

Ilot de Langherans isolé
chez le porc

Crédit : G. Reach

© Inserm

Diabète : chronique d'une explosion annoncée

C'est mécanique, c'est prévu : si rien n'est fait, la prévalence du diabète de type 2 va doubler en France d'ici 2025. « C'est plus prévisible que la grippe aviaire », glisse dans un sourire Jean-Paul Riou, le directeur de l'U449 "Mécanismes moléculaires du diabète" à Lyon. Mais ces calculs alarmants doivent beaucoup à l'observation du phénomène observé outre-Atlantique. Qu'en est-il en France de l'épidémiologie du diabète de type 2 ? Quelles conséquences pour la population touchée ? Les enfants commencent-ils à en souffrir en masse, au point de pouvoir évoquer une épidémie ? Eléments de réponse avec les deux principales spécialistes à l'Inserm...

Le diabète, tous types confondus, représente une charge importante pour la collectivité, avec un coût de prise en charge médicale (hors coûts indirects) de 4,9 milliards d'euros, soit 4,7 % des dépenses générales de l'Assurance maladie, et une mortalité (directe ou liée à des causes associées) s'élevant à 5 % de la mortalité globale, avec 27 000 décès en 1999. Cependant, même si son incidence du diabète de type 1 croît de 3 à 4 % par an, avec une tendance à un déclenchement de plus en plus précoce de la maladie [1], « *le diabète de type 1 reste presque une maladie rare* », indique Claire Lévy-Marchal, directrice de l'U690 "Diabète de l'enfant et développement", Paris, Robert Debré.

Et de fait, le chiffre de 130 000 diabétiques de type 1 traités par insuline en 2002 [2] peut paraître bien mince au regard des 2 millions de diabétiques de type 2 recensés par l'InVS (Institut de veille sanitaire), soit une prévalence du diabète traité pharmacologiquement de 3,06 % [3]. Car l'inquiétude vient de là : la prévalence et l'incidence de la maladie croissent à un rythme effréné, bien sûr en raison du vieillissement de la population, mais aussi et surtout parce que l'âge du diagnostic ne cesse de baisser, notamment en raison de la montée de l'obésité.

Et encore ne s'agit-il que d'estimations entachées d'un « *certain degré d'imprécision* », comme le reconnaissent Dominique Simon et Evelyne Eschwège (U258 "Epidémiologie cardiovasculaire et métabolique", Villejuif, Paul Brousse) dans leur article publié au *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* [3]. A dire vrai, « *les données sont quasi totalement inexistantes, mais il existe un risque vrai en Santé Publique*, explique Claire Lévy–Marchal. *Face à un tel état d'alerte, on pourrait commencer à chiffrer les choses dès maintenant afin d'avoir des données fiables à l'avenir.* »

Les enfants épargnés... jusqu'à quand ?

Le problème se pose également du côté des enfants. Depuis que la chercheuse a interrompu, en 1998, son programme de registre de diabète pédiatrique, il n'y a plus aucune donnée d'importance. Tout juste peut-elle se baser sur les recrutements au service de Diabétologie pédiatrique de l'hôpital Robert Debré pour évaluer l'arrivée progressive du diabète de type 2 chez l'enfant : pour l'instant, elle en recense 1 ou 2 par an, alors que ce service reçoit par ailleurs 40 % du recrutement des nouveaux patients diabétiques pédiatriques en Ile–de–France. En tout et pour tout, cela ne représenterait pas plus que 100 nouveaux cas par an en France, au grand maximum.

D'où l'appel à la modération de Claire Lévy–Marchal : « *Encore plus que pour les adultes, on ne peut pas à proprement parler d'épidémie. Tout d'abord parce qu'une épidémie est un événement qui flambe, puis retombe après. Mais surtout parce que, chez l'enfant, le phénomène n'est observable ici que depuis 5–7 ans. Vu le très petit nombre de cas, il est inenvisageable de faire de l'épidémiologie de population. En revanche, nous avons pu recueillir des données de physiologie explicative, pour mieux caractériser les patients. On s'est ainsi aperçu que les troubles de la gluco–régulation ne surviennent que chez les jeunes patients obèses (grade 1 ou 2), et que la présentation était différente, beaucoup plus violente que chez l'adulte. On est donc en présence d'une co–morbidité qui les expose à des accidents cardiovasculaires probablement à un âge jeune.* »

De quoi anticiper, faire acte de « *spéculation préventive* », insiste-t-elle, quand on observe « *la figure d'évolution des Etats–Unis, avec lesquels nous avons vingt ans de retard...* »

Des complications en cascade

A Villejuif, l'escalade des cas de diabète de type 2 et les complications qu'il entraîne sont également au cœur des préoccupations de Beverley Balkau (U780 "Recherche en épidémiologie et biostatistique"). Mais plus encore, ce sont les facteurs qui occasionnent ce diabète qui l'intéresse au plus haut point. Non pas l'obésité, souvent vue comme accusée principale, mais un tableau clinique plus complexe : le syndrome d'insulinorésistance. D'abord appelé syndrome X par Gerald Reaven en 1988, souvent appelé aujourd'hui syndrome métabolique, celui-ci se caractérise par une résistance à l'insuline, une forte adiposité centrale, un HDL–cholestérol bas, des triglycérides élevés et une pression artérielle haute. C'est précisément l'objet de l'étude DESIR

(Données Épidémiologiques sur le Syndrome d'Insulino–Résistance), entamée en 1994, qui a inclus quelque 5 200 individus de 30 à 64 ans suivis jusqu'en juin 2005 [4].

