

tion directe, dirigée, rapide et massive remet ces notions au cœur des perspectives thérapeutiques les plus passionnantes. Pour réaliser ces rêves, il conviendra de trouver une alternative aux vecteurs viraux intégratifs, par exemple par l'usage d'adénovirus ou de protéines recombinantes. Il faudra également s'assurer que la transdifférenciation s'effectue dans la bonne direction, celle de l'organe à soigner et non d'un autre organe, voire en des cellules n'existant pas naturellement, sans quoi la réalisation de la plasticité cellulaire pourrait transformer le rêve de médecine régénérative en cauchemar de Kafka ! ♦

Induced transdifferentiation : revisiting cellular plasticity

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Coulombel L. Reprogrammation nucléaire d'une cellule différenciée : on efface tout et on recommence. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 667-70.
2. Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell* 2010 ; 142 : 375-86.
3. Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature* 2010 ; 463 : 1035-41.
4. Tapscott SJ, Davis RL, Thayer MJ, et al. MyoD1: a nuclear phosphoprotein requiring a Myc homology region to convert fibroblasts to myoblasts. *Science* 1988 ; 242 : 405-11.
5. Xie H, Ye M, Feng R, Graf T. Stepwise reprogramming of B cells into macrophages. *Cell* 2004 ; 117 : 663-76.
6. Masip M, Veiga A, Izpisua JC, Simon C. Reprogramming with defined factors: from induced pluripotency to induced transdifferentiation. *Mol Hum Reprod* 2010, sous presse
7. Zhou Q, Brown J, Kanarek A, et al. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells. *Nature* 2008 ; 455 : 627-32.
8. Collombat P, Mansouri A. Pax4 transdifferentiates glucagon-secreting alpha cells to insulin-secreting beta endocrine pancreatic cells. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 763-5.
9. Coulombel L. Cellules souches tissulaires adultes: seing is not being. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 683-94.

NOUVELLE

Génération de cellules β -pancréatiques par conversion spontanée de cellules α chez des souris diabétiques

Fabrizio Thorel, Pedro L. Herrera

Département de physiologie cellulaire et métabolisme, Faculté de médecine, Université de Genève, 1, rue Michel-Servet, CH 1211 Genève-4, Suisse. pedro.herrera@unige.ch

Fonctions endocrines et exocrines du pancréas

Le pancréas est une glande qui remplit deux fonctions métaboliques importantes. La première est la production, par les cellules acinaires pancréatiques, des enzymes digestives nécessaires à la dégradation des aliments. Ces enzymes sont excrétées et acheminées au travers d'un réseau de canaux jusqu'à l'intestin, où les aliments seront digérés et absorbés. Les cellules acinaires et canalaire constituent la partie exocrine du pancréas et représentent environ 99 % de toutes les cellules de cet organe.

La seconde fonction du pancréas est la synthèse des hormones responsables de la régulation de l'utilisation du sucre issu de la digestion des aliments et donc du contrôle de la glycémie (taux de sucre dans la circulation sanguine). Cette régulation permet de contrebalancer les épisodes d'hyperglycémie après

les prises alimentaires et d'augmenter la glycémie à la suite du jeûne. La production d'hormones est assurée par la partie endocrine du pancréas, qui est organisée en groupes de cellules appelés îlots de Langerhans. Ceux-ci ne représentent que 1 % du poids de l'organe. Les cellules α , β , δ et PP synthétisent, respectivement, le glucagon, l'insuline, la somatostatine et le polypeptide pancréatique. Elles constituent les différents types cellulaires endocriniens matures des îlots pancréatiques adultes [1].

Le besoin de nouvelles approches thérapeutiques anti-diabétiques

Les cellules β ont une grande longévité et, par conséquent, prolifèrent peu au cours de la vie d'un individu. Lors de circonstances où la demande en insuline est accrue, comme en cas d'obésité ou pendant la grossesse, la taille et le nombre des cellules β peuvent

augmenter, respectivement *via* une augmentation de la production d'insuline et la stimulation de la division cellulaire. Un déficit en cellules β , ou l'incapacité de celles-ci à produire suffisamment d'insuline, conduit à une augmentation soutenue de la glycémie se traduisant par une production élevée d'urine, c'est-à-dire un diabète. Dans le diabète de type 1, maladie auto-immune qui représente la forme la plus courante de la maladie chez l'enfant, les cellules β sont éliminées complètement par le système immunitaire. Par conséquent, ces patients doivent recevoir des injections quotidiennes d'insuline pendant toute leur vie. Cependant, cette stratégie thérapeutique ne permet pas un contrôle précis de la glycémie et n'évite pas les effets nocifs sur les vaisseaux sanguins qui peuvent conduire à l'insuffisance rénale, la cécité ou la gangrène. Ces complications justifient le déve-

