

région régulatrice partagée par *PARK2* et *PACRG* comme des facteurs de risque universels pour la lèpre *per se*. Enfin, nous avons montré que ces deux gènes sont exprimés dans les macrophages et les cellules de Schwann qui sont les principales cellules cibles de *M. leprae*, ce qui conforte les résultats de l'épidémiologie génétique. Fonctionnellement, les deux gènes sont impliqués dans l'une des cascades majeures de dégradation des protéines cellulaires, la cascade d'ubiquitinylation-protéolyse. Grâce à son activité E3 ubiquitine-ligase, *PARK2* reconnaît des substrats spécifiques et induit leur polyubiquitinylation qui est un signal de ciblage vers la voie de dégradation par le protéasome [9]. Ainsi, des mutations dans *PARK2* sont responsables de la forme juvénile de maladie de Parkinson, probablement par accumulation de substrats de *PARK2* conduisant à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striatale. Cette cascade ubiquitine-protéasome n'avait jamais été évoquée dans ce contexte de l'infection par *M. leprae*, et elle ouvre des perspectives totalement nouvelles pour la physiopathologie de la maladie. Actuellement, des études fonctionnelles sont en cours afin

de caractériser la nature exacte de l'interaction entre ces mécanismes particuliers de dégradation protéique et l'infection par *M. leprae*. Dans un avenir proche, l'identification des sujets prédisposés devrait jouer un rôle important dans le développement et l'évaluation des programmes de contrôle de la maladie et dans l'élaboration de nouvelles stratégies préventives et thérapeutiques. Ainsi, des approches préventives qui s'avèrent peu efficaces ou techniquement irréalisables à l'échelle d'une population dans son ensemble, pourraient présenter un intérêt majeur lorsqu'elles sont ciblées sur un groupe d'individus à haut risque de développer la maladie. À plus long terme, ces travaux devraient ouvrir de nouvelles possibilités thérapeutiques orientées vers la restauration d'une réponse adaptée de l'hôte lors de la rencontre avec l'agent pathogène. Enfin, cette découverte soulève l'hypothèse fascinante que des anomalies dans la façon dont les cellules gèrent les protéines superflues (comme les protéines devenues inutiles ou reconnues comme étrangères) pourraient être à l'origine de maladies assez communes et très différentes dans leur présentation comme des maladies infectieuses ou des

maladies neurodégénératives. ♦  
**Genetic susceptibility to leprosy**

## RÉFÉRENCES

1. Jacobson RR, Krahenbuhl JL. Leprosy. *Lancet* 1999; 353:655-60.
2. WHO. Leprosy: global situation. *Wkly Epidemiol Rec* 2000;75:225-232.
3. Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. *Annu Rev Immunol* 2002;20:581-620.
4. Alcais A, Abel L. Application of genetic epidemiology to dissecting host susceptibility/resistance to infection illustrated with the study of common mycobacterial infections. In: Bellamy R, ed. *Susceptibility to infectious diseases*. Cambridge: Cambridge University Press, 2004:7-45.
5. Alcais A, Sanchez FO, Thuc NV, et al. Granulomatous reaction to intradermal injection of lepromin (Mitsuda reaction) is linked to the human *NRAMP1* gene in Vietnamese leprosy sibships. *J Infect Dis* 2000; 181:302-8.
6. Mira MT, Alcais A, Van Thuc N, et al. Chromosome 6q25 is linked to susceptibility to leprosy in a Vietnamese population. *Nat Genet* 2003;33:412-5.
7. Mira MT, Alcais A, Nguyen VT, et al. Susceptibility to leprosy is associated with *PARK2* and *PACRG*. *Nature* 2004;427:636-40.
8. Schaid DJ. General score tests for associations of genetic markers with disease using cases and their parents. *Genet Epidemiol* 1996;13:423-49.
9. Corti O, Brice A. La maladie de Parkinson: que nous apprennent les gènes des formes familiales? *Med Sci (Paris)* 2003;19:613-9.