« Nous avons cherché à déterminer l'histoire naturelle de la maladie, afin de mieux la définir, précise Beverley Balkau. En tout, environ 750 sujets ont présenté au départ un syndrome d'insulino–résistance, et un tiers ont dérivé vers un diabète de type 2. Un autre tiers n'a jamais vu sa glycémie augmenter au delà des normes. Ce qui est intéressant, c'est de déterminer maintenant dans ces groupes, et aussi dans le groupe intermédiaire, les conséquences en termes de micro–angiopathies, de risque cardiovasculaire. De même nous examinons les effets d'un changement de poids et son influence sur l'évolution du syndrome, que nous tentons de mieux caractériser les critères diagnostiques qui orientent vers le diabète. Enfin nous étudions quelle est la contribution au risque de diabète de type 2 d'une vingtaine de variants génétiques correspondant à une dizaine de gènes. »

Mais deux équipes seulement centrées sur la génétique descriptive, est–ce suffisant ? « La recherche sur le diabète va plutôt bien, mais il est vrai que certains domaines sont moins bien représentés que d'autres », souligne Claire Lévy–Marchal. « Si on se sent quelque peu esseulé dans cette discipline, c'est bien plus un problème structurel qu'un problème de financement, reprend Beverley Balkau. Il existe en France de très bonnes écoles d'épidémiologie, mais les élèves ont plutôt tendance à se lancer dans les statistiques d'essais cliniques ou à rejoindre l'industrie pharmaceutique. Sûrement faudrait–il plus de bourses afin d'attirer de jeunes chercheurs... »

[1] Charkaluk ML, Czernichow P, Levy–Marchal C. Incidence data of childhood–onset type I diabetes in France during 1988–1997: the case for a shift toward younger age at onset. *Pediatr Res.* 2002 Dec;52(6):859–62.

[2] Detournay B, Raccach D, Cadilhac M, Eschwege E. Epidemiology and costs of diabetes treated with insulin in France. *Diabetes Metab.* 2005 Jun;31(3 Pt 2):3–18.

[3] Simon D, Eschwege E. Données épidémiologiques sur le diabète de type 2. *BEH.* 2002 May 21;20/21:86. [PDF]

[4] Site de l'étude D.E.S.I.R

Focus sur ...

Le Département Animation et partenariats scientifiques (DAPS)



Directrice : Marie–Catherine Postel–Vinay

Inserm–Actualités

Le Département Animation et partenariats scientifiques (DAPS) met en œuvre et accompagne la politique d'animation scientifique de l'Inserm. Voici ses missions :

- Préparer les actions de programmation avec l'ensemble des partenaires,
- En assurer la visibilité auprès de la communauté scientifique nationale et internationale,
- Assurer la gestion des appels à projets,
- En produire le bilan et les indicateurs de suivi.

Le département est organisé en **3 pôles** :

Le **Pôle "Veille scientifique"** assure, d'une part, la gestion de la Banque d'information sur les recherches (BIR) chargée de :

- la collecte et la saisie des données concernant les structures de recherche et les personnels ;
- la validation des données, l'administration du Référentiel Commun des Structures de l'Inserm ;
- l'exploitation des données pour répondre aux demandes émanant des ministères, de la direction générale et des départements de l'Inserm. Cette activité consiste en la production d'états des lieux, de bilans et d'indicateurs de suivi sur les domaines de la recherche biomédicale.

D'autre part, le pôle veille scientifique organise, en coordination avec le Département de l'Information scientifique et de la communication, des bases de connaissances portant sur les domaines de la recherche biomédicale et les sites web des programmes nationaux de recherche.

Le **Pôle "Programmation et gestion de projets"** est chargé de la préparation et du suivi des actions :

- des Comités d'interface, des 24 comités créés entre l'Inserm et les représentants des sociétés de spécialités médicales
- des Groupes inter-organismes : L'Inserm et le CNRS, avec ses 2 départements STIC (Sciences et Technologies de l'Information et la Communication) et SPI (Sciences pour l'Ingénieur) ont mis en place deux groupes de proposition : STIC–Santé–Inserm et SPI–Inserm qui lancent des appels à projets et préparent des colloques ("nanotechnologies" et "systèmes complexes du vivant")
- des Programmes nationaux de recherche / Instituts virtuels : Quatre programmes nationaux de recherche (PNR), maladies cardiovasculaires, diabète, maladies ostéo–articulaires et nutrition et l'Institut Virtuel de Recherche en Santé Publique ont été créés en 2003. Les 4 PNR ont lancé des appels à projets en 2004.

La **cellule Inserm–ANR**, inter-départements, a été mise en place pour assurer la gestion scientifique et administrative des Programmes thématiques, pour le compte de l'Agence Nationale de la Recherche (GIP ANR).

Le Pôle "Plates–formes de Recherche" exerce, dans le cadre de RIO (réunion inter-organisme) avec le Réseau National des Génopôles les missions de recensement et d'accompagnement des plateaux techniques et plates–formes de recherche dans la mise en place des critères de la charte. Il assure la coordination de ces missions entre l'Institut, le CNRS, le CEA et l'Inra.

- L'Inserm et l'ANR, un même élan contre le diabète
- Diabète : chronique d'une explosion annoncée

- La cellule bêta, cette familière inconnue
- Du labo vers la clinique : une vraie continuité
- Génétique multifactorielle et génomique fonctionnelle
- Vers un centre thématique de recherche sur le diabète à Paris

Hommage à
Pierre Potier

« Lorsque je me suis découvert un diabète de type 2, j'ai pensé qu'il y avait des dérèglements mal compris et je me suis observé, allant même jusqu'à l'extrême limite du danger pour voir ce qui allait arriver » disait Pierre Potier en mars 2002, lors d'un entretien avec S. Mouchet et J.F. Picard. Ainsi ces dernières années, travaillait-il avec son équipe sur l'hypothèse que la flore intestinale jouerait un rôle essentiel dans l'évolution du diabète de type 2, pouvant expliquer la résistance à l'insuline caractéristique de cette nature de diabète. Ils étaient sur le point de mettre sur le marché un nouveau traitement de cette maladie.

