

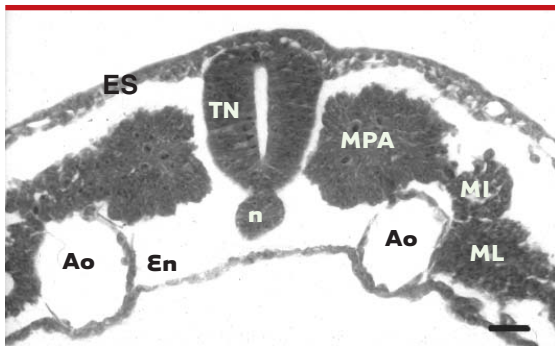
## La différenciation de l'endoderme : un nouveau rôle pour les cellules endothéliales

Martin Catala

Laboratoire d'Histologie et Embryologie et UMR Cnrs 7000, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Université Paris 6, 105, boulevard de l'Hôpital, 75634 Paris Cedex 13, France.

> Chez les vertébrés, à l'issue de la gastrulation et de la neurulation, l'embryon est organisé en grands feuilletts primordiaux (Figure 1). Le feuillet le plus ventral est l'endoderme qui donne naissance à l'épithélium de surface des muqueuses digestive et respiratoire ainsi qu'à l'épithélium glandulaire de nombreuses glandes annexées à ces tractus. Le feuillet intermédiaire ou mésoderme est organisé en domaines orientés selon l'axe médio-latéral. Le domaine axial est matérialisé par la notochorde et la plaque préchordale, le domaine para-axial est constitué des mésodermes somitique et céphalique, le domaine

intermédiaire de la pièce intermédiaire et, enfin, le domaine latéral des lames latérales (somatopleure dorsale et splanchnopleure ventrale). Le feuillet le plus dorsal est l'ectoderme subdivisé en deux domaines : le domaine latéral forme l'ectoderme de surface, précurseur de l'épiderme, alors que le domaine médian forme la plaque neurale puis le tube neural qui donne naissance au système nerveux central. Il faut noter que, lors des mouvements de la délimitation, la splanchnopleure s'associe à l'endoderme et donne naissance aux différentes tuniques de la muqueuse digestive à l'exception de l'épithélium de revêtement.



**Figure 1. Coupe transversale d'un embryon de poulet (stade 10 somites) à l'issue de la neurulation.** L'embryon se présente sous forme de trois feuilletts primordiaux. Le feuillet le plus ventral est l'endoderme (En). Le feuillet intermédiaire est le mésoderme avec ses différents domaines : notochorde (n), mésoderme para-axial (MPA), pièce intermédiaire (MI), mésoderme latéral (ML). Les aortes (Ao) se situent entre le mésoderme et l'endoderme. Le feuillet le plus dorsal est constitué de l'ectoderme de surface (ES) et du tube neural (TN). Coloration : crésyl violet. Barre = 20 µm.

Par ailleurs, les cellules endothéliales des futurs vaisseaux sanguins de l'embryon dérivent du mésoderme.

Le développement de l'endoderme est assez mal compris. Toutefois, il est établi que certains tissus agissent comme des inducteurs de la différenciation endodermique. Ainsi, si on greffe isolément de l'endoderme dans le coelome embryonnaire, celui-ci survit mal et ne se différencie pas. En revanche, si on associe endoderme et notochorde, les cellules endodermiques survivent mieux et peuvent se différencier en cellules entéro-

chromaffines (Figure 2) [1]. La notochorde est capable d'induire l'expression du gène *Pdx1* [2] codant pour un facteur de transcription à homéodomaine, marqueur de la région duodéno-pancréatique, impliqué dans les étapes précoces de l'organogenèse pancréatique. En revanche, la notochorde seule n'est pas suffisante pour induire l'expression du gène codant pour l'insuline [2]. La splanchnopleure contrôle la cytodifférenciation régionale de l'endoderme. Ainsi, l'association de mésenchyme du proventricule, une des régions du tube digestif aviaire, à de l'endoderme de gésier chez l'embryon de poulet conduit à la formation de glandes proventriculaires par l'endoderme [3].

