

Un précurseur unique, quatre types de cellules intestinales

Au niveau de l'épithélium intestinal, quatre types cellulaires distincts assurent les fonctions de sécrétion (exocrine et endocrine), de transport et de défense de l'organisme : les entérocytes absorbants, les cellules à mucus, les cellules entéroendocrines et les cellules de Paneth (figure 1). Les mécanismes moléculaires qui contrôlent la prolifération et la différenciation des cellules le long de l'axe cryptovillositaire sont encore énigmatiques. Il est aujourd'hui admis que les cellules souches indifférenciées de la crypte subissent une maturation au cours de leur migration vers la villosité au sommet de laquelle elles sont éliminées à l'état sénescence. En se divisant de façon asymétrique, chaque cellule souche donne naissance à une nouvelle cellule souche et à une cellule destinée à se différencier. L'exploration des mécanismes moléculaires conduisant au phénotype différencié a largement profité de l'étude d'un gène codant pour une protéine enzymatique spécifique de l'entérocyte, la sucrase-isomaltase (SI) [1]. Des travaux ont conduit à l'identification d'une région d'ADN du gène codant pour SI, capable de diriger spécifiquement l'expression d'un transgène dans l'épithélium intestinal et reconnaissant des facteurs de transcription exprimés spécifiquement dans l'intestin (protéines de la famille Cdx) ou non spécifiques de l'intestin (comme HNF-1, *hepatocyte nuclear factor-1*) [2]. Si les mécanismes qui déterminent l'expression sélective du gène *SI* dans l'entérocyte ne sont toujours pas élucidés, on apprend aujourd'hui dans une étude de transgénèse, que les quatre types cellulaires différenciés de l'épithélium

possèdent la machinerie transcriptionnelle nécessaire à la synthèse de la protéine SI [3]. En outre, il est suggéré que l'absence d'expression de *SI in vivo* dans les cellules intestinales autres que les entérocytes serait due à un phénomène d'inhibition de la transcription du gène, processus complexe d'extinction génique qui pourrait être à l'origine du lignage cellulaire de l'épithélium digestif. Ainsi, afin d'analyser la spécificité tissulaire de la transcription du gène *SI*, des souris transgéniques et des lignées intestinales ont été utilisées. Un transgène a été construit à partir d'une séquence d'ADN élargie en 5' du gène *SI* de souris (-8,500 à +54) liée à un gène rapporteur codant pour l'hormone de croissance. L'expression du transgène chez les souris recombinantes est détectée majoritairement dans l'épithélium de l'intestin grêle. Dans les entérocytes, elle suit un gradient de concentration de la crypte vers la villosité qui coïncide parfaitement avec le gradient de concentration de l'ARNm de *SI* endogène le long de cet axe. De façon surprenante, l'expression du transgène est également retrouvée dans les cellules entéroendocrines, les cellules à mucus et les cellules de Paneth, qui n'expriment pas *SI in vivo*. Le transgène apparaît au jour 14 dans les cellules entéroendocrines, au jour 22 (période de sevrage) dans les entérocytes et à l'âge adulte dans toutes les cellules de l'épithélium digestif, illustrant ainsi l'évolution de l'expression ectopique du transgène au cours du développement intestinal postnatal. L'étude des mécanismes qui déterminent l'expression sélective d'un gène dans un type cellulaire spécifique a été

poursuivie dans deux lignées de cellules intestinales, l'une de phénotype entérocytaire exprimant la protéine SI (Caco-2) et l'autre de phénotype entéroendocrine et n'exprimant pas de SI endogène (COLO DM). Alors que la cellule Caco-2 synthétise une quantité importante d'ARNm codant pour SI, la cellule COLO DM est incapable de synthétiser ce transcrite. Le gène codant pour SI, bien que n'ayant subi aucune altération, n'est pas transcrite dans cette lignée. De façon surprenante, lorsque ces deux lignées sont transfectées avec un gène exogène contenant la région promotrice du gène *SI*, l'activité transcriptionnelle du promoteur *SI* est importante, voire supérieure, dans les cellules COLO DM. Cela démontre, une nouvelle fois, que la cellule intestinale non entérocytaire a la potentialité et la machinerie transcriptionnelle nécessaire à la synthèse de SI, un mécanisme de répression du gène *SI* étant probablement responsable de l'absence de protéine SI endogène dans la lignée entéroendocrine COLO DM. La recherche de facteurs de transcription dirigeant l'expression de gènes spécifiques de l'intestin et participant donc au processus de développement et de différenciation de l'épithélium intestinal a conduit à considérer les produits des gènes *Cdx1* et *Cdx2* comme étant les activateurs transcriptionnels des gènes exprimés spécifiquement dans l'intestin [4]. Les protéines Cdx font partie d'une famille de gènes homéotiques considérés, chez la Drosophile, comme des acteurs très précoces du développement. Chez la souris, ils semblent impliqués dans la formation de l'épithélium digestif au cours de l'embryogenèse. Récemment, la