Pharmacien et docteur ès sciences physiques, directeur de l'Institut de chimie des substances naturelles du CNRS à Gif-sur-Yvette, Pierre Potier a été directeur général de la recherche et de la technologie au Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche de 1994 à 1996. Ses travaux se situent à l'interface de la chimie et de la biologie. « Pierre Potier est l'un des plus beaux exemples de chercheurs dont les découvertes essentielles sont obtenues grâce aux synergies entre les équipes de chimie et des sciences de la vie (1) . Et le succès mondial des deux médicaments anti-tumoraux Navelbine® et Taxotère®, développés par deux laboratoires français, illustrent par ailleurs la réussite d'un partenariat exemplaire entre la recherche et l'industrie qui valorise la recherche fondamentale ».

Pierre Potier est décédé à Paris le 3 février 2006.

(1) "Depuis très longtemps, je l'ai dit et écrit « La chimie est à la biologie ce que le solfège est à la musique ». Il n'y a aucune exception à cela. On peut faire de la musique sans connaître le solfège, comme on peut être biologiste sans être chimiste, mais les œuvres des musiciens qui ne savaient pas écrire les partitions se sont perdues, les autres non." (Pierre Potier, même entretien, mars 2002).



Ilot de Langerhans humain isolé immédiatement avant sa ré-implantation : "le gold standard ?"

Crédit Photo : © Francois Pattou – Université de Lille

2

La cellule bêta, cette familière inconnue

La greffe d'îlots, Saint-Graal de la recherche sur le diabète de type 1 ? Certes, restaurer la sécrétion endocrine dans le pancréas est le but ultime de nombre de travaux actuels, mais bien d'autres privilégient la voie de la prévention, en évitant la destruction des îlots de Langerhans avant qu'il ne soit trop tard. Or à l'heure actuelle, tant les mécanismes de l'auto-immunité que la physiologie de la cellule bêta gardent une grande part de mystère.

De la formation des cellules β

Deux unités Inserm travaillent de concert dans la recherche sur le développement du pancréas. D'un côté, celle de Raphaël Scharfmann (E363 "Développement normal et pathologique des organes endocrines", Paris, Necker-Enfants Malades), qui cherche à comprendre comment les progéniteurs embryonnaires se différencient en cellules β , et comment cette différenciation est régulée via des signaux intercellulaires. Son groupe a mis au point un modèle qui réplique *in vitro* le développement du pancréas.

« Notre objectif final est de développer des sources alternatives de cellules β , explique-t-il, afin pallier le faible nombre de donneurs de pancréas, l'un des facteurs limitants majeurs des transplantations d'îlots pancréatiques. »

De l'autre côté, l'équipe de Gérard Gradwohl (U682 "Développement et physiopathologie de l'intestin et du pancréas", Strasbourg) tente d'identifier les mécanismes génétiques et transcriptionnels impliqués dans les processus de néogenèse des cellules β . Elle a remporté un premier succès avec la caractérisation du gène *Neurogenin3*, qui code pour un facteur de transcription clé pour l'engagement endocrine des progéniteurs pluripotents du pancréas embryonnaire. Et tout récemment elle vient de découvrir, en

collaboration avec le groupe belge de Harry Heimberg – dans le cadre du *Beta Cell Biology Consortium* (NIH) un nouveau facteur de transcription régulée par Neurogenin3, IA1/Insm1, sans lequel la formation de cellules endocrines (α et β) est réduite de 40 % au sein du pancréas embryonnaire.

Un nouveau maillon d'une chaîne que les deux équipes tentent de "disséquer" ensemble, en partenariat avec le Généthon dans le cadre d'un réseau mis en place lors du premier appel d'offre du PNRD (voir article 1 du Dossier), avant d'envisager un jour de contrôler cette chaîne pour induire la différenciation en cellules β . « *Il s'agit d'une mission de recherche très cognitive au départ, mais elle a pour objectif de mettre au point de nouvelles approches en thérapies cellulaires et régénératrices du pancréas endocrine* », insiste Raphaël Scharfmann.

Comprendre et prévenir la destruction des îlots

Comment la cellule β est-elle "vue" par les cellules T auto-réactives ? C'est la question à laquelle tente de répondre Peter Van Endert et son équipe de l'U580 "Présentation antigénique et tolérance immunitaire : mécanismes et impact dans le diabète auto-immun" (Paris, Necker-Enfants Malades) dans un projet financé par l'ANR (voir article 1 du Dossier). Dans un premier temps, ils s'attachent à évaluer plus de 25 peptides candidats susceptibles de faire office d'épitopes auto-antigéniques reconnus par les lymphocytes T CD8+ des patients atteints par un DID. Pour cela, ils utilisent un modèle de souris NOD transgénique pour HLA-A2 développant un diabète spontané. A partir des peptides qui ressortent le plus, il sera alors envisageable de mettre au point des stratégies visant à induire une régulation, une tolérance par déviation de la réponse auto-immune.

« Il faudra tout de même s'inquiéter des potentiels effets délétères chez l'homme d'une injection peptide, précise Peter Van Endert : cela provoque parfois les effets souhaités, comme dans certains cancers, mais on a vu que dans la sclérose en plaques cette procédure pouvait être un facteur aggravant. Ce serait très beau de pouvoir dévier les réponses auto-immunes chez l'homme, mais je serais déjà content si cette démarche peut être utile pour la mise au point de tests diagnostics. »

Ces tests diagnostics, réalisés en phase très précoce, dès le début de la destruction des îlots, pourraient être particulièrement précieux pour une autre équipe de l'U580, celle de Lucienne Chatenoud et Jean-François Bach. Les résultats de phase II obtenus dans une étude sur 80 personnes avec un anticorps anti-CD3 sont particulièrement encourageants pour la prévention du diabète, à condition qu'il soit pris suffisamment tôt. Pour la première fois, il est démontré qu'un traitement de ce type peut préserver la fonction des cellules β résiduelles pendant au moins 18 mois. « *On ne comprend que partiellement à l'heure actuelle comment un anticorps qui cible tous les lymphocytes T comme l'anti-CD3 permet, lorsqu'il est administré à un moment précis du développement de la maladie, d'obtenir une réponse spécifique de l'antigène*, tempère Lucienne Chatenoud. *Mais l'important est que l'effet thérapeutique est important. Notre but maintenant est de trouver*

les meilleures conditions d'administration du produit afin de perfectionner le protocole thérapeutique. »

