

Encore deux gènes au programme de différenciation de la cellule β pancréatique

Le bon déroulement du programme de développement et de différenciation du pancréas endocrine est une condition essentielle à la croissance embryonnaire et fœtale, ainsi qu'à la vie adulte. Les mécanismes mis en jeu dans ce processus impliquent l'expression d'un certain nombre de gènes tels que *Pdx-1*, *Isl1*, et *Pax 4*, déjà directement engagés dans le développement du pancréas (*m/s* n° 4, vol. 13, p. 600). Aujourd'hui, l'entrée en scène inattendue du gène *Pref-1*, connu pour son action inhibitrice du processus de différenciation des préadipocytes en adipocytes *in vitro*, et premier marqueur connu du développement des cellules chromaffines surrénales chez l'homme, illustre une nouvelle fois la complexité du phénomène [1]. En outre, la participation du gène *Beta2* dans le processus de différenciation du pancréas endocrine est définitivement établie aujourd'hui dans une étude d'inactivation génique par transgène chez la souris [2].

In vivo et *ex vivo*, l'hormone de croissance et la prolactine influencent la croissance et la fonction du pancréas endocrine, comme en témoignent l'hyperinsulinémie et l'hyperplasie des cellules β pancréatiques de rats porteurs de tumeurs sécrétrices de ces hormones. Une équipe danoise a recherché les gènes susceptibles d'être activés par l'hormone de croissance dans le pancréas endocrine. C'est par criblage différentiel de banques d'ADNc d'îlots de rats nouveau-nés stimulés ou non par l'hormone de croissance, que les auteurs ont identifié un gène qui code pour une protéine analogue à la protéine *Pref-1* de souris, aux protéines

humaines *Dlk* et *pG2* d'origine surrénaliennne et placentaire et, dans sa partie extracellulaire, à la protéine *fetal antigen-1* (FA-1) [1]. *Ex vivo*, l'hormone de croissance active effectivement la transcription du gène *Pref-1* dans des îlots de rats nouveau-nés. La protéine *Pref-1* de souris avait été déjà décrite comme une protéine transmembranaire de 383 acides aminés caractérisée par six domaines extracellulaires de type EGF (*epidermal growth factor*). Les auteurs ont identifié plusieurs transcrits *Pref-1* dans les îlots pancréatiques et les surrénales des rats nouveau-nés, transcrits qui, chez l'adulte, deviennent quasiment indécélables dans le pancréas. Une seule exception à la règle, la période de gestation s'accompagne d'une synthèse importante de transcrits dans les îlots (jusqu'à 100 fois le niveau basal), synthèse particulièrement accrue au jour 14 et au moment du terme. Chez l'embryon, c'est au cours d'une période marquée par l'hyperplasie des cellules β pancréatiques que le message est le plus exprimé au niveau du pancréas, du jour E12 jusqu'au jour J2 après la naissance où il diminue très fortement. L'étude immunocytochimique de la protéine durant la période E13-E16 montre une localisation préférentielle dans les cellules parenchymateuses du pancréas, qui disparaît entre les jours E17 et E19 au profit des précurseurs des îlots, pour se cantonner définitivement aux cellules β . Fait intéressant, l'analogie de la protéine *Pref-1* avec la protéine humaine FA-1 est d'abord structurale, mais aussi probablement fonctionnelle, toutes deux étant synthétisées en abondance par l'embryon au cours

du développement, et durant la période de gestation. Au vu de cette étude, le gène *Pref-1* semble d'ores et déjà jouer un rôle certain dans le développement et la différenciation du pancréas endocrine. La protéine *Pref-1* agirait plus particulièrement en maintenant le pancréas embryonnaire précoce dans un état actif de prolifération. On attend déjà l'inactivation du gène *Pref-1* chez la souris pour en savoir plus !

L'implication du gène *Beta2* dans le processus de développement et de différenciation du pancréas endocrine ne fait désormais plus aucun doute. En effet, son inactivation par transgène chez la souris conduit à un phénotype plutôt sévère: les souris *Beta2*^{-/-} naissent plus petites, déshydratées, hypoinsulinémiques, hyperglycémiques et cétonuriques à deux jours, elles meurent quelques jours plus tard. Le gène *Beta2* qui code pour une protéine de la famille des facteurs de transcription bHLH (*basic helix-loop-helix*), transactive l'expression du gène de l'insuline, est fortement exprimé dans le système nerveux en développement, et a été impliqué récemment dans la régulation de l'expression du gène de la sécrétine dans l'intestin (*m/s* n° 8/9, vol. 13, p. 1063). Étudiée dans le pancréas des souris *Beta2*^{+/-} au cours du développement, l'expression de *Beta2* est détectée dès le jour embryonnaire E9,5 au sein de l'épithélium pancréatique, spécifiquement dans les cellules endocrines précurseurs des îlots. C'est au jour E17,5 que les cellules endocrines s'organisent en îlots au sein desquels s'exprime le gène *Beta2* à tous les stades du développement et jusqu'à