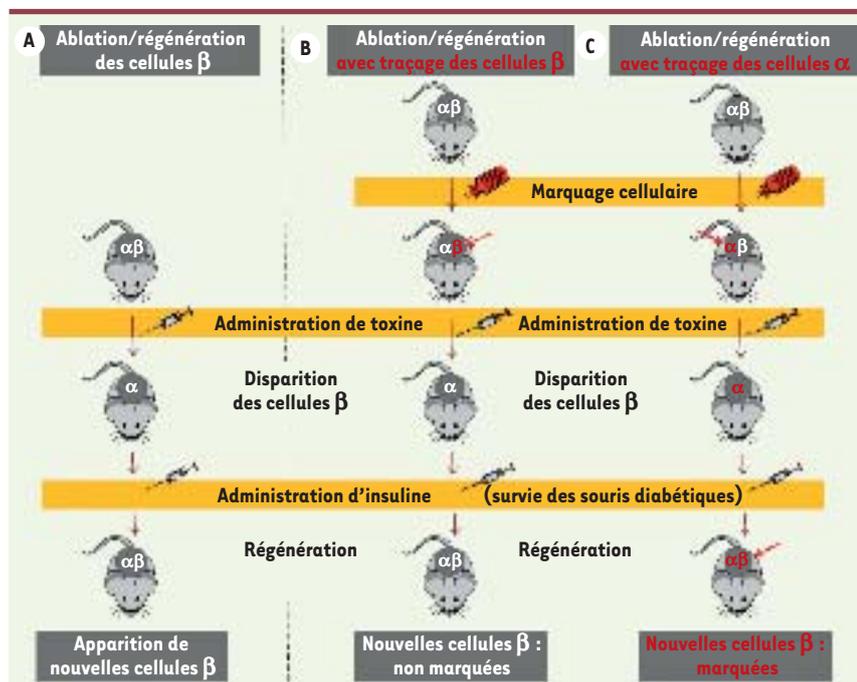


Figure 1. Un nouveau modèle murin de diabète de type 1. Les souris transgéniques expriment le récepteur de la toxine diphtérique à la surface des cellules β (transgène sous contrôle du promoteur de l'insuline). **A.** L'expression du DTR à la surface des cellules β les rend sensibles à la toxine diphtérique (DT). Lorsque la souris est traitée avec DT, l'ensemble des cellules β meurent. Les souris diabétiques maintenues en vie par un traitement à l'insuline régénèrent de nouvelles cellules β . **B.** Le marquage des cellules β préexistantes préalablement à l'ablation cellulaire montre que les cellules à insuline nouvellement formées ne dérivent pas de l'expansion des très rares cellules β ayant échappé à DT. **C.** Le marquage des cellules α exprimant le glucagon préalablement à l'ablation révèle, en revanche, que la majorité des nouvelles cellules β dérivent des cellules α (adapté à partir de <http://www.betacell.org>).

veloppement de nouveaux traitements, plus adaptés, dont des approches innovantes de médecine régénérative.

Dans ce contexte, notre laboratoire cherche depuis de nombreuses années à explorer si le pancréas adulte possède la capacité intrinsèque de générer de nouvelles cellules β après leur perte totale, c'est-à-dire dans une situation similaire à celle du diabète de type 1. Ceci impliquerait forcément que la formation de ces nouvelles cellules passe par des mécanismes autres que la prolifération des cellules β elles-mêmes. Pour explorer cette hypothèse, nous avons produit une souris transgénique chez laquelle on peut induire l'élimination sélective de quasiment toutes les cellules β , mais en l'absence de processus auto-immun. De cette façon nous avons pu étudier la régénération des cellules endocrines car, si de nouvelles cellules productrices d'insuline venaient à se différencier, elles ne seraient pas détruites par le système immunitaire [2].