Restaurer la fonction insulino–secrétrice

In fine, le but est d'interrompre le processus de destruction des îlots, et éventuellement de restaurer la fonction insulinosecrétrice à l'aide de transplantation d'îlots. C'est le domaine de François Pattou et de son équipe ERIT–M106 "Thérapie cellulaire du diabète", qui, au sein du CHU de Lille, a acquis déjà plus de 10 ans d'expérience en la matière. « *Jusqu'en 2000, de nombreux spécialistes ne donnaient pas cher de la peau de la transplantation d'îlots, se souvient le chirurgien lillois. Jusqu'à, en fait, la publication des résultats spectaculaires d'une équipe canadienne à Edmonton, qui réussissait enfin grâce à un nouveau protocole d'immunosuppression. En reprenant ce dernier, nous avons réussi à répliquer leurs résultats, ce que moins de 5 équipes au monde sont parvenues à faire jusqu'à présent. Sur 12 patients inclus dans cet essai soutenu par le PHRC, tous les greffons restent fonctionnels jusqu'à 3 ans après la greffe. Neuf patients sont pour l'instant toujours insulino dépendants* ».

Après cette "preuve de concept", l'équipe tente maintenant d'améliorer les résultats des greffes. Pour limiter les pertes très importantes d'îlots lors de leur injection (et à terme réduire le nombre de donneurs pour un greffé), elle prépare, après des résultats prometteurs chez le porc, un nouvel essai testant chez 12 patients l'intérêt de l'administration d'anti–thrombine recombinante, une molécule innovante aux propriétés anti–coagulantes et anti–inflammatoires. Enfin, elle poursuit en parallèle des recherches plus fondamentales sur les cellules canalaire du pancréas, en essayant de favoriser la différenciation des précurseurs endocrines qu'elles pourraient contenir. « *Cette voie–là est encore très controversée, mais plusieurs travaux récents supportent notre hypothèse et on pourrait en attendre une amélioration importante de la quantité de cellules fonctionnelles chez le receveur* », explique François Pattou.

Et de poursuivre : « *Ces recherches cliniques sur l'allogreffe préfigurent ce qui sera peut-être une nouvelle approche thérapeutique du diabète fondée sur la restauration de l'insulinosécrétion endogène. Ces résultats sont donc aujourd'hui essentiels pour orienter les travaux qui s'intéressent à la production de cellules pancréatiques en amont* » La boucle bouclée ? Jean–François Bach veut y croire : « *La recherche sur le diabète de type 1 me paraît être à un tournant, car on commence à bien comprendre sa physiopathologie et ses mécanismes. Des traitements efficaces sont en vue, parce que 3 voies de recherche se rejoignent enfin : la médecine régénératrice, la greffe d'îlots, et l'immuno–intervention.* »

- L'Inserm et l'ANR, un même élan contre le diabète
- Diabète : chronique d'une explosion annoncée
- La cellule bêta.

- cette famille inconnue
- Du labo vers la clinique :
une vraie continuité
- Génétique multifactorielle et génomique fonctionnelle
- Vers un centre thématique de recherche sur le diabète à Paris

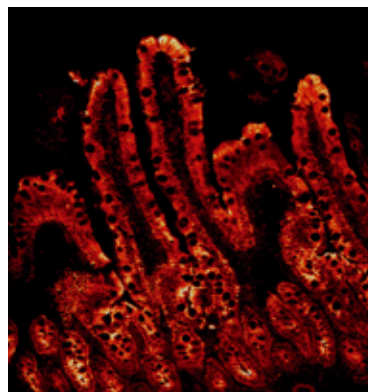
L'Inserm, en lien étroit avec les associations

Les associations de malades entendent jouer un rôle de premier plan dans la recherche. L'Association Française des Diabétiques (AFD) par exemple, qui alloue chaque année plus de 400 K€ à des projets de chercheurs confirmés en France, tant qu'ils s'inscrivent dans les axes prioritaires définis par l'Association : le remplacement de la fonction β , et la génétique du diabète et de ses complications. Mais son comité pour la recherche, bien que composé pour moitié de médecins, n'a pas l'expertise scientifique nécessaire pour juger de la qualité des projets.

C'est pourquoi elle se tourne vers le comité scientifique de l'Alfediam (Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques), qui compte en son sein plusieurs chercheurs Inserm. « *Nous avons de très bonnes relations entre nous*, indique Jean Girard, directeur du département "Endocrinologie–métabolisme" de l'Institut Cochin (U567) et président de l'Alfediam. *Le contact entre une société savante comme la nôtre et une association de patients est toujours intéressant.* »

L'AFD finance des bourses doctorales à hauteur de 30 K€, des projets d'équipe à raison de 150 K€ sur 3 ans, et exceptionnellement des projets "jusqu'à expérimentation humaine". C'est le cas (encore unique) de Raphaël Scharfmann, qui recevra une dotation annuelle importante jusqu'au passage à la clinique. « *Une aide précieuse* », selon lui, qui vient s'ajouter au soutien reçu par l'Europe (avec le *Beta Cell Therapy Consortium*), par la *Juvenile Diabetes Research Foundation* (JDRF) sans discontinuer depuis 1992, et tout récemment par les *National Institutes of Health* (NIH).