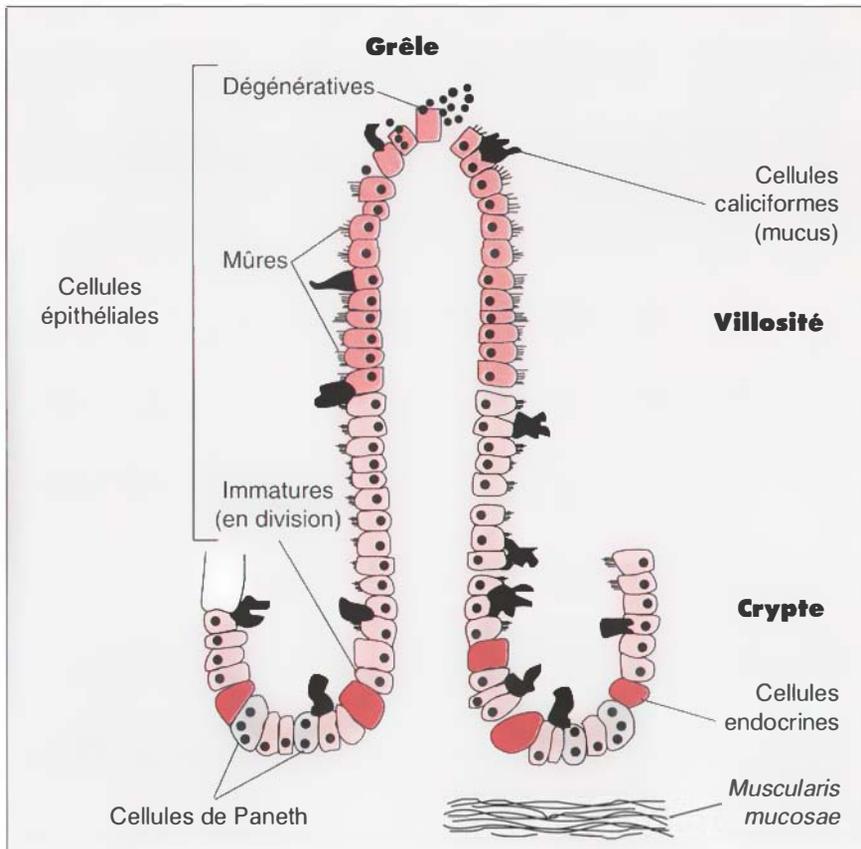


Figure 1. **Description histologique de l'épithélium de l'intestin grêle.** Les constituants cellulaires sont les cellules indifférenciées des cryptes, assurant le renouvellement cellulaire. Les cellules se déplacent vers le haut de la crypte, glissent sur les ponts intervillousitaires et progressent vers le sommet de la villosité où elles sont éliminées à l'état sénescence. La migration s'accompagne de maturation; 2) les cellules épithéliales mûres ou entérocytes absorbants, portant au pôle apical, une bordure en brosse ou microvillosités; 3) les cellules à mucus, dont la partie apicale est riche en grains de mucus. Le mucus intestinal joue un rôle protecteur de la muqueuse contre les substances lumineuses toxiques; 4) les cellules endocrines (en bistré) situées principalement au fond des cryptes, présentent des microvillosités au pôle apical et des grains de sécrétions au pôle basal. Les principaux peptides sécrétés sont le GIP (gastric inhibitory polypeptide), la sécrétine, la cholecystokinine, le peptide YY, le GLP-1 (glucagon-like peptide-1), l'entéroglucagon; 5) les cellules de Paneth (en gris), situées au fond des cryptes, possèdent de nombreux granules éosinophiles et un cytoplasme intensément basophile. Elles présentent une activité sécrétoire active riche en lysozymes. Leur cytoplasme comporte des immunoglobulines A et G qui leur confèrent un rôle de défense immunitaire.

découverte de l'interaction de Cdx2 avec le promoteur minimal du gène *SI* (site désigné SIF1) et du rôle activateur de Cdx2 sur la transcription du gène *SI*, constituaient les premiers arguments en faveur de la participation de ce facteur de transcription dans les processus de différenciation intestinale [5]. Un travail réalisé *in vitro* par cette même équipe vient de confirmer la fonction de Cdx2 dans le développement et la différenciation intestinale [6]. La lignée IEC-6 a été établie à partir de cellules épithéliales dérivées d'un iléon de rat nouveau-né et présente un phénotype de cellules cryptiques indifférenciées (elles ne synthétisent pas de protéines Cdx1 et Cdx2 endogènes). Les auteurs montrent que, après transfection stable d'une séquence d'ADN codant pour Cdx2, la prolifération et le phénotype des cellules IEC-6 sont totalement perturbés. Les cellules synthétisant la protéine Cdx2 ont une cinétique de prolifération complexe qui se caractérise par une inhibition de la croissance durant les trois premiers jours, suivie d'une croissance à vitesse « normale », aboutissant à une plus forte densité cellulaire à confluence. Contrastant avec les cellules d'origine poussant en monocouches, après 4 semaines de culture, les cellules synthétisant Cdx2 se présentent sous forme de structures multicellulaires arrangées en croisillons; des entérocytes avec une bordure en brosse bien développée, quelques cellules à mucus et une matrice extracellulaire importante formée de fibres de collagène constituent la nouvelle architecture observée. Ce n'est qu'après 50 jours de culture, une fois les cellules différenciées, que l'ARNm codant pour SI est détecté dans les cellules exprimant *cdx2* exogène, suggérant ainsi que des événements tardifs sont impliqués dans la synthèse de cette enzyme. L'ensemble de ces données démontre que l'expression du gène *cdx2* dans les cellules intestinales non différenciées influence la prolifération, la morphogénèse et l'expression génique. Cdx2 est, à ce jour, le seul facteur de transcription connu pour participer au processus complexe de différenciation intestinale: il réglerait l'expression de gènes précoces impliqués

