

LA TRANSPLANTATION D'ÎLOTS DE LANGERHANS OU DE CELLULES B : UN PAS VERS LA GUÉRISON DU DIABÈTE ?

J.C. PHILIPS (1), R. RADERMECKER (1), A.J. SCHEEN (2) ET LE REGISTRE BELGE DU DIABÈTE (3)

RÉSUMÉ : Le diabète sucré et ses complications représentent une lourde charge pour la société et les patients qui en souffrent. Les traitements actuels sont insuffisants ou inadaptés au vu de l'évolution inéluctable de la maladie elle-même, du nombre de contraintes imposées aux patients et de la fréquence des complications. Une recherche originale étudie les moyens pour rétablir la boucle de régulation "glucose-insuline" chez les patients diabétiques qui ont perdu la fonction endocrine de leurs cellules B. Nous résumons les progrès récents dans le domaine de la transplantation d'îlots ou de cellules B, susceptibles, à relativement court terme, de véritablement "guérir", et non plus simplement "traiter", le diabète insulino-dépendant.

INTRODUCTION

On estime actuellement que pour l'an 2010, le nombre de patients diabétiques devrait atteindre au moins 350 millions dans le monde. Il s'agit d'un problème de santé publique colossal et le coût de cette pathologie lié à ses nombreuses complications inquiète les spécialistes et les autorités responsables des soins de santé. Si l'immense majorité de ces patients présentent un diabète de type 2, toutes les statistiques révèlent également une augmentation de la prévalence et de l'incidence du diabète de type 1.

Comme le proclamait déjà Banting dans sa leçon lors de la remise du prix Nobel de Médecine en 1923, "l'insuline n'est pas la guérison du diabète, c'est un traitement". A ce jour, les traitements conventionnels du diabète ne permettent pas d'obtenir, dans la plupart des cas, un contrôle suffisamment strict de la glycémie. De ce fait, les complications surviennent régulièrement à plus ou moins long terme, que ce soit chez le patient diabétique de type 1 (1) ou de type 2 (2). De plus, la recherche d'une normalisation de la glycémie par une intensification du traitement insulinique expose le patient diabétique de type 1 à un risque non négligeable d'hypoglycémies graves (1). Enfin, l'entrave au confort de vie des patients devant s'injecter quotidiennement de l'insuline à plusieurs reprises, en fonction des résultats d'une autosurveillance glycémique régulière, doit également inciter le monde scientifique à trouver des solutions novatrices.

(1) Assistant, (2) Professeur, Chef de service, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies métaboliques, CHU Sart Tilman, Liège.
(3) Vrije Universiteit Brussel.

ISLET CELL TRANSPLANTATION FOR TREATING DIABETES

SUMMARY : Diabetes mellitus places an enormous burden on patients, their relatives and the society. Current therapies do not provide sufficiently tight control of blood glucose to avoid diabetic complications. Some recent developments try to restore normal glucose homeostasis. Research in islet and stem cell transplantation is developing rapidly and this article summarizes the new approaches that could cure and not simply treat diabetes in the future.

KEYWORDS : *Diabetes mellitus – Insulin – Islet cell – Stem cell – Transplantation*

La transplantation du pancréas *in toto* (en greffe combinée avec le rein ou non) (3) n'est sans doute pas la solution de choix pour guérir le diabète, notamment en raison des limites imposées par le nombre restreint d'organes disponibles, des effets indésirables liés au traitement immunosuppresseur obligatoire et des complications (fistules, ...) imputables à la fonction exocrine du pancréas. Tous ces éléments sont à la base des développements récents dans le domaine de la transplantation d'îlots pancréatiques ou de cellules B, éventuellement à partir de cellules souches. Cet article présente les avantages et inconvénients de ces techniques alternatives ainsi que les grands espoirs qui en découlent.

LES GRANDS AXES DE RECHERCHE

Deux grands axes d'investigation dominent cette thématique de recherche : la technique de transplantation d'îlots, couplée à une amélioration du schéma immunosuppresseur, et les nouvelles sources alternatives de cellules productrices d'insuline (tableau I).