En retour, le ou les chercheur(s) intéressé(s) par les appels d'offre de l'AFD doivent s'inscrire dans une démarche originale : présenter le projet, puis des rapports d'étape bisannuels aux assemblées générales en "bon français", compréhensible par les patients. « *Il est sûr qu'un chercheur qui veut être retenu et qui ne parle que "le docteur" est perdant*, explique le Dr Guillaume Charpentier, vice-président de l'AFD et président de son Comité pour la recherche. *Mais c'est un exercice qui plaît, le plus souvent : c'est toujours très motivant pour quelqu'un toujours aux prises avec ses recherches de se confronter aux patients.* »



Glucose-6-phosphatase (Glc6Pase) intestinale mise en évidence par immunofluorescence en microscopie confocale. La Glc6Pase est l'enzyme responsable de la réaction finale de la néoglucogenèse.

Crédit : G. Mithieux & P. Besnard
© Inserm

Du labo vers la clinique : une vraie continuité

Même dans les domaines les plus pointus, l'excellence de la recherche à l'Inserm ne se cantonne pas à une simple acquisition de science pure. La recherche fondamentale, que ce soit dans l'exploration des mécanismes génétiques ou moléculaires, permet d'envisager dans le diabète de type 1 et de type 2, des avancées thérapeutiques importantes. Toutes les équipes en effet ont à cœur d'avoir, dès la conception de leurs projets, des idées concernant de futures applications utiles au patient. Quelques exemples de cas où sous le très fondamental, pointe la clinique.

Une transition évidente...

Sur le papier, les travaux de l'U145 "Actions des récepteurs tyrosine kinase sur le métabolisme, la croissance et la différenciation cellulaires : aspects physiologiques et physiopathologiques (diabète type 2, obésité, cancer)" d'Emmanuel Van Obberghen à la Faculté de Médecine de Nice, peuvent paraître fort éloignés de toute application pratique. En effet, d'un côté, l'U145 étudie le mode d'action de l'insuline dans les conditions particulières qui sont associées à la résistance à l'insuline et au diabète. Non seulement au niveau des tissus cibles classiques (muscle squelettique, tissu adipeux et foie), mais aussi sur la cellule β dont la physiologie est également influencée par l'insuline et l'IGF-1. L'U145 étudie en particulier les mécanismes de régulation négative de l'action de l'insuline/IGF-1 qui impliquent les protéines

Socs et la phosphorylation sur sérine des protéines d'ancrage IRS.

« Notre stratégie expérimentale repose sur une double approche, détaille Emmanuel Van Obberghen : in vivo (avec des souris transgéniques) et cellulaire (infection lenti–et adénovirales de cellules avec des constructions codant pour des protéines de signalisation mutées). Plus récemment, nous avons initié l'étude du rôle de molécules clefs dans l'action de l'insuline à l'aide de micro–ARN, qui diminuent le niveau des protéines, soit en réduisant le taux des messagers (effet ARNi), soit en inhibant la traduction. Enfin, nous nous intéressons, au niveau des adipocytes et du muscle, aux effets des acides aminés et de l'insuline sur le contrôle de la balance énergétique. »

Second thème fédérateur de l'unité, les complications du diabète, avec en ligne de mire le rôle du VEGF dans l'angiogenèse dérégulée au cours du diabète, et celui des produits de glycation dans la régulation de l'expression du VEGF et de l'action de l'insuline/IGF–1. *« Nos résultats antérieurs nous ont permis de démontrer que les produits de glycation dus à l'hyperglycémie chronique du diabète exercent, en plus de leurs effets délétères dans les complications associés au diabète, un effet inhibiteur sur l'action de l'insuline, et nous cherchons maintenant à déterminer les mécanismes moléculaires impliqués. Enfin dans le contexte des complications cardiovasculaires associées au diabète, nous nous intéressons également à l'action de l'insuline dans le myocarde de modèles murins du diabète. »*

Malgré ces approches « fondamentales », les applications cliniques ne sont jamais très loin : définir de nouvelles cibles thérapeutiques et/ou de prévention de la maladie, de nouveaux moyens pour combattre ses complications vasculaires et de réduire le cercle vicieux existant entre résistance à l'insuline et complications, tels sont les objectifs affichés par cette Unité Inserm à la Faculté de Médecine de Nice.

...et une frontière plus mince qu'on ne le croit

Et la frontière entre fondamental et clinique est parfois plus mince encore. Ainsi, à la Faculté de Médecine de Nice également l'U568 "Signalisation moléculaire et obésité, ", dirigée par Yannick Le Marchand–Brustel, réalise–t–elle de nombreuses études sur ce diabète de type 2, le plus souvent lié à l'obésité. De ce fait, les travaux de l'unité concernent le développement du tissu adipeux, les mécanismes moléculaires de l'insulinorésistance et les mécanismes impliqués dans le transport de glucose stimulé par l'insuline dans le tissu adipeux et le muscle squelettique. Cette unité a notamment pu montrer l'importance de la rétrorégulation du signal insulinique dans des cellules en culture et chez l'homme – en collaboration avec l'équipe d'Hubert Vidal à Lyon (U449 "Mécanismes moléculaires du diabète"), et le rôle de certaines kinases dans cette régulation négative.

