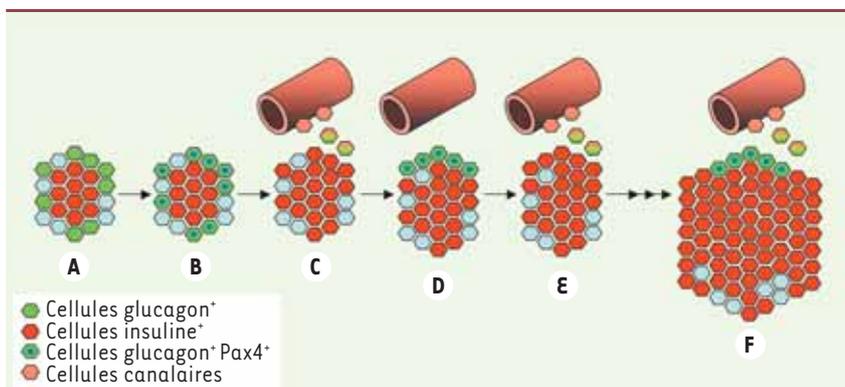


Figure 1. Conversion de cellules α pancréatiques en cellules β sécrétrices d'insuline.

L'expression forcée du gène Pax4 dans les cellules exprimant l'hormone glucagon (A-B) provoque la conversion de ces dernières en cellules β (C) et par la même une déficience en glucagon. Nos analyses suggèrent que cette déficience conduit à l'activation de mécanismes physiologiques de compensation résultant en la prolifération des cellules canalaire et leur conversion en cellules productrices de glucagon (C). Toutefois, celles-ci sont à nouveau converties en cellules β suite à l'activation de Pax4 (D-E). Ce cycle de néogenèse/redifférenciation (E-F) induit le développement d'îlots géants composés principalement de cellules présentant toutes les caractéristiques de cellules β (F). Notamment, ces cellules peuvent inverser les conséquences d'un diabète de type I induit chimiquement.



et affaiblies du fait d'une insensibilité à l'insuline et d'une intolérance au glucose très probablement provoquées par le nombre excessif de cellules β . Cependant, et de façon étonnante, les souris Pax4Glu les plus jeunes résistent : après une augmentation massive de la glycémie, un retour progressif à la normale fut mis en évidence. Des analyses détaillées indiquent qu'après la destruction des cellules β par la streptozotocine, une régénération de ces dernières était survenue, ces cellules dérivant toutes de cellules α .

« Conversion cellulaire », une stratégie d'avenir pour le traitement du diabète de type I ?

En résumé, nos découvertes les plus récentes indiquent que l'expression de Pax4 dans les cellules α induit leur conversion en cellules β (Figure 1). La déficience en glucagon qui en résulte induit la régénération continue des cellules α , celles-ci étant par la suite converties en cellules β . Nous montrons, en outre, qu'un tel cycle nécessite la ré-expression du gène *Ngn3* et que les cellules β ainsi générées sont capables de remplacer les cellules β de souris chez lesquelles un

diabète de type I était induit chimiquement, et par là même de traiter ce diabète. Ces résultats suggèrent donc que la modulation de Pax4, ou de l'une de ces cibles moléculaires pourrait représenter une nouvelle voie de recherche vers le traitement du diabète de type I, mais aussi contribuer à l'établissement de protocoles de différenciation de cellules β *in vitro* et/ou *in vivo*. ♦

Pax4 transdifférencie glucagon-sécrétant α cells to insulin-sécrétant β endocrine pancreatic cells

REMERCIEMENTS

Le travail des auteurs est aidé par des financements de la société Max-Planck, la fondation Dr H. Storz und Alte Leipziger, l'INSERM, le programme INSERM-Avenir, la Juvenile Diabetes Research foundation (26-2008-639), et le NIH Beta Cell Biology Consortium (U19 DK 072495-01).

RÉFÉRENCES

1. Collombat P, Mansouri A, Hecksher-Sorensen J, et al. Opposing actions of Arx and Pax4 in endocrine pancreas development. *Genes Dev* 2003; 17 : 2591-603.

2. Sosa-Pineda B, Chowdhury K, Torres M, et al. The Pax4 gene is essential for differentiation of insulin-producing beta cells in the mammalian pancreas. *Nature* 1997; 386 : 399-402.
3. Collombat P, Hecksher-Sorensen J, Broccoli V, et al. The simultaneous loss of Arx and Pax4 genes promotes a somatostatin-producing cell fate specification at the expense of the alpha- and beta-cell lineages in the mouse endocrine pancreas. *Development* 2005; 132 : 2969-80.
4. Collombat P, Hecksher-Sorensen J, Krull J, et al. Embryonic endocrine pancreas and mature β cells acquire α and PP cell phenotypes upon Arx misexpression. *J Clin Invest* 2007; 117 : 961-70.
5. Collombat P, Xu X, Ravassard P, et al. The ectopic expression of Pax4 in the mouse pancreas converts progenitor cells into alpha and subsequently beta cells. *Cell* 2009; 7 : 449-62.
6. Gradwohl G, Dierich A, LeMeur M, Guillemot F. Neurogenin3 is required for the development of the four endocrine cell lineages of the pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97 : 1607-11.
7. Xu X, Dhoker J, Stange G, et al. β cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell* 2008; 132 : 197-207.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