## NOUVELLE

### Du nouveau sur les cellules souches pancréatiques

Raphaël Scharfmann

Inserm E363,  
 Faculté de médecine Necker,  
 156, rue de Vaugirard,  
 75015 Paris, France.  
[scharfmann@necker.fr](mailto:scharfmann@necker.fr)

► Comprendre comment la masse de cellules  $\beta$  pancréatiques qui produisent l'insuline (estimée à 1 million de cellules  $\beta$  chez le rongeur adulte et mille fois plus chez l'homme) est contrôlée au cours de la vie est crucial pour plusieurs raisons: sur un plan cognitif, pour progresser dans la compréhension des mécanismes de régulation de l'homéostasie d'un type cellulaire particulier appartenant à un organe complexe; sur un plan médical, pour identifier

les compartiments cellulaires responsables de l'amplification physiologique des cellules  $\beta$ , et donc pouvoir définir des approches pour accroître la taille de ces compartiments à la demande. La masse de cellules  $\beta$  pancréatiques augmente tout au long de la vie. Les premières cellules  $\beta$  apparaissent chez le rongeur pendant la deuxième partie de la vie fœtale. Il est bien établi que, à cette période, ces cellules  $\beta$  se développent à

partir de cellules souches d'origine endodermique localisées dans l'épithélium pancréatique. Ces cellules souches, qui, par définition, n'expriment pas l'insuline, vont se multiplier et activer ou réprimer l'expression d'une série de facteurs de transcription nécessaires à la formation d'une cellule  $\beta$  mature. Il semble clair que pendant la vie fœtale, une fois produites, la capacité proliférative de ces cellules  $\beta$ , est négligeable.



Le nombre de cellules  $\beta$  va aussi augmenter pendant la vie postnatale chez le rongeur mais aussi dans différents modèles expérimentaux de régénération. Pendant la vie postnatale, l'homéostasie des cellules  $\beta$  est en théorie le résultat d'un équilibre entre la formation de nouvelles cellules et leur destruction. La formation de cellules  $\beta$  peut résulter soit de leur différenciation à partir des cellules souches comme c'est le cas pendant la vie prénatale - à ceci près que les cellules souches n'ont pas été directement identifiées après la naissance - soit de la prolifération des cellules  $\beta$  matures elles-mêmes. On sait depuis de nombreuses années que pendant la vie postnatale chez le rongeur, les cellules  $\beta$  ont une certaine capacité de prolifération. Par exemple, si l'on injecte un analogue de la thymidine (BrdU par exemple) à une souris ou à un rat adulte quelques heures avant de le sacrifier, moins de 1% des cellules  $\beta$  incorporent cet analogue de la thymidine. Ce taux d'incorporation de BrdU semblait trop faible pour expliquer la régénération physiologique et, sur cet argument, une néogenèse physiologique de cellules  $\beta$  à partir de cellules souches ou de progéniteurs avait été suggérée pendant la vie postnatale.

Des résultats récents suggéraient que ces cellules souches pourraient être d'origine pancréatique, comme c'est le cas pendant la vie embryonnaire, mais pourraient également provenir de la moelle osseuse (suivant le, ou la, mode «transdifférenciation»). Cette néogenèse à partir de cellules souches pancréatiques serait même le mode prépondérant de formation de nouvelles cellules  $\beta$  dans différents modèles de régénération par exemple après pancréatectomie partielle ou après ligature du canal pancréatique<sup>1</sup>. Toutefois, il n'existait aucune preuve directe d'une néoge-

nèse de cellules  $\beta$  à partir de cellules souches pendant la vie postnatale, et les seuls arguments étaient indirects et fondés sur un calcul théorique (mais assez empirique) mettant en doute que le seul pourcentage de cellules  $\beta$  incorporant du BrdU puisse expliquer l'augmentation de la masse pancréatique visualisée. D'autres arguments comme l'accumulation de cellules  $\beta$  à proximité des canaux pancréatiques (qui auraient contenu les cellules souches), n'ont jamais convaincu la totalité des scientifiques.