Un nouveau modèle animal de diabète de type 1

Divers modèles expérimentaux de diabète de type 1 chez les rongeurs ont montré qu'une forte réduction (50 %-80 %) du nombre de cellules sécrétrices d'insuline induit une

augmentation du taux de prolifération des cellules β qui persistent [3]. Afin de déterminer si le pancréas est capable de générer de nouvelles cellules sécrétrices d'insuline lorsque celles-ci sont complètement détruites, et ce à partir d'une autre source cellulaire (non β), nous avons développé un nouveau modèle de souris diabétique chez laquelle plus de 99 % des cellules β peuvent être éliminées [2]. Ceci a été possible grâce à l'expression par transgénèse du récepteur humain de la toxine diphtérique (DTR) à la surface des cellules β . Alors que l'administration de toxine diphtérique (DT) n'a aucun effet sur les souris normales puisqu'elles n'ont pas le récepteur DTR (souris DTR-), elle induit la mort de la quasi-totalité des cellules β présentes chez les souris transgéniques (DTR+). Les souris DTR+ traitées par la DT deviennent rapidement hyperglycémiques, développent tous les symptômes liés au diabète, et meurent en peu de temps si elles ne sont pas traitées avec de l'insuline.

Mécanismes de la régénération des cellules β

En réponse à l'élimination de la quasi-totalité des cellules β , nous avons

constaté que de nouvelles cellules productrices d'insuline apparaissent progressivement dans les îlots des souris DTR+ (Figure 1A). Étonnamment, certaines de ces cellules contenaient simultanément de l'insuline et du glucagon. De telles cellules « hybrides » ou bi-hormonales ne sont jamais observées dans le pancréas adulte sain. Par ailleurs, chez toutes ces souris DTR+ rendues diabétiques, on constatait une amélioration du contrôle glycémique après quelques mois, contemporaine de la capacité de restauration des cellules à insuline. De fait, toutes les souris DTR+ montraient des signes évidents de régénération cellulaire. Ainsi, le pancréas adulte possède la faculté de générer de nouvelles cellules à insuline après la disparition complète de celles-ci.

Nous avons ensuite réalisé des expériences de traçage des lignages cellulaires pancréatiques afin de déterminer l'origine des nouvelles cellules sécrétrices d'insuline observées après traitement par la DT. Le marquage irréversible des cellules β à l'aide d'un traceur fluorescent avant leur destruction a montré que les cellules β néoformées ne dérivent pas de l'expansion des très

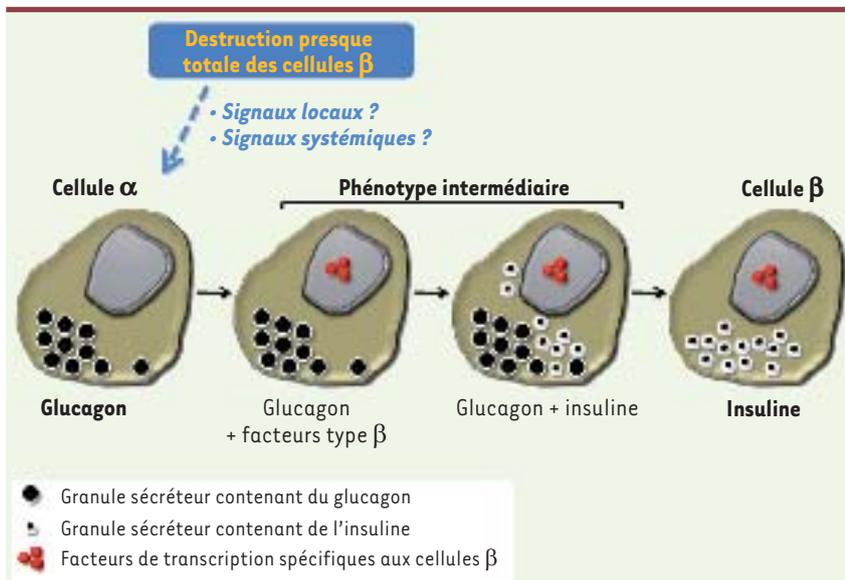


Figure 2. Reprogrammation des cellules pancréatiques endocrines α vers β . Séquence proposée de conversion sans dédifférenciation et sans prolifération, selon les analyses de traçage cellulaire et de coexpression de marqueurs sélectifs des cellules α et β . La perte massive des cellules β pourrait influencer les cellules α de façon directe (locale), ou indirecte (systémique), ou des deux façons simultanément. Nos observations non publiées suggèrent que dans les cellules bi-hormonales les deux hormones sont stockées dans des granules différents.