Un nouveau rôle des cellules endothéliales vient d'être mis en évidence sur le développement et la différenciation de l'endoderme. Il est possible de cultiver *in vitro* de l'endoderme de souris et de suivre sa différenciation. Si on procède à des co-cultures de l'endoderme murin provenant de l'intestin antérieur ou moyen avec des cellules endothéliales, on induit l'expression d'insuline [2] (Figure 2). En revanche, en l'absence de cellules endothéliales, il n'y a jamais d'expression d'insuline. Chez l'amphibien *Xenopus laevis*, il est possible de réaliser une ablation des précurseurs de l'aorte embryonnaire en extirpant les cellules de la pièce intermédiaire qui donnent naissance au pronéphros. Cette ablation des

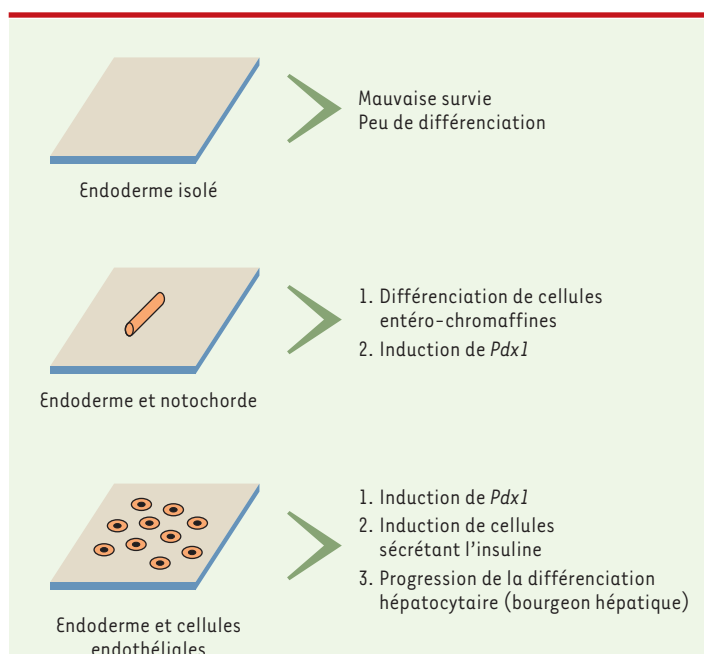
précurseurs de l'aorte conduit à l'absence de différenciation des cellules sécrétant l'insuline [2]. Dans la mesure où le pronéphros est aussi manquant dans cette expérience, le rôle propre de l'ablation de la pièce intermédiaire se pose. En fait, dans certains cas, l'aorte se régénère même en l'absence de pronéphros. Dans ce cas de régénérescence, des cellules sécrétant de l'insuline se différencient en l'absence de pronéphros. Ainsi, l'induction de la différenciation de cellules sécrétant de l'insuline dépend donc des cellules endothéliales et non pas des cellules pronéphrotiques. Le mutant murin *flk1<sup>-/-</sup>*, dépourvu du gène codant pour le récepteur 2 du VEGF (*vascular endothelial growth factor*), n'a pas de cellules endothéliales [4]. L'analyse précise du développement du bourgeon hépatique chez le mutant homozygote montre que la spécification des cellules endodermiques de cette région est normale avec une expression normale de marqueurs tels que l'albumine, la transthyréline ou le gène *Hex* à E9 (9<sup>e</sup> jour embryonnaire) [5]. En revanche, à E9,5, les cellules hépatiques ne prolifèrent pas, contrairement à celles des souris sauvages ou du mutant hétérozygote. Si on cultive des explants, il est possible de vérifier que les cellules endodermiques