l'âge adulte. Chez les souris *Beta2*^{-/-}, en revanche, les îlots n'apparaissent pas du tout organisés, mais s'apparentent à des structures en amas constituées des différents types cellulaires endocrines dont la proportion relative n'est plus respectée. Ainsi, à partir du jour E14,5, le nombre de cellules endocrines diminue, jusqu'à devenir 3 fois moindre à la naissance : les cellules β sont plus affectées que les cellules α et δ , et les cellules apoptotiques sont abondantes. Le gène *Beta2* est donc impliqué à la fois dans la morphogenèse du pancréas et dans la survie des cellules endocrines. Le pancréas exocrine des souris *Beta2*^{-/-} est lui aussi fortement perturbé, les cellules acineuses à la naissance présentant des signes évidents de dégénérescence. En outre, la synthèse de l'amylase pancréatique est extrêmement augmen-

tée. Ces perturbations sont incontestablement en rapport avec le défaut de synthèse de sécrétine et de cholécystokinine détecté chez les souris mutées, cela malgré l'existence de cellules entéroendocrines. Contre toute attente, cette fois, le système nerveux des souris mutées ne semble *a priori* pas affecté. Si l'expression de *Beta2* ne s'avère pas indispensable à la synthèse de l'insuline, il intervient probablement dans le programme de développement du pancréas endocrine. En effet, l'hypoinsulinosécrétion et le diabète ne peuvent être simplement expliqués par la réduction des 2/3 des cellules β . Premier facteur bHLH ayant une fonction spécifique dans le développement du pancréas, *Beta2* agirait en aval de *Pdx-1* et de *Pax4*, dont l'invalidation chez la souris conduit respectivement à l'absence de cellules β et δ et à

l'absence de pancréas. A chaque gène, on est ainsi tenté d'attribuer une fonction spécifique dans le développement du pancréas. L'exploitation future du modèle de souris *Beta2*^{-/-} n'a sans doute pas fini de nous surprendre !

B.A.

1. Carsson C, Tornehave D, Lindberg K, Galante P, Billestrup N, Michelsen B, Larsson LI, Nielsen JH. Growth hormone and prolactin stimulate the expression of rat preadipocyte factor-1/delta-like protein in pancreatic islets: molecular cloning and expression pattern during development and growth of the endocrine pancreas. *Endocrinology* 1997; 138: 3940-8.
2. Naya FJ, Huang HP, Qiu Y, Mutoh H, DeMayo FJ, Leiter AB, Tsai MJ. Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in *BETA2/NeuroD*-deficient mice. *Genes Dev* 1997; 11: 2323-7.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Du peptide isolé au gène, du gène à la fonction : la dopuine trouve une identité !** Receleur d'un grand nombre de polypeptides biologiques, le tractus digestif constitue une « mine » pour les biochimistes avides de nouveaux peptides. Le dernier en date, la dopuine (ou facteur à plusieurs prolines, en chinois), a été découvert dans un concentré thermostable d'intestin de porc sur la base de sa richesse en cystéine, une particularité commune à un grand nombre de peptides biologiques [1]. L'analyse physico-chimique de ce peptide de 62 acides aminés par digestion enzymatique et HPLC (*high performance liquid chromatography*) a permis d'identifier 6 cystéines formant 3 ponts disulfures, un grand nombre de prolines dans la région amino-terminale et d'histidines

dans la région carboxy-terminale. Cette distribution de résidus dans la séquence de la dopuine lui confère une conformation centrale serrée et repliée, avec un site probable de chélation d'ions métalliques, une caractéristique non négligeable. Son implication dans la sécrétion d'insuline par des îlots de Langerhans de rat, une fonction sensible à de nombreux agents biologiques, a été étudiée *in vitro*; la dopuine exerce une très faible activité inhibitrice, qui laisse présager cependant une éventuelle action biologique mais sur d'autres fonctions. Un rebondissement dans l'intérêt de la dopuine s'est alors manifesté avec la découverte de sa ressemblance remarquable (90 % d'identité) avec la séquence peptidique dérivée d'un clone d'ADNc isolé de foie et de rate de fœtus humain. Mieux,

plus récemment encore s'est révélée une forte identité avec le produit du gène humain *COXS*, analogue du gène de levure *COX17* qui code pour une protéine essentielle au captage du cuivre par la mitochondrie, étape cruciale pour l'intégrité fonctionnelle du système de la cytochrome oxydase [2]. Produite par plusieurs espèces, dans plusieurs tissus et à différents âges, la dopuine, comme beaucoup d'autres peptides identifiés uniquement sur des bases chimiques, semble représenter un nouvel acteur biologique important de l'organisme.

[1. Chen ZW, *et al.* *Eur J Biochem* 1997; 249: 518-22.]

[2. Amaravadi R, *et al.* *Hum Genet* 1997; 99: 329-33.]

LE COMITÉ CONSULTATIF NATIONAL D'ÉTHIQUE POUR LES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

- Le Comité souhaitant participer à l'information du public et de toutes les professions intéressées publie, chaque trimestre, « **Les Cahiers du Comité consultatif national d'éthique** ».

L'abonnement aux « Cahiers du Comité consultatif national d'éthique » (4 numéros par an) est de 185 F.

Pour tout renseignement, s'adresser à madame Anne Bernard au Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé, 71, rue Saint-Dominique, 75007 Paris. Tél. : 01 44 42 48 52/53 - Fax : 01 44 42 48 48.