rare cellules β ayant échappé à la mort induite par la toxine (Figure 1B). En revanche, le traçage des cellules α a révélé sans équivoque que ces dernières étaient à l'origine non seulement des cellules « bi-hormonales », c'est-à-dire exprimant le glucagon et l'insuline, mais aussi de la plupart des cellules contenant uniquement de l'insuline (Figure 1C). Au cours de ce processus de régénération, les cellules α expriment, en plus de l'insuline, une multitude de facteurs connus pour être indispensables au bon fonctionnement des cellules β . Citons le transporteur Glut2 permettant l'entrée du glucose dans les cellules et des facteurs de transcription, tels que Pdx1 et Nkx6.1, nécessaires à la production et au contrôle de la sécrétion d'insuline.

Ainsi, une fraction des cellules α change spontanément d'identité cellulaire après la destruction des cellules β préexistantes, afin de pallier le manque d'insuline. Au cours de ce processus de reprogrammation cellulaire, les cellules α démarrent un programme génétique conduisant à la production d'insuline et engendrant une population de cellules bi-hormonales. Cette nouvelle entité cellulaire dont le phénotype est intermédiaire ou hybride, à mi-chemin entre une cellule α et β , semble poursuivre sa métamorphose afin d'acquérir, à terme, l'ensem-

ble des caractéristiques fonctionnelles des cellules β originelles (Figure 2).

Exploiter la plasticité cellulaire à des fins thérapeutiques ?

La conversion d'un type cellulaire adulte en un autre différent, aussi appelée transdifférenciation ou reprogrammation cellulaire, est un phénomène très rare et mal compris, à peine décrit *in vivo* [4] (→). La transdifférenciation de cellules acinaires adultes en cellules productrices d'insuline, induite par la surexpression combinée des facteurs Pdx1, Ngn3 et MafA, en est un exemple dans le pancréas [5]. En revanche, alors que l'expression constitutive forcée du facteur de transcription Pax4 convertit artificiellement les cellules α embryonnaires en cellules productrices d'insuline, comme cela a été récemment démontré [6] et rapporté dans ces colonnes [7], nos résultats montrent qu'une conversion spontanée de cellules α adultes survient en réponse à une perte extrême de cellules β . Dans ce contexte d'ablation cellulaire, les rares cellules β épargnées ne semblent pas contribuer à la formation de nouvelles cellules à insuline; celles-ci dérivent en effet pour la plupart, mais pas exclusivement, de la conversion de cellules α . D'autres sources cellulaires, non

encore identifiées, seraient donc également « réquisitionnées » par le pancréas pour compenser le déficit en cellules β . Des expériences additionnelles de traçage cellulaire sont nécessaires pour déterminer si d'autres cellules insulaires (δ ou PP) ou exocrines (acinaires ou canalaire) sont aussi susceptibles de se transdifférencier en cellules productrices d'insuline dans ces circonstances.

Nos observations indiquent que, dans une situation proche du diabète de type 1 mais en l'absence de réaction auto-immune, le pancréas adulte possède la capacité de générer de nouvelles cellules à insuline à partir de cellules non- β . Ce degré de plasticité cellulaire confère au pancréas adulte des propriétés régénératives intrinsèques jusqu'alors méconnues, qui pourraient être exploitées pour développer de nouvelles thérapies contre le diabète. Par exemple, ces résultats chez la souris suggèrent que si l'on arrivait à endiguer la réaction auto-immunitaire chez les personnes atteintes de diabète de type 1, le pancréas pourrait peut-être générer naturellement quelques cellules productrices d'insuline. La compréhension des diverses voies de signalisation et des événements moléculaires impliqués dans ce processus de régénération devrait nous permettre d'agir sur ces mécanismes afin de les



améliorer. Ces connaissances devraient également être utiles pour produire de nouvelles cellules à insuline en culture à partir de cellules pancréatiques adultes issues du patient, ou de cellules pluripotentes induites (iPS), dans une perspective de thérapie cellulaire.