TABLEAU I. MOYENS THÉRAPEUTIQUES, DÉJÀ UTILISÉS EN PRATIQUE OU ÉTUDIÉS ACTIVEMENT EN RECHERCHE, PERMETTANT THÉORIQUÉMENT DE REMPLACER LES CELLULES INSULINOSÉCRÉTRICES DÉFAILLANTES DU PATIENT DIABÉTIQUE DE TYPE 1

1) *Approches actuelles*

- pancréas *in toto* (isolé ou combiné à une greffe rénale)
- îlots de Langerhans
- cellules B isolées

2) *Alternatives futures*

- xéno greffes (porc ou mieux porc transgénique)
- canaux pancréatiques
- cellules souches
 - cellules de la crête neurale ("nestine positives")
 - moelle hématopoïétique (ou même cellules sanguines)
 - cellules totipotentes embryonnaires
 - cellules obtenues par clonage

LA TRANSPLANTATION D'ÎLOTS

La technique consiste à prélever un pancréas d'un donneur en état de mort cérébrale et à en extraire les îlots de Langerhans (1 à 2 % seulement des cellules pancréatiques) (3). Ceux-ci sont ensuite injectés dans la veine porte du receveur et vont se loger dans le foie au sein des branches portes, capables alors d'y sécréter de l'insuline, tout comme dans le pancréas auparavant. Les avantages indéniables de cette technique sont, d'une part, le caractère "physiologique" de la démarche, permettant ainsi d'assurer une nouvelle boucle de régulation "glucose-insuline" endogène, et d'autre part, le moindre risque de complications en évitant les aléas procurés par les cellules exocrines du pancréas *in toto* (4). Les résultats récents, particulièrement prometteurs, de l'équipe d'Edmonton au Canada ont fortement dynamisé l'intérêt pour cette nouvelle méthode de greffe attrayante (5, 6). En pratique, plusieurs injections dans la veine porte sont nécessaires afin de garantir un nombre suffisant de cellules productrices d'insuline, condition *sine qua non* pour aboutir au sevrage de l'insulinothérapie. Cette exigence multiplie le nombre de pancréas à récolter (besoin de 2 à 4 donneurs par patient receveur), facteur limitant bien connu en transplantation, ainsi que les hospitalisations itératives pour procéder aux différentes injections successives.

Il convient de se souvenir du problème essentiel que représente le fait de recevoir des cellules étrangères. Une immunosuppression intensive est malheureusement indispensable et ce traitement anti-rejet reste un obstacle majeur à l'utilisation plus large de cette technique en raison de son coût, des contraintes imposées au quotidien, des complications à court terme (augmentation du risque d'infection) et à long terme (risque de lymphomes, ...) (6). Cette immunosuppression semble par ailleurs diabétogène en soi. Cet effet indésirable est bien connu pour les glucocorticoïdes, une des bases du traitement immunosuppresseur classique, et a été également démontré pour les immunomodulateurs de la famille des calcineurines (ciclosporine, tacrolimus) qui exercent des effets délétères sur les cellules B. Les derniers schémas d'immunosuppression utilisés chez les patients diabétiques, notamment par l'équipe canadienne (5), font appel à de nouvelles approches dont les anticorps monoclonaux anti-interleukine 2, en particulier, pour éviter le recours aux corticostéroïdes.

Un registre international tente de récolter toutes les données des différents centres impliqués dans cette nouvelle technique de façon à

publier des résultats globaux (7). Malheureusement, les chiffres n'étaient guère encourageants jusqu'il y a peu car l'indépendance complète vis-à-vis de l'insuline exogène après un an n'était obtenue que pour seulement 10 % des patients traités. Ces résultats devraient cependant être grandement améliorés dans un futur proche. L'espoir vient, notamment, des résultats de l'équipe d'Edmonton au Canada (5). En effet, cette équipe a, initialement, rapporté 100 % d'insulino-indépendance à un an chez 7 patients diabétiques consécutifs ayant bénéficié d'une transplantation d'îlots (5). Ainsi que nous l'avons discuté précédemment (6), ce succès a été attribué à différentes améliorations de la technique conduisant, notamment, à l'implantation d'un nombre plus élevé d'îlots de meilleure qualité et à l'utilisation d'un nouveau schéma immunomodulateur moins agressif pour les cellules B transplantées. Cependant, les dernières nouvelles des patients transplantés par cette équipe apparaissent un peu moins réjouissantes (8, 9). Après un suivi médian de plus de dix mois (20 mois pour le plus long), on observe que sur 12 patients, 4 ont une tolérance normale au glucose, 5 ont une diminution de tolérance au glucose et 3 doivent à nouveau reprendre des antidiabétiques oraux ou de l'insuline à petites doses (8). Les mêmes auteurs ont rapporté récemment une dernière évaluation chez 17 patients consécutifs. Parmi les 15 sujets avec au moins une année de suivi, 14 restent peptide-C positifs et 12, soit 80 %, sont indépendants de l'insuline. Tous présentent une meilleure stabilité de la glycémie et décrivent une qualité de vie améliorée, notamment sur le plan du risque hypoglycémique (9). Divers effets secondaires de la technique sont rapportés comme des thromboses d'une branche périphérique de la veine porte ou des accidents hémorragiques, dont certains ont nécessité une transfusion sanguine (8, 9). Enfin, l'utilisation des médicaments anti-rejet provoque certains effets indésirables comme une augmentation de la créatininémie, avec parfois protéinurie et hypertension, une altération transitoire des tests hépatiques et des troubles du profil lipidique (8, 9).

