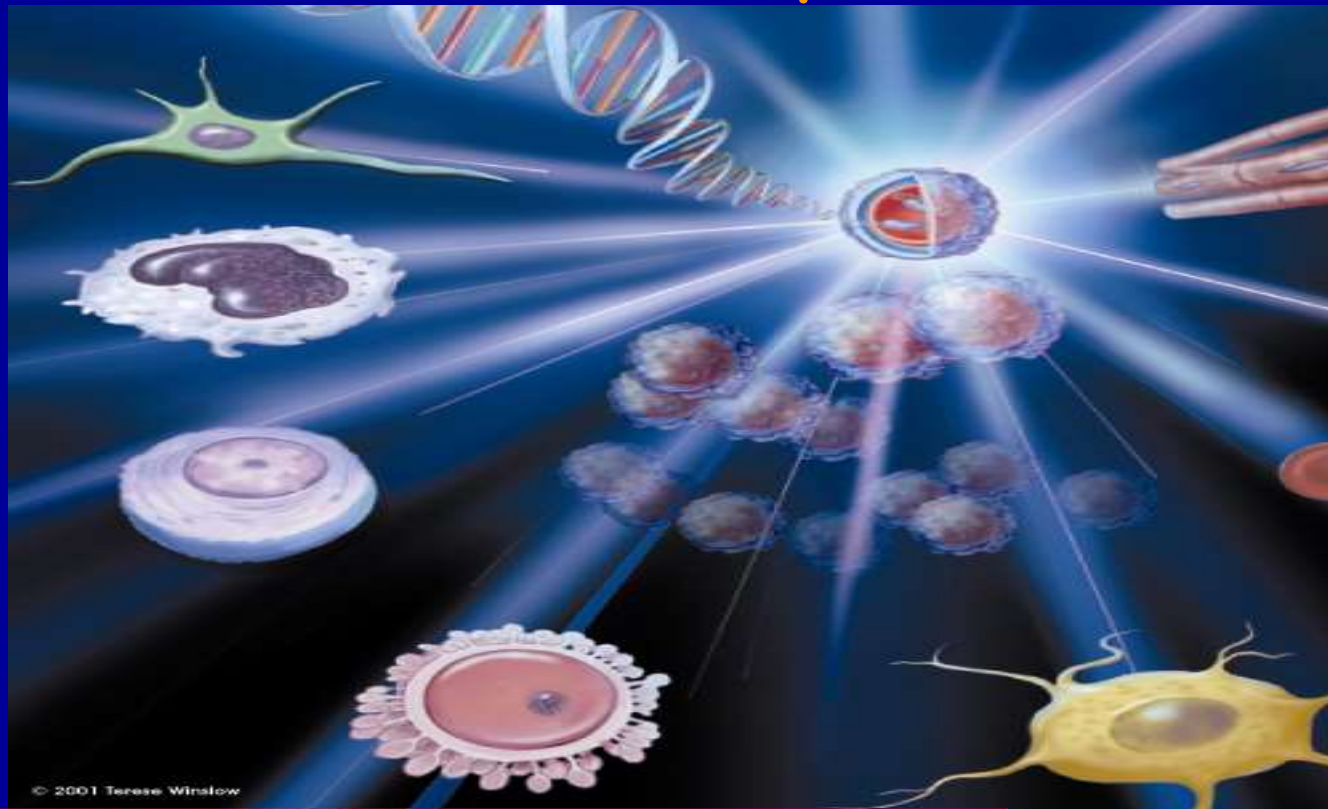
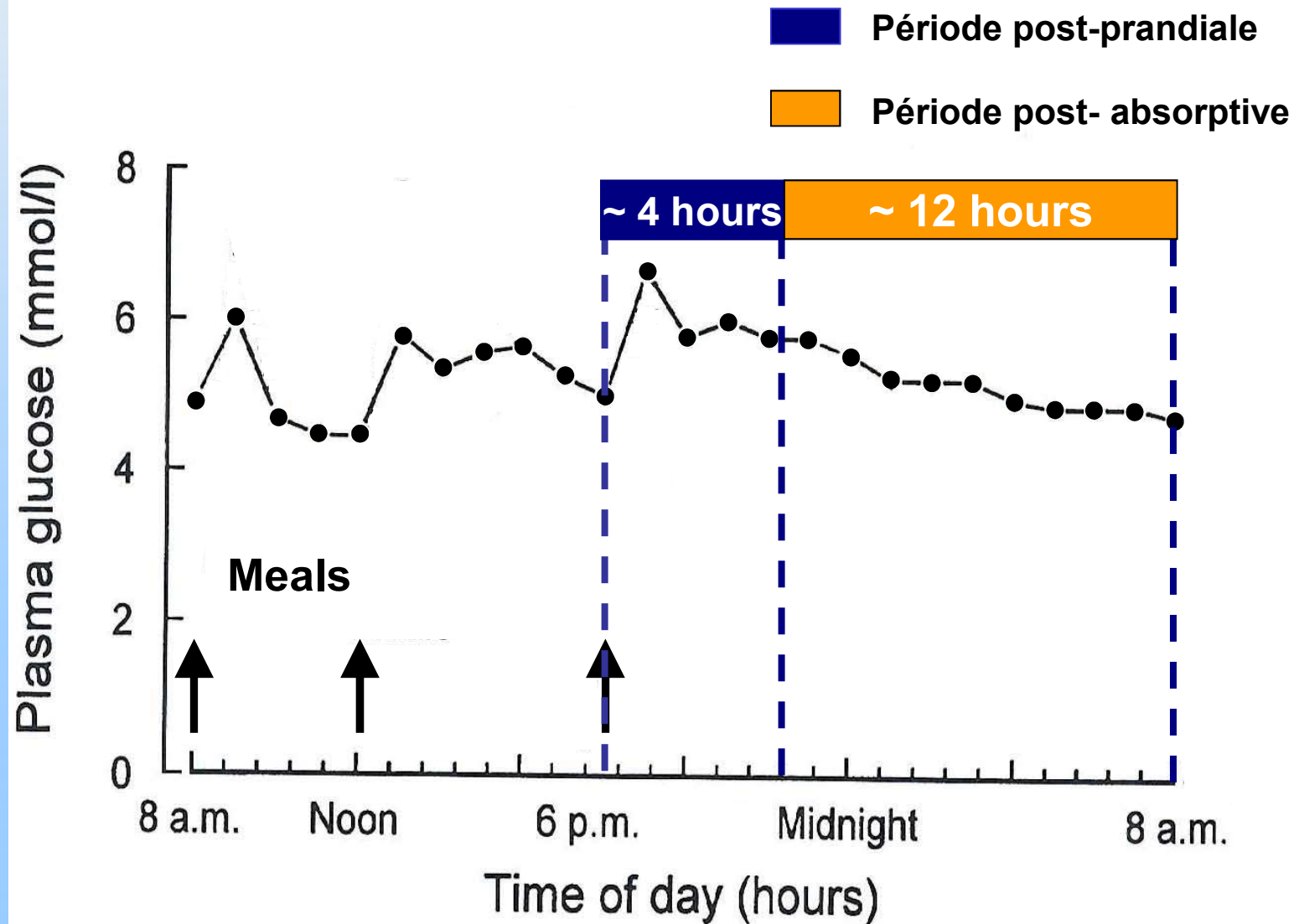