TIRÉS À PART

P. Collombat

Prix Allergan de la SFO 2009



Docteur Cédric Lamirel
lauréat du Prix 2009

Les laboratoires Allergan ont le plaisir de vous annoncer que le Prix Allergan de la SFO 2008 a été attribué cette année au **Dr Cédric Lamirel** (CHU d'Angers) pour un travail original intitulé « *Une vision du glaucome depuis l'aire corticale V5/hMT* ». Ce prix a été décerné pendant le congrès de la SFO, le mardi 12 mai 2009.

Le Prix Allergan de la SFO récompense, à hauteur de 5 000 €, un travail de recherche original pharmacologique, clinique, paraclinique ou thérapeutique réalisé par un ophtalmologiste dans le domaine du glaucome.

Comité scientifique 2009 : Professeurs Jean-Paul Renard (Hôpital Militaire du Val de Grâce - Paris), Jean-Philippe Nordmann (CHNO des Quinze-Vingts - Paris), Jean-François Rouland (Hôpital Huriez - CHRU de Lille), Philippe Denis (Hôpital Édouard Herriot - Lyon), Docteurs Éric Sellem (Centre Ophtalmologique Kléber - Lyon) et Philippe Lassalle (Laboratoire Allergan) sous la présidence du Dr Béatrice Cochener (CHU de

Brest), présidente de la Société Française d'Ophtalmologie.

Les laboratoires Allergan renouvellent ce Prix pour l'année 2010, qui sera remis pendant le 116^e Congrès de la SFO, en mai 2010. Les candidats devront soumettre leur dossier **avant le 1^{er} mars 2010**.

Pour tout renseignement complémentaire sur les modalités de candidature, merci de vous adresser directement au secrétariat du Prix au 04 92 92 44 76 ou à l'adresse Email suivante : lassalle_philippe@allergan.com



> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales



Chaque mois,
avec les articles de référence de M/S

Chaque jour,
sur www.medecinesciences.org



Médecine/Sciences

est indexé dans
PubMed/Medline

Current Contents, série Life Sciences
EMBASE/Excerpta Medica
PASCAL
CABS
BIOSIS

- > Des articles rédigés par des médecins et des chercheurs reconnus sur la scène internationale qui posent avec rigueur les bases des débats scientifiques.
- > Des synthèses, éditoriaux, dossiers techniques et analyses toujours replacés dans leur contexte pour que l'information soit la plus exacte, intelligible et objective.
- > La dimension humaine privilégiée, avec l'analyse des retombées diagnostiques, thérapeutiques, la prévention et l'éthique liées aux nouvelles avancées.

- > Un panorama clair et concis de l'actualité scientifique : des nouvelles, des brèves, des données chiffrées, des repères et perspectives pour qu'aucun fait significatif ne vous échappe.



Tarifs d'abonnement M/S - 2009 Mensuel - 10 numéros/an

Abonnez-vous à Médecine/Sciences

Mon règlement :

Par mail edk@edk.fr

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

Par fax en envoyant ce bulletin au 01 55 64 13 94

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

N°

Date d'expiration Signature :

N° de contrôle au dos de la carte

Par chèque à l'ordre de Médecine/Sciences, en envoyant ce bulletin à :

Éditions EDK

2, rue Troyon

92316 Sèvres Cedex, France

Pour recevoir une facture, cochez cette case

Je souhaite m'abonner à M/S :

Nom : Prénom :

Adresse :

Code postal Ville :

Pays :

E-mail-obligatoire :

Je choisis l'abonnement :

Particuliers

Papier +
Électronique

Électronique
seul

Papier

Institutions

Papier +
Électronique

Électronique
seul

Papier

Étudiants*

Électronique
seul

Papier

Enseignants*

Papier +
Électronique

Électronique
seul

Papier

France	<input type="checkbox"/> 178 €	<input type="checkbox"/> 118 €	<input type="checkbox"/> 168 €	<input type="checkbox"/> 397 €	<input type="checkbox"/> 235 €	<input type="checkbox"/> 387 €	<input type="checkbox"/> 90 €	<input type="checkbox"/> 62 €	<input type="checkbox"/> 80 €	<input type="checkbox"/> 118 €	<input type="checkbox"/> 86 €	<input type="checkbox"/> 90 €
UE + autres	<input type="checkbox"/> 226 €	<input type="checkbox"/> 118 €	<input type="checkbox"/> 216 €	<input type="checkbox"/> 482 €	<input type="checkbox"/> 235 €	<input type="checkbox"/> 472 €	<input type="checkbox"/> 118 €	<input type="checkbox"/> 62 €	<input type="checkbox"/> 108 €	<input type="checkbox"/> 178 €	<input type="checkbox"/> 86 €	<input type="checkbox"/> 168 €

* Joindre un justificatif