LES NOUVELLES SOURCES DE CELLULES B

1) La xénogreffe

Suite à la longue utilisation d'insuline porcine pour traiter les patients diabétiques, le recours à des îlots de porc avait été évoqué afin de créer un pool illimité de cellules disponibles pour la transplantation. Hélas, la barrière immunologique des xénogreffes représente un handicap

encore bien plus important que pour les allogreffes, pratiquement infranchissable dans l'état actuel des connaissances. Cependant, des progrès dans la technologie du clonage et de la génétique ont permis la création d'animaux dont certaines cellules expriment des gènes humains. Il s'agit de cochons transgéniques ("humanised pigs"). Les avantages sont la disponibilité sans limite du matériel, la disparition de la problématique liée à la xénogreffe et la possibilité d'assurer une compatibilité HLA. Cependant, un risque infectieux pourrait exister, à savoir l'existence de rétrovirus porcins capables de s'adapter à l'hôte humain (10). Actuellement, un tel traitement a été proposé à une dizaine de patients suédois. L'étude en cours est pourtant actuellement suspendue dans l'attente d'une surveillance prolongée permettant d'apporter toutes les assurances quant à l'absence de risque d'infection virale retardée (11).

2) Expansion et différenciation de cellules des canaux pancréatiques

La souris NOD représente un modèle animal bien connu pour la recherche dans le domaine du diabète de type 1. Chez la souris NOD qui est encore à un stade de "prédiabète", des cellules de l'épithélium des canaux pancréatiques ont été mises en culture et programmées pour produire des îlots fonctionnels comprenant des cellules A (glucagon), B (insuline) et D (somatostatine) (12). Des expériences ont montré que ces îlots fabriqués *in vitro* étaient capables de normaliser la glycémie lorsqu'ils étaient implantés chez des souris NOD diabétiques.

Il semble que cette approche soit également possible à partir de cellules des canaux pancréatiques humains. Dès lors, il n'y aurait plus de problème immunologique, et la technique serait par ailleurs plus facile qu'à partir de cellules souches (voir plus loin). Des équipes de chercheurs étudient les mécanismes de prolifération des cellules pancréatiques épithéliales immatures ainsi que leur différenciation. Différentes molécules jouant un rôle déterminant ont été identifiées : le "Fibroblast Growth Factor-2", la "follistatine", des "Bone Morphogenic Proteins"... Ces recherches entretiennent l'espoir de pouvoir décrypter les étapes nécessaires à la formation *de novo* d'îlots de Langerhans fonctionnels (13-15). Aucun résultat démontrant l'efficacité de cette approche originale sur le contrôle glycémique à moyen et à long terme n'est cependant disponible chez l'homme à l'heure actuelle.

3) Les cellules souches

Le but est de créer un pool illimité de cellules B allogéniques, parfaitement tolérées sur le plan immunologique (tableau I). Dès lors, les deux grandes limites au recours plus large à la transplantation d'îlots, à savoir le manque de matériel disponible et les effets indésirables de l'immunosuppression, n'existeraient plus.

Il existe une recherche déjà bien avancée dans l'identification de cellules précurseurs endocrines du pancréas en cours de développement et dans la régulation de leur différenciation. Le but final est de diriger ces cellules dans un rôle d'insulinosécrétion afin de remplacer les cellules B détruites ou défaillantes au cours de la maladie diabétique.