Le développement spécifique d'inhibiteurs de certaines isoformes de ces kinases pourrait donc représenter une nouvelle approche thérapeutique de l'insulinorésistance, de l'obésité et du diabète. Autres cibles potentielles, les transporteurs de glucose, dont l'U568 cherche aussi à mieux comprendre les

mécanismes impliqués dans leur trafic intracellulaire. « *Ces transporteurs, intracellulaires en absence d'insuline, explique Yannick Le Marchand–Brustel, sont incorporés dans la membrane plasmique sous l'action de l'insuline, permettant ainsi l'entrée du glucose dans la cellule. Une meilleure connaissance de ce trafic, qui fait appel à des techniques d'imagerie très modernes, peut permettre de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques de l'hyperglycémie.* »

Enfin, depuis plus récemment, l'unité s'intéresse aux complications hépatiques de l'obésité, ces "maladies du foie gras non alcoolique" (plus insidieuses mais pouvant aboutir à des atteintes graves : stéatohépatite, fibrose, cirrhose), grâce à un réseau mis en place avec de nombreux partenaires cliniques du CHU de Nice. « *Notre insertion dans le futur Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire facilitera ce rapprochement avec la clinique, continue Yannick Le Marchand–Brustel. Notre but est de mettre au point des tests de dépistage de ces complications, sans recourir à la biopsie hépatique un geste non dénué de risques, et d'en comprendre l'origine. Une de nos problématiques vise à mieux comprendre les relations entre tissu adipeux et foie et leur pathologie dans le syndrome métabolique et le diabète* ». Sur cette problématique, ce laboratoire fait d'ailleurs partie du projet européen HEPADIP du 6ème PCRD, et est financé par l'ANR–COD (en collaboration avec les unités U 581 et 680) et par le PNR–D (en collaboration avec Marie–Christine Alessi, de U626 Marseille). Alors, le fondamental est-il si loin de la clinique, et de potentielles applications pour les patients ? « *La recherche fondamentale que nous menons a donc des objectifs très appliqués, et les collaborations entre l'U568 et les industries pharmaceutiques sont nombreuses, notre objectif étant le transfert de nos connaissances fondamentales vers l'obtention de nouveaux traitements du diabète.* », conclut-elle.

Jouer sur deux tableaux

Il en va de même dans de nombreuses autres unités. « *A l'U671 "Pathologies nutritionnelles et métaboliques : obésité et diabète" (Centre biomédical des Cordeliers, Paris), explique son directeur Pascal Ferré, nous faisons des recherches d'ordre très fondamental, sur les facteurs de transcription et les transporteurs de cholestérol impliqués dans le diabète notamment, mais nous menons en parallèle beaucoup d'études beaucoup plus cliniques, sur le rôle de l'environnement utérin dans la prédisposition au diabète de type 2, ou encore sur le diabète de type 1B, une forme assez rare qui touche essentiellement les sujets d'origine africaine.* »

L'avantage de jouer sur les deux tableaux ? « *Une réflexion commune : entre nos différentes équipes, tous les sujets sont discutés et réfléchis, poursuit Pascal Ferré. Nous élaborons en particulier des programmes cliniques communs. On peut par exemple étudier de manière concrète l'action de l'insuline sur les tissus périphériques, en particulier le tissu adipeux, tout en recherchant le profil d'expression des gènes impliqués. En fait, c'est un très gros apport que d'avoir un clinicien dans une unité comme la nôtre. Il s'installe un véritable échange, lui nous apportant un horizon que nous*

n'avions pas, nous lui donnant une profondeur de réflexion qu'il n'a pas nécessairement... »

- L'Inserm et l'ANR, un même élan contre le diabète
- Diabète : chronique d'une explosion annoncée
- La cellule bêta, cette familière inconnue
- Du labo vers la clinique : une vraie continuité
- Génétique multifactorielle et génomique fonctionnelle
- Vers un centre thématique de recherche sur le diabète à Paris

Zoom sur ...

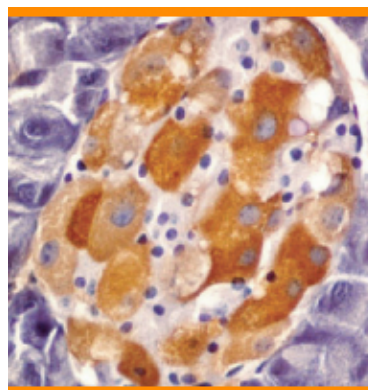
Benoît Viollet, CR2 à l'Institut Cochin (U567), dont le projet a été retenu dans le cadre du second appel d'offres du PNR-D en 2005



« La physiopathologie du diabète de type 2 est caractérisée principalement par une résistance à l'action de l'insuline qui se traduit par une incapacité de cette hormone à inhiber la production de glucose par le foie, contribuant de manière importante à l'élévation de la glycémie. Notre thème de recherche s'intègre dans une validation de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) aussi bien en tant que cible thérapeutique du diabète de type 2 que participant aux troubles de cette pathologie. »

« Nous avons récemment impliqué l'AMPK dans le contrôle de la production hépatique de glucose grâce à un modèle murin d'inactivation génique de l'AMPK spécifiquement dans le foie. Notre projet de recherche est de proposer l'AMPK comme cible thérapeutique dans le traitement du diabète de type 2. Afin d'évaluer les effets bénéfiques d'une activation chronique de l'AMPK, nous développons actuellement des modèles animaux de surexpression de l'AMPK spécifiquement dans le foie. Nous croiserons ces souris transgéniques avec différents modèles murins de diabète et d'insulino-résistance afin de mesurer l'amélioration des paramètres métaboliques. »

« Nos travaux devraient donc nous éclairer sur l'utilisation potentielle d'activateurs pharmacologiques de l'AMPK dans le traitement du diabète de type 2. »



Les cellules bêta pancréatiques qui expriment une forme constitutivement active de la kinase Akt (marquées en rouge) ont un avantage de croissance.

Crédit : Mario Pende

Génétique multifactorielle et génomique fonctionnelle

L'équipe Inserm de Pierre Bougnères à l'U561

L'équipe de Pierre Bougnères a entrepris ces dernières années une approche génétique quantitative des traits métaboliques impliqués dans les mécanismes du diabète. Ce sont surtout les formes métaboliques de diabète qui sont concernées. « Je pense que les diabètes fréquents sont trop hétérogènes sur le plan physiologique et démographique pour les aborder directement comme des phénotypes uniques, explique-t-il. Je préfère une "dissection" des phénotypes complexes en sous-phénotypes plus simples... et surtout quantitatifs. »

C'est son passé de physiologiste qui l'a mis sur cette voie. La recherche de son équipe ne se fait donc pas en utilisant des comparaisons "cas-contrôles" mais des cohortes de centaines d'enfants ou d'adolescents où des phénotypes comme la glycémie, la sécrétion d'insuline, la résistance à l'insuline, sont quantifiés dans des conditions codifiées. Une collaboration étroite avec le service d'endocrinologie-diabète de Saint-Vincent de Paul est facilitée par la proximité immédiate. L'approche est variée : des variants fréquents supposés fonctionnels (codants ou régulateurs d'expression) sont extraits de banques de données, génotypés au laboratoire puis leur association avec le trait physiologique est évaluée statistiquement.