Poste 5 :Créer des cellules à insuline

A partir des cellules souches pour le
traitement du diabète?
Etat des lieux entre espoir et réalité



Glycémie sur 24 h chez un sujet normal

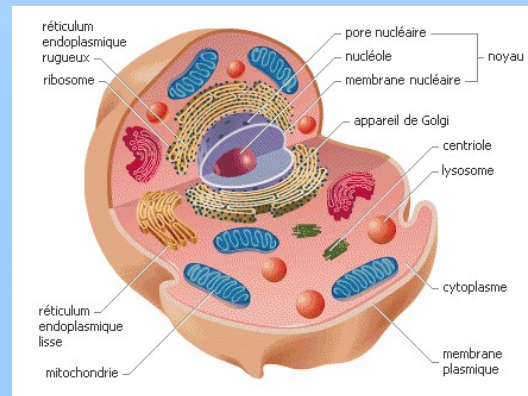
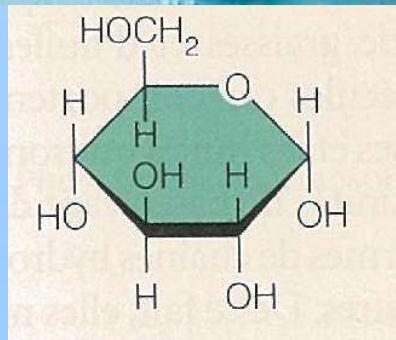