Des travaux récents indiquent que certaines cellules (appelées cellules souches "nestine positives", car elles expriment ce marqueur spécifique des cellules souches d'origine neurale) localisées dans les îlots de Langerhans et dans les canaux pancréatiques sont des cellules multipotentes capables de produire des nouvelles cellules productrices d'insuline. De plus, ces cellules peuvent être cultivées *in vitro* et représentent un formidable espoir pour la production de cellules B allogéniques (16). Elles permettraient d'apporter une alternative aux cellules B provenant de pancréas de fœtus issus d'avortements, utilisées par certaines équipes, ce qui ne manque pas de soulever un problème éthique évident. Un autre matériel envisageable pourrait provenir des cellules issues de la moelle hématopoïétique, voire de simples échantillons sanguins. Des cellules souches embryonnaires pourraient aussi se révéler intéressantes. Ce sont des cellules totipotentes de la blastula pour lesquelles on étudie un gène promoteur qui permettrait de les orienter à devenir des cellules productrices d'insuline. Un risque élevé de malignité semble cependant freiner ces études (17).

Enfin, certains envisagent le clonage thérapeutique. La technique consiste à transférer l'information nucléaire (et de ce fait tous les caractères propres à l'immunité) d'une cellule du patient vers un ovocyte énucléé qui servira d'hôte. Suivra le développement *in vitro* du blastocyte dans lequel vont apparaître des cellules souches embryonnaires. Le but est alors d'orienter ces cellules porteuses du caryotype du patient à se comporter comme des cellules B productrices d'insuline. Il suffirait alors de rendre ces cellules au patient diabétique. Cette possibilité d'obtenir des cellules souches embryonnaires, génétiquement semblables et

capables de générer des cellules B, permettrait d'éviter la réaction de type GVHD ("Graft Versus Host Disease").

REGISTRE BELGE DU DIABÈTE ET GREFFE DE CELLULES B

L'équipe du Professeur Pipeleers de la Vrije Universiteit Brussel (VUB) s'est intéressée à la problématique de la greffe de cellules B depuis de nombreuses années, d'abord chez l'animal puis chez l'Homme (18). Un des objectifs a été de purifier les cellules B en les isolant des autres cellules des îlots de Langerhans et des cellules mésangiales. L'espoir de cette approche était de réduire l'immunogénicité des cellules transplantées et de faciliter la culture *in vitro* de ces cellules B, ce qui, *de facto*, éviterait deux des obstacles majeurs de la transplantation, la nécessité d'une immunosuppression et la pénurie d'organe. Les premiers essais de greffe de cellules B chez l'Homme ont été réalisés chez des patients diabétiques avec insuffisance rénale terminale qui avaient bénéficié d'une greffe de rein *in toto* avec succès et qui étaient donc déjà sous traitement immunosuppresseur (19). Quelques succès prolongés ont été rapportés, apparemment chez des sujets qui avaient tous été traités préalablement par du sérum anti-lymphocytaire, ce qui plaide pour un rôle protecteur de ce type de traitement (19).

Un des objectifs initiaux de la création du Registre Belge du Diabète était de caractériser tous les nouveaux patients diabétiques de type 1 sur le plan génétique et immunologique, notamment dans l'espoir de pouvoir leur faire bénéficier à terme d'une transplantation de cellules B. Même si ce programme spécifique a connu quelque retard, l'activité du registre a permis de caractériser remarquablement cette population, de dépister les sujets à risque chez les apparentés du premier degré et d'évaluer de nouvelles méthodes pour stopper la progression de la maladie à son stade initial (20) : essai d'induction d'une tolérance immunitaire avec l'administration de faibles doses d'insuline, tentative d'immunomodulation par des anticorps monoclonaux anti-CD3, etc (21). Si les progrès récents dans le domaine de la transplantation cellulaire se confirment, un nombre croissant de patients diabétiques de type 1 pourrait bénéficier de ces nouvelles techniques de culture et de transplantation de cellules B dans un futur relativement proche dans notre pays.

CONCLUSIONS : À QUAND LA GUÉRISON DU DIABÈTE ?

Nous venons de décrire quelques nouvelles pistes qui pourraient amener les médecins à, enfin, proposer aux patients diabétiques un traitement qui restaure la boucle automatique "glucose-insuline" *in vivo*; cette solution permettrait de les libérer des contraintes et des imperfections liées aux injections pluri-quotidiennes d'insuline et à l'autosurveillance glycémique intensive. Les résultats à long terme sont, cependant, encore largement inconnus, même si la littérature internationale a rapporté le cas de plusieurs patients diabétiques de type 1 toujours indépendants de toute insuline exogène trois années après une greffe d'îlots (9, 22). L'idée est de promouvoir une utilisation plus large des transplantations d'îlots ou de cellules B dans le but de "guérir" le diabète chez un grand nombre de patients diabétiques de type 1. Cet espoir exige une accessibilité suffisante à un matériel de qualité et, si possible, un moyen de se passer de tout traitement immunosuppresseur. Une étape prometteuse est le développement de nouvelles méthodes de production *in vitro* de cellules B à partir de cellules des canaux pancréatiques ou de cultures de cellules souches. Les espoirs ultimes seraient un traitement efficace et sûr, grâce à des cellules B produites "sur mesure" par clonage ou à partir de cellules souches hématopoïétiques, ce qui procurerait un matériel illimité et dispenserait de toute intervention immunologique. Il est impossible de dire actuellement quand ce rêve deviendra réalité.