La possibilité de régénérer ne serait-ce que quelques nouvelles cellules β permettrait d'améliorer la qualité de vie des patients diabétiques en les soustrayant aux complications liées à un contrôle imparfait de la glycémie. \diamond

Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells

REMERCIEMENTS

Nous remercions Delphine Baronnier pour ses commentaires sur le manuscrit. Le travail résumé dans cet article a été réalisé avec le financement de la Juvenile Diabetes Research Foundation, le Beta Cell Biology Consortium du NIH/NIDDK, et le Fonds national suisse de la recherche scientifique.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Orci L. Macro- and micro-domains in the endocrine pancreas. *Diabetes* 1982 ; 31 : 538-65.
2. Thorel F, Népote V, Avril I, et al. Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells after extreme beta-cell loss. *Nature* 2010 ; 464 : 1149-54.
3. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004 ; 429 : 41-6.
4. Zhou Q, Melton DA. Extreme makeover: converting one cell into another. *Cell Stem Cell* 2008 ; 3 : 382-8.
5. Zhou Q, Brown J, Kanarek A, et al. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells. *Nature*, 2008 ; 455 : 627-32.
6. 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 ; 138 : 449-62.
7. Collombat P, Mansouri A. Conversion de cellules alpha pancréatiques en cellules bêta. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 763-5.

NOUVELLE

Le typage transcriptomique en transplantation rénale : caractérisation de l'état du greffon

Maud Racapé, Jean-Paul Soullillou, Sophie Brouard

Inserm UMR 643,
Centre hospitalier universitaire,
Institut de transplantation
et de recherche en transplantation, 44 093 Nantes,
et Université de Nantes, Faculté de médecine,
44 000 Nantes, France.
maud.racape@univ-nantes.fr

> Un objectif majeur en transplantation est d'induire chez les patients une tolérance du greffon en s'affranchissant des traitements immunosuppresseurs, responsables à long terme d'infections opportunistes [1], de désordres lymphoprolifératifs post-transplantation [2] ou de néphrotoxicité [3]. Alors que cette tolérance peut être induite relativement facilement dans différents modèles animaux [4], cet objectif semble beaucoup plus difficile à atteindre chez le primate non humain et chez l'homme [5]. Toutefois, des cas de tolérance existent en clinique, puisque 30 % des patients ayant reçu une transplantation de foie tolèrent le greffon après arrêt des traitements immunosuppresseurs [6]. Ce phénomène est aussi décrit en transplantation rénale, bien que certainement plus rare [7, 8]. La caractérisation par typage pangénomique d'échantillons (sang, urine, biopsie) provenant de ces patients peut aider à

définir de nouveaux biomarqueurs pronostiques ou diagnostiques d'un état de tolérance. Elle a pour but d'identifier, parmi les patients sous traitement immunosuppresseur, ceux qui présentent ce profil de tolérance (ou à faible risque de rejet) et chez lesquels on pourrait envisager une diminution, voire un sevrage, de leur traitement immunosuppresseur [9]. Dans ce même objectif, le typage pangénomique des patients présentant des signes de rejet [10, 11] peut permettre d'ajouter une information supplémentaire sur l'état pathologique du greffon par rapport à des critères d'évaluation déjà existants tels que les définit la classification de Banff¹ [12]. Ceci pourrait

¹ La classification de Banff a été publiée en 1993, et remaniée à plusieurs reprises par la suite. Son but est de standardiser les paramètres morphologiques et cliniques qui établissent l'échelle de gravité d'un rejet, de façon à uniformiser les données publiées et permettre ainsi une collaboration internationale, en particulier dans le domaine des essais multicentriques de nouveaux immunosuppresseurs.

permettre d'identifier de nouveaux gènes, ou associations de gènes, caractérisant le rejet du greffon et ainsi définir la notion de risque chez des patients présentant une fonction stable de leur greffon sous traitement immunosuppresseur [13]. Ces études peuvent également aider à la compréhension des mécanismes de survie du greffon à long terme.

Les lymphocytes B : acteurs dans la tolérance au greffon

Des premiers travaux, menés par notre équipe en 2007, ont permis de mettre en évidence un groupe de 49 gènes spécifiques de l'état de tolérance opérationnelle [14]. Récemment, deux autres études collaboratives entre le réseau américain *Immune tolerance network* (ITN) [15] et le consortium européen *Indice of tolerance* (IOT) [16] ont également été publiées. Elles définissent des signatures moléculaires de la tolérance