du bourgeon hépatique du mutant homozygote sont capables de se différencier si la vascularisation est normale, montrant bien que l'anomalie réside donc au niveau des cellules endothéliales dans ce modèle génétique. Enfin, si on inhibe l'angiogenèse d'explants hépatiques issus d'embryons de souris normaux en utilisant le NK4 (puissant agent pharmacologique anti-angiogénique), on perturbe la différenciation normale des cellules hépatocytaires [5]. Tous ces résultats montrent que les cellules endothéliales sont potentiellement impliquées dans le contrôle de la différenciation endodermique. Une question importante à résoudre est de démontrer que des cellules endothéliales sont bien présentes à ces stades de développement chez l'embryon normal. En utilisant le marqueur de surface PECAM (*platelet endothelial cell adhesion molecule* ou CD31), il est possible de

telles cellules autour du futur épithélium hépatique dès E8,5 chez la souris mais aussi dans le mésenchyme du poumon, du pancréas ou autour des glandes gastriques [5]. Des souris transgéniques chez lesquelles le VEGF164 (co-exprimé avec le marqueur eGFP pour *enhanced green fluorescent protein*) est mis sous le contrôle du promoteur du gène *Pdx1* présentent une augmentation de la vascularisation au niveau de l'ébauche pancréatique. Il en résulte une hyperplasie des composants endocrines (îlots de Langerhans) et une réduction des acinus exocrines [2]. De plus, comme *Pdx1* est exprimé précocement au niveau de l'ébauche gastrique, on observe une expression d'insuline par des cellules de l'épithélium gastrique, montrant la différenciation endocrine de cette population.

Tous ces travaux se situent dans le prolongement des études expérimentales réalisées par Nicole Le Douarin lors de sa thèse [6]. En effet, elle avait montré que le mésoderme cardiaque donne naissance

1. Wiertz-Hoessels EL, Hara K, Hekking JW, van Straaten HW, Thors F, Drukker J. Differentiation of gut endoderm in dependence of the notochord. *Anat Embryol* 1987 ; 176 : 337-43.
2. Lammert E, Cleaver O, Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels. *Science* 2001 ; 294 : 564-7. 10.1126/science.1064344.
3. Sigot M. Sur le rôle du mésenchyme dans la différenciation des glandes du proventricule chez le poulet. *CR Acad Sci (Paris)* 1962 ; 254 : 2439-41.
4. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in *Flk-1* deficient mice. *Nature* 1995 ; 376 : 62-6.
5. Matsumoto K, Yoshitomi H, Rossant J, Zaret KS. Liver organogenesis promoted by endothelial cells prior to vascular function. *Science* 2001 ; 294 : 559-63.
6. Le Douarin N. Étude expérimentale de l'organogenèse du tube digestif et du foie chez l'embryon de poulet. I. Étude expérimentale de l'organogenèse du tube digestif. II. Étude expérimentale de l'organogenèse hépatique. *Bull Biol France Belgique* 1964 ; 48 : 543-676.



**Figure 2. Interactions tissulaires impliquées dans la différenciation endodermique.** Si de l'endoderme est cultivé seul, il survit mal et ne se différencie pas. En présence de notochorde, il exprime le gène *Pdx1*, marqueur de la région pancréato-duodénale et forme des cellules entéro-chromaffines. En présence de cellules endothéliales, il exprime le gène *Pdx1* et le gène codant pour l'insuline. Par ailleurs, les cellules endothéliales permettent la poursuite de la prolifération cellulaire du bourgeon hépatique.



ce au mésenchyme hépatique et qu'il joue un rôle majeur dans l'induction de la différenciation hépatocytaire. On peut donc désormais étendre ces observations et proposer que les cellules endothéliales provenant du mésoderme cardiaque jouent un tel rôle. De plus, les cellules endothéliales jouent un rôle

inducteur beaucoup plus général dans de nombreux systèmes d'origine endodermique. On peut aussi se demander si un tel rôle trophique des cellules endothéliales ne concerne pas des organes provenant d'autres feuillettes embryonnaires. Les données cellulaires présentées ci-dessus sont importantes et on peut pen-

ser que, dans un avenir assez proche, les études porteront sur la caractérisation des différents signaux et sur l'identification des molécules impliquées dans l'induction, par les cellules endothéliales, de la différenciation de l'endoderme. ♦