Un travail récent de Y. Dor du laboratoire dirigé par D. Melton à Boston (MA, USA) publié en mai 2004 dans *Nature* propose une autre interprétation [1]: l'augmentation de la masse de cellules  $\beta$  qu'elle soit physiologique pendant la vie postnatale, ou contemporaine de processus de régénération, proviendrait de la prolifération de cellules  $\beta$  préexistantes, et la différenciation à partir de cellules souches serait inexistante ou sans pertinence physiologique. Y. Dor a utilisé une approche élégante fondée sur le suivi cellulaire. Il a croisé deux types de souris: (1) les unes expriment la recombinaison Cre sous le contrôle du promoteur du gène de l'insuline, et sa localisation nucléaire n'intervient que si les souris reçoivent du tamoxifène; (2) les secondes expriment de manière constitutive la phosphatase alcaline placentaire (PAP) humaine mais après action de la Cre qui permet l'excision d'une séquence d'arrêt de la traduction. En croisant ces deux types de souris, on peut donc faire exprimer la PAP par une certaine proportion de cellules  $\beta$  (100% en théorie, 50% dans ce travail) en induisant, grâce à des injections de tamoxifène, le transfert nucléaire de la Cre exprimée par les cellules  $\beta$ . L'arrêt du tamoxifène bloquant la fonction de Cre et donc la production de cellules  $\beta$  marquées par la PAP permet alors de suivre les cellules  $\beta$  produites précédemment, qui se développent. En effet, si les nouvelles cellules  $\beta$  qui se développent dérivent de la multiplication de cellules  $\beta$  préexistantes, la proportion de cellules  $\beta$  qui expriment la PAP restera stable avec le temps. En revanche, si les

nouvelles cellules  $\beta$  se forment à partir de cellules en amont n'exprimant pas l'insuline, ces nouvelles cellules  $\beta$  n'exprimeront pas la PAP, puisqu'elles se seront développées après l'arrêt des injections de tamoxifène et dans ce cas, la proportion de cellules  $\beta$  exprimant la PAP diminuera. Le travail de Y. Dor indique que la proportion de cellules exprimant la PAP ne diminue pas après arrêt du tamoxifène, ni pendant l'évolution physiologique de la masse de cellules  $\beta$  (pendant les 12 mois suivant l'arrêt du tamoxifène), ni dans un modèle de régénération de cellules  $\beta$  après pancréatectomie. Cela permet aux auteurs de conclure que, pendant la vie postnatale, les cellules  $\beta$  se développent par multiplication de cellules  $\beta$  préexistantes. Ce travail indique de manière convaincante que le rôle physiologique de la prolifération des cellules  $\beta$  dans la régulation de l'homéostasie de ce type cellulaire a donc été sous-estimé.

Dans une perspective thérapeutique pour les patients souffrant de diabète de type 1, les auteurs proposent maintenant de définir des approches pour réactiver la prolifération des cellules  $\beta$  résiduelles présentes dans le pancréas. Pour les auteurs, la différenciation de cellules  $\beta$  à partir de cellules souches serait un événement extrêmement rare sans pertinence physiologique en période postnatale. Ce point me semble ici surinterprété, pour au moins deux raisons: (1) les auteurs ne sont pas ici dans les meilleures conditions pour rechercher une néogenèse de cellules  $\beta$  à partir de cellules souches pancréatiques n'exprimant pas l'insuline. En effet, pour des raisons techniques, l'excision est ici partielle et seule la moitié des cellules  $\beta$  dans ce travail expriment la PAP. Des conditions où 100% des cellules  $\beta$  préexistantes expriment la PAP auraient rendu la recherche de cellules  $\beta$  dérivant de cellules souches beaucoup plus efficace; (2) il n'est pas sûr que l'on puisse extrapoler les conclusions tirées d'un modèle de régénération (ici régénération après pancréatectomie) à tous les autres modèles de régénération, par

1. La ligature du canal pancréatique entraîne une rétention des enzymes pancréatiques qui normalement sont produites par les cellules acinaires et excrétées via ce canal dans le tube digestif. Cela créerait alors une inflammation et un remodelage pancréatique avec production de nouvelles cellules  $\beta$ .

exemple après ligature du canal pancréatique ou dans certains modèles d'hyperglycémie.