RÉFÉRENCES

1. Diabetes Control and Complications Trial Research Group.— The effect of intensive treatment of diabetes on development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1993, **329**, 977-986.
2. UK Prospective Diabetes Study Group.— Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet*, 1998, **352**, 837-853.
3. DeRoover A, Detry O, Hamoir E, et al.— Le point sur la transplantation pancréatique. *Rev Med Liege*, 2001, **56**, 557-562.
4. Serup P, Madsen O, Mandrup-Poulsen T.— Islet and stem cell transplantation for treating diabetes. *Br Med J*, 2001, **322**, 29-32.
5. Shapiro A, Lakey J, Ryan E, et al.— Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med*, 2000, **343**, 230-238.
6. Scheen AJ.— L'étude clinique du mois. Insulino-indépendance prolongée après transplantation d'îlots de Langerhans chez le patient diabétique de type 1 : l'aboutissement d'un rêve ? *Rev Med Liege*, 2000, **55**, 803-805.

7. Brendel M, Hering B, Schulz A, et al.— *International islet transplant registry*. Giessen : Justus - Liebig University of Giessen, 1999, 1-20.
8. Ryan E, Lakey J, Rajotte R, et al.— Clinical outcomes and insulin secretion after islet transplantation with the Edmonton protocol. *Diabetes*, 2001, **50**, 710-719.
9. Ryan EA, Lakey JR, Paty BW, et al.— Successful islet transplantation: continued insulin reserve provides long-term glycemic control. *Diabetes*, 2002, **51**, 2148-2157.
10. Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA.— Infections of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat Med*, 1997, **3**, 282-286.
11. Heneine W, Tibell A, Switzer WM, et al.— No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet -cell xenografts. *Lancet*, 1998, **352**, 695-699.
12. Ramiya V, Maraist M, Arfors K, et al.— Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. *Nat Med*, 2000, **6**, 278-282.
13. Polak M, Bouchareb-Banaei L, Scharfmann R, et al.— Early pattern of differentiation in the human pancreas. *Diabetes*, 2000, **49**, 225-232.
14. Scharfmann R.— *Développement des cellules du pancréas endocrine*. Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hotel-Dieu. Flammarion, Médecine-Sciences, Paris, 1999, 47-54.
15. Scharfmann R.— Control of early development of the pancreas in rodents and humans: implications of signals from the mesenchyme. *Diabetologia*, 2000, **43**, 1083-1092.
16. Zulewski H, Abraham E, Gerlach M, et al.— Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine and hepatic phenotypes. *Diabetes*, 2001, **50**, 521-533.
17. Soria B, Roche E, Berna G, et al.— Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes*, 2000, **49**, 157-162.
18. Pipeleers D, Keymeulen B, Chatenoud L, et al.— A view on beta cell transplantation in diabetes. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, **958**, 69-76.
19. Keymeulen B, Ling Z, Gorus FK, et al.— Implantation of standardized beta-cell grafts in a liver segment of IDDM patients: graft and recipients characteristics in two cases of insulin-independence under maintenance immunosuppression for prior kidney graft. *Diabetologia*, 1998, **44**, 452-459.
20. Gorus FK, Pipeleers DG, Belgian Diabetes Registry.— Prospects for predicting and stopping the development of type 1 diabetes. *Bailliere's Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2001, **15**, 371-389.
21. Philips JC, Scheen AJ et le Registre Belge du Diabète.— Essais de préservation des cellules B à la phase initiale du diabète de type 1 : résultats négatifs avec l'insuline retard, mais prometteurs avec un anticorps monoclonal anti-CD3. *Rev Med Liège*, 2002, **57**, 413-417.
22. Cretin N, Caulfield A, Fournier B, et al.— Insulin independence and normalization of oral glucose tolerance test after islet cell allotransplantation. *Transpl Int*, 2001, **14**, 343-345.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr J.C. Philips, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies métaboliques, CHU Sart Tilman, 4000 Liège.