La glycémie doit être maintenue dans des limites étroites (homéostasie)

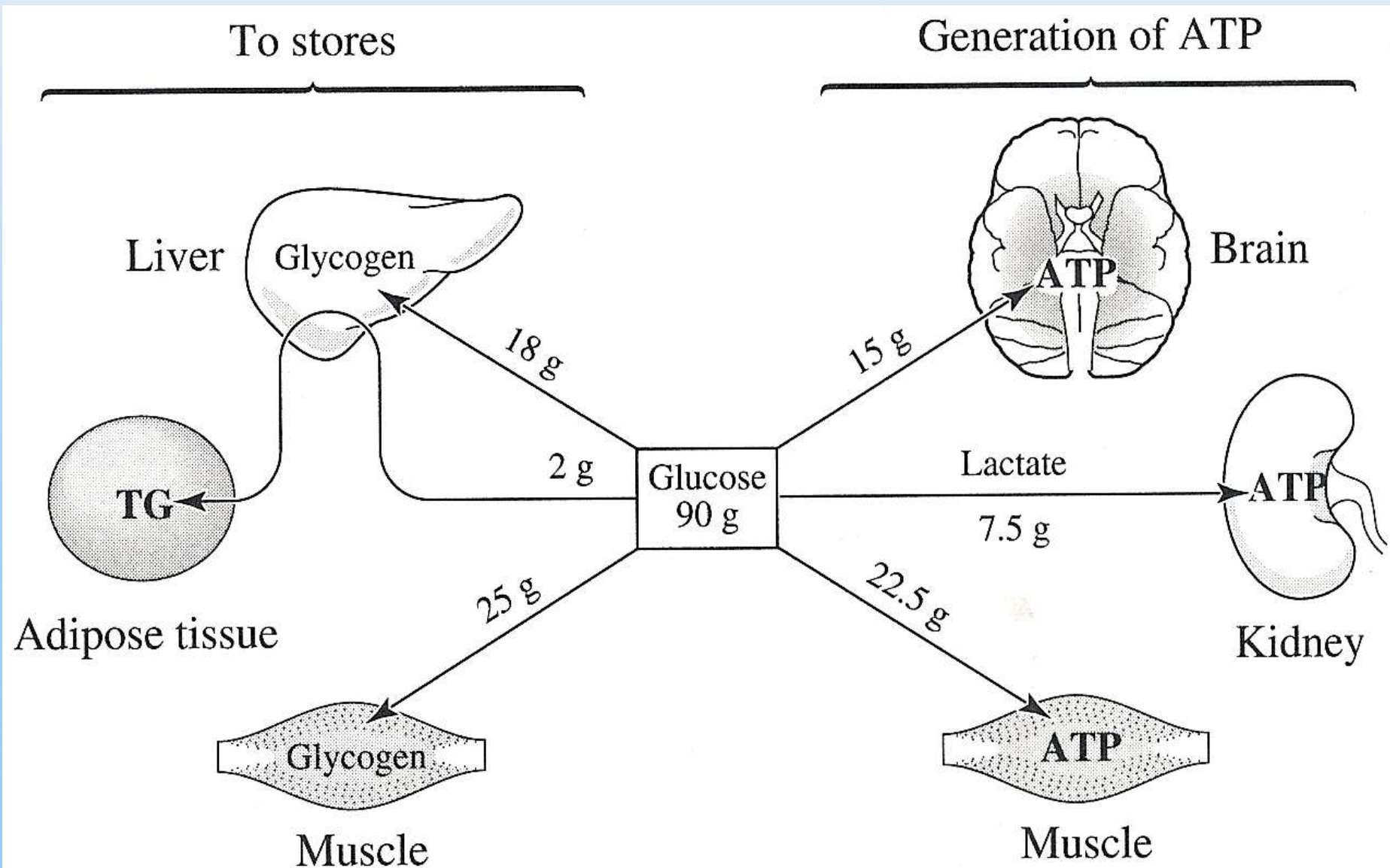
Hyperglycémie: pas d'effets immédiats
à long terme, complications oculaires, rénales, nerveuses, circulatoires, dues à l'excès de glucose (glycation des protéines modifiant leur fonction).

Hypoglycémie: effets immédiats
faim, transpiration, frissons, puis perte d'attention, confusion, coma