Enfin, l'extrapolation des données expérimentales à l'homme est hasardeuse: si la capacité proliférative des cellules  $\beta$  de rongeur n'est pas remise en doute, il existe en revanche des données assez convaincantes indiquant que les cellules  $\beta$  humaines ne prolifèrent pas. Si ces données n'ont pas été sous-estimées,

alors il est difficile d'imaginer qu'il n'existerait pas de cellules souches dans le pancréas humain adulte.

En conclusion, ce travail a une double portée: (1) scientifique, montrant que, chez le rongeur, l'homéostasie de la masse de cellules  $\beta$  peut s'expliquer par la prolifération des cellules  $\beta$  préexistantes; (2) politique, proposant que le pancréas adulte ne contienne plus de cellules souches et qu'une future théra-

pie cellulaire du diabète ne pourra passer que par l'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines. ♦

### Do pancreatic stem cells exist ?

#### RÉFÉRENCE

1. 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.

## NOUVELLE

### Les gènes ATG et la macro-autophagie

Patrice Codogno

Inserm U.504, Glycobiologie et signalisation cellulaire, Institut André Lwoff, 16, avenue Paul-Vaillant-Couturier, 94807 Villejuif, France.  
[codogno@vjf.inserm.fr](mailto:codogno@vjf.inserm.fr)

> Le terme autophagie englobe un ensemble de mécanismes cataboliques aboutissant à la dégradation de constituants cellulaires par le lysosome [1]. La découverte de la macro-autophagie, une des formes majeures de l'autophagie, est contemporaine de celle du lysosome par Christian de Duve [2]. La macro-autophagie, active à un niveau basal dans la plupart des cellules (prise en charge du renouvellement des protéines à durée de vie longue et de certains organites comme la mitochondrie), est stimulée en situation de stress; ce processus représente un mécanisme de survie cellulaire et d'adaptation, par le recyclage - notamment des acides aminés - et l'élimination des macromolécules et des structures cellulaires altérées [3].

La découverte des gènes ATG (*autophagy related genes*), au milieu des années 1990, chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* (pour revue, voir [4]) a été importante non seulement pour la dissection en termes moléculaires de la macro-autophagie mais aussi pour comprendre

son importance en physiologie et physiopathologie [3]. Sur le plan cellulaire, la macro-autophagie débute par la formation d'une vacuole, l'autophagosome, qui séquestre de façon non sélective les constituants du cytoplasme. L'autophagosome est délimité par plusieurs feuilletts lipidiques (en général quatre) dont l'origine est encore mal connue. Plusieurs compartiments cellulaires (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et réseau *trans*-golgien) et la membrane plasmique concourent probablement à la formation de l'autophagosome. Une quinzaine de protéines Atg, pour la plupart conservées de la levure à l'homme, sont nécessaires à sa biogenèse. À l'exception d'Atg9, ces protéines ne possèdent pas de domaine transmembranaire. Les protéines Atg, recrutées dans le cytoplasme, s'associent de façon transitoire avec la membrane pré-autophagosomale et à celle de l'autophagosome.

La formation de l'autophagosome repose essentiellement sur deux systèmes de

conjugaison, similaires à l'ubiquitinylation et la sumoylation des protéines [5] (Figure 1). Le premier conjugué, formé des protéines Atg5-Atg12, permet le recrutement du deuxième qui résulte de la conjugaison en carboxyterminal de la protéine Atg8 (MAP-LC3 chez les mammifères) par la phosphatidyléthanolamine (PE). Le complexe Atg5-Atg12 est recyclé vers le cytosol avant la formation complète de l'autophagosome. La protéine Atg4 hydrolyse la liaison entre Atg8 et la PE. En conséquence de cette hydrolyse, seule une fraction du complexe Atg8-PE reste associée à la membrane interne de l'autophagosome constituant un marqueur spécifique de cet organite. La protéine Atg6 qui interagit avec la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase (PI3K) de type III sur la membrane du réseau *trans*-golgien (Figure 1) est nécessaire à la formation de l'autophagosome, de même que le phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P), produit de l'activité de la PI3K de type III [6]. Les rôles intimes d'Atg6 et du PtdIns3P dans la formation de l'autophagosome restent encore à élucider.