Tellement de faux positifs ont pavé la route des études d'association qu'il a fallu développer des méthodes de validation robustes. Le critère le plus déterminant reste la démonstration des effets biologiques du variant génomique ("physiologie génomique" ou "génomique fonctionnelle"), effets assez subtils qui ne sont jamais comparables en intensité à ceux d'une

mutation mendélienne responsable d'une maladie rare. « *La mutation est en règle générale une erreur de la nature ; un polymorphisme fonctionnel, au contraire, reflète la diversité naturelle de notre espèce*, précise Pierre Bougnères. *Le variant intervient au mieux, à un seul locus, pour 5 à 10 % de la variance phénotypique totale (génétique et environnement combinés). Les effets biologiques des polymorphismes peuvent être étudiés dans des cellules transfectées, mais aussi, difficiles et passionnants, dans les propres lymphocytes des patients, qui reflètent les fonctions de beaucoup de gènes, y compris la réponse hormonale ou à certains médicaments (pharmacogénomique) ».*

De plus en plus, l'équipe étend sa collaboration avec le Centre de Génotypage pour préparer des études d'association "génomique entière" où des loci contrôlant les traits peuvent de mieux en mieux être cherchés à l'aveugle. Une étudiante travaille par exemple sur un locus contrôlant en partie la variabilité de la glycémie à jeun. Dans l'axe de cette nouvelle technique, Pierre Bougnères entreprend le montage d'une cohorte nationale de diabète auto-immun (voir encadré), qui vise le recrutement de cinq à dix mille enfants (dans cette forme de diabète, où les îlots sont trouvés détruits au diagnostic, l'étude de traits n'est guère imaginable), et est destinée à placer la recherche de gènes du diabète auto-immun précoce en première ligne de la compétition internationale. La production scientifique de cette petite équipe s'effectue depuis 2000 dans des revues telles que Nature Genetics, Physiological Genomics, Diabetes.

- L'Inserm et l'ANR, un même élan contre le diabète
- Diabète : chronique d'une explosion annoncée
- La cellule bêta, cette famille inconnue
- Du labo vers la clinique : une vraie continuité
- Génétique multifactorielle et génomique fonctionnelle
- Vers un centre thématique de recherche sur le diabète à Paris

Zoom sur ...

Mario Pende, CR1 à l'U584 "Cibles tissulaires et moléculaires des hormones" et lauréat Avenir 2001, dont le projet a été retenu dans le cadre du second appel d'offres du PNR-D en 2005

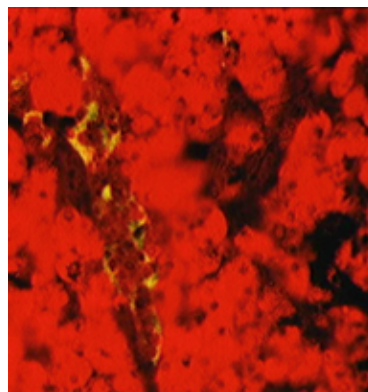


« *Les souris transgéniques surexprimant la forme constitutivement active de Akt1 sous le promoteur de l'insuline du rat (RIP-MyrAkt1) présentent de grandes cellules bêta et des niveaux élevés d'insuline plasmatique, ce qui*

améliore la tolérance au glucose. Nous avons montré que ces souris développent des insulinomes, à partir de 4 mois de vie et progressant jusqu'à une incidence de 60 % avec une viabilité compromise après 10 mois. »

« Comme les tumeurs dont l'activité de la voie Akt est dérégulée sont souvent extrêmement sensibles à la rapamycine, un inhibiteur de mTOR, nous nous intéressons au rôle du substrat de mTOR S6K1 dans les effets de MyrAkt1 sur la croissance et le métabolisme. De façon frappante, nous avons découvert que la délétion de S6K1 était suffisante pour diminuer la sécrétion d'insuline et bloquer complètement la tumorigenèse chez cette souris modèle pour la croissance des îlots. »

*« Nous étudions donc la façon dont la voie MyrAkt1/mTOR/S6K1 intervient dans la régulation physiopathologique de la croissance des cellules β pancréatiques. Par l'analyse des souris mutantes et de culture *in vitro* d'épithélium pancréatique, nous évaluerons la progression du cycle cellulaire, l'immortalisation, l'aneuploïdie, la réponse hypoxique, la production d'énergie et la différenciation cellulaire. Notre but d'ensemble est de comprendre comment la cellule β mature est programmée pour ré-entrer dans le cycle cellulaire ou pour se différencier de manière terminale. »*



Immunocytochimie de
cellules secrétant de
l'insuline dans un pancréas
transplanté chez le chien
Crédit : J.J. Duron

© Inserm

Vers un centre thématisé de recherche sur le diabète à Paris

Pierre Bougnères et Christian Boitard, tous les deux professeurs à Cochin-Saint Vincent de Paul, travaillent depuis deux ans à la réalisation d'un centre de recherche et de soins unissant des laboratoires et des services cliniques de diabétologie dans le périmètre de l'université Paris 5, dont le président Dhainaut appuie le projet. Leur intention est de réutiliser des espaces libérés par le déménagement en 2009-2010 de l'activité de soins de l'hôpital Saint Vincent de Paul pour étendre la surface actuellement occupée par l'U561.

Pierre Bougnères et Christian Boitard, tous les deux professeurs à Cochin-Saint Vincent de Paul, travaillent depuis deux ans à la réalisation d'un centre de recherche et de soins unissant des laboratoires et des services cliniques de diabétologie dans le périmètre de l'université Paris 5, dont le président Dhainaut appuie le projet. Leur intention est de réutiliser des espaces libérés par le déménagement en 2009-2010 de l'activité de soins de l'hôpital Saint Vincent de Paul pour étendre la surface actuellement occupée par l'U561.

En attendant, ils ont fondé un regroupement d'équipes intéressées par le projet ("centre virtuel"), qui se réunissent autour de projets communs dans les domaines de l'Immunologie et de la Génétique du Diabète. Les cinq équipes déjà en place à l'U561, les équipes alliées de Cécile Julier et de Mark Lathrop (CNG, Centre National de Génotypage) constituent le noyau scientifique et technique du futur centre. D'autres équipes, venues de la Faculté Paris 5 Necker ou du CNRS, pourraient les rejoindre dès 2006 dans des locaux transitoires. Un projet de CTRS (centre thématisé de recherche et de soins) incorporant plusieurs services hospitaliers de l'AP (services de Pierre

Bougnères et Christian Boitard à Saint-Vincent, Cochin, Hôtel Dieu) a été déposé début 2006 au Ministère de la recherche.

Des partenariats industriels pharmaceutiques sont en cours de discussion pour réaliser une structure "public-privé" faisant cohabiter des équipes des deux secteurs travaillant ensemble sur des contrats de recherche interactifs. Le premier partenariat sera consacré au projet "Cohortes Nationales du Diabète" conçu pour la recherche de gènes prédisposant au diabète. Ce projet mettra en interaction les services français de diabétologie, le CNG et les équipes Inserm de Pierre Bougnères et Cécile Julier.

« Le futur centre de recherche sur le diabète, tel que nous le préparons, comportera environ 10 000 m² de laboratoires et bureaux qui accueilleront une quinzaine d'équipes, précisent les deux fondateurs. Il emploiera environ 150 chercheurs, doctorants, post-doctorants, ingénieurs, techniciens du domaine public ; 25 chercheurs et techniciens du secteur privé (pharmaceutique et biotechnologique) leur seront associés. La date à laquelle le centre sera dans ses murs reste encore imprécise, mais se situe à l'horizon de l'année 2009-2010. Il reste quatre ans pour obtenir les locaux et les aménager. C'est à la fois loin et tout proche... »

Focus ...

Le diabète à l'Inserm : l'opinion de Pierre Bougnères

« Le PNRD a été utile pour renforcer des équipes performantes de l'organisme, juge Pierre Bougnères. Mais j'aimerais que l'Inserm mette le diabète au cœur d'un programme global "Génomique des Grandes Maladies" à concevoir avec le CNRG et le CEA. Ces maladies, qui représentent plus de 95 % des graves affections humaines, n'ont pas connu dans notre pays, pour de multiples raisons tenant à leur complexité, le même engouement que les maladies monogéniques rares. »



Selon lui, le thème du diabète permet de recruter de grandes cohortes, de les génotyper, de travailler sur les loci du génome et sur la combinatoire complexe des polymorphismes contrôlant les traits (recruter des mathématiciens), d'étudier les effets subtils des variants individuels dans des modèles cellulaires et animaux. Les maladies métaboliques offrent de grandes facilités pour la dissection phénotypique utile à la génétique quantitative multifactorielle, car beaucoup de leurs traits sont quantifiables, ce qui n'est pas le cas de la sclérose en plaques, de l'autisme ou du cancer.

L'étude génomique des grandes maladies, quelles que soient les maladies, utilisera des analyses génotypiques très sophistiquées, qui exigeront de l'Inserm des partenariats beaucoup plus actifs avec les grandes plates formes nationales, notamment le CNG. En parallèle, l'Inserm pourrait aussi commencer à entreprendre l'études de facteurs environnementaux des maladies multifactorielles, à l'instar du nouveau programme des NIH américains.

- [L'Inserm et l'ANR, un même élan contre le diabète](#)
- [Diabète : chronique d'une explosion annoncée](#)

- La cellule bêta, cette familière inconnue
- Du labo vers la clinique : une vraie continuité
- Génétique multifactorielle et génomique fonctionnelle
- Vers un centre thématique de recherche sur le diabète à Paris

Le projet "Cohortes Nationales du Diabète"

En 2006, un vaste projet de recrutement de cohortes de patients diabétiques sera lancé en France avec l'appui de l'Inserm à l'initiative de Pierre Bougnères et Mark Lathrop, le directeur du CNG (Centre National de Génotypage). La finalité du programme est la recherche de gènes de prédisposition aux différentes formes de diabète. La première forme de diabète visée sera le diabète autoimmunitaire de l'enfant, qui touche des milliers de jeunes patients dans notre pays. Le recrutement de jeunes diabétiques sera démarré très activement dès l'année 2006 avec un premier soutien de l'Inserm sous forme d'un réseau de recherche clinique. De nombreux centres de diabétologie pédiatrique ont été réunis par Pierre Bougnères.

« Plus besoin de fratries : l'avantage opérationnel est énorme. La technologie proposée est déjà en oeuvre au CNG, ce qui donne à l'initiative française un grand atout dans la compétition internationale. » Le programme se décline en trois grandes étapes. Phase 1 : analyse de 500 000 SNPs chez 1 000 enfants diabétiques. Phase 2 : analyse de 5 000 SNPs chez 2 000 autres cas supplémentaires. Phase 3 : Analyse de 100 SNPs chez 5 000 cas supplémentaires. Quatre années seront nécessaires pour atteindre cet objectif. Il faudra pour ces approches obtenir de l'ADN "qualité CNG".