**Endoderm differentiation under the control of endothelial cells ?**

## NOUVELLE

### La kinase FRAP/mTOR : une nouvelle cible dans le traitement des cancers dépendants de la voie PI3-kinase/PTEN

Catherine Greenland, Georges Delsol, Bernard Payraсте

C. Greenland, G. Delsol :  
UPR 2163 Cnrs.  
B. Payraсте :  
Inserm U326,  
Hôpital Purpan,  
31059 Toulouse, France.

amplification du gène codant pour une PI 3-kinase de classe IA, ou à une surexpression et une activation de cette lipide kinase [5,6]. Aucune mutation activatrice de PI3-kinase n'a encore été rapportée dans des cancers humains. Toutefois, l'oncogène rétroviral v-p3k, un

► Une série d'articles récents [1-4] suggère qu'une cellule cancéreuse peut devenir très dépendante d'une voie de signalisation qui s'est hiérarchiquement imposée au cours des processus d'installation et de progression tumorales. L'exemple illustré dans ces travaux concerne des cellules tumorales présentant une sur-activation de la voie phospho-inositide 3-kinase (PI3-kinase) conduisant à la stimulation de mTOR, une protéine kinase impliquée dans le contrôle de la traduction des ARN messagers. Ces cellules deviennent extrêmement sensibles aux inhibiteurs de mTOR (rapamycine ou CCI-779) qui, utilisés à faible dose, conduisent à une réduction spécifique de la taille des tumeurs en bloquant la prolifération et en affectant la taille des cellules cancéreuses.

#### PI3-kinases et cancer

Les PI3-kinases sont une famille d'enzymes qui synthétisent des seconds messagers lipidiques, les D3-phospho-inositides. Ces phospho-inositides jouent un rôle majeur dans la régulation de plu-

sieurs réponses cellulaires, notamment la prolifération et la survie [5-7]. En se liant spécifiquement à des domaines protéiques fonctionnels (domaines PH, *pleckstrin homology*, FYVE ou PhoX), les D3-phospho-inositides permettent l'ancrage membranaire de protéines cytosoliques, organisant ainsi de manière spatio-temporelle l'activation de grandes voies de signalisation intracellulaire [5,7]. Le taux de ces seconds messagers lipidiques est strictement contrôlé par l'équilibre entre des PI 3-kinases qui les synthétisent et des phosphatases qui les hydrolysent de façon spécifique [7]. Or, plusieurs enzymes du métabolisme des D3-phospho-inositides, notamment les PI3-kinases de classe IA, sont impliquées dans des pathologies humaines [6], et notamment le développement de cancers [5,6]. Elles interviennent en tant qu'intermédiaires dans la transmission de signaux mitogéniques et de survie, mais sont aussi indispensables à l'effet transformant de plusieurs oncogènes à activité tyrosine kinase [5,6]. Certaines tumeurs humaines sont associées à une

orthologue actif de la PI3-kinase de classe IA, a été isolé du *sarcoma virus* aviaire ASV16 qui induit des hémangiosarcomes chez le poulet [5,6]. Plusieurs enzymes stimulées en aval de la PI3-kinase, notamment le proto-oncogène Akt, sont également surexprimées et/ou activées dans divers types de cancers humains [5,6]. Les PI 3-kinases de classe IA ou des protéines activées en aval pourraient donc être des cibles dans le traitement d'un certain nombre de cancers [6].

Une alternative pour activer les voies dépendantes des PI3-kinases est d'empêcher la dégradation des seconds messagers lipidiques produits par cette enzyme, notamment le phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate (PtdIns[3,4,5]P<sub>3</sub>) et le phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate (PtdIns[3,4]P<sub>2</sub>). Le gène *PTEN*, considéré comme un suppresseur de tumeur, code pour une enzyme à activité protéine tyrosine phosphatase et lipide phosphatase. *PTEN* est en quelque sorte une « anti-PI3-kinase » puisqu'elle est capable d'hydrolyser le phosphate en position 3 du PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> et du PtdIns(3,4)P<sub>2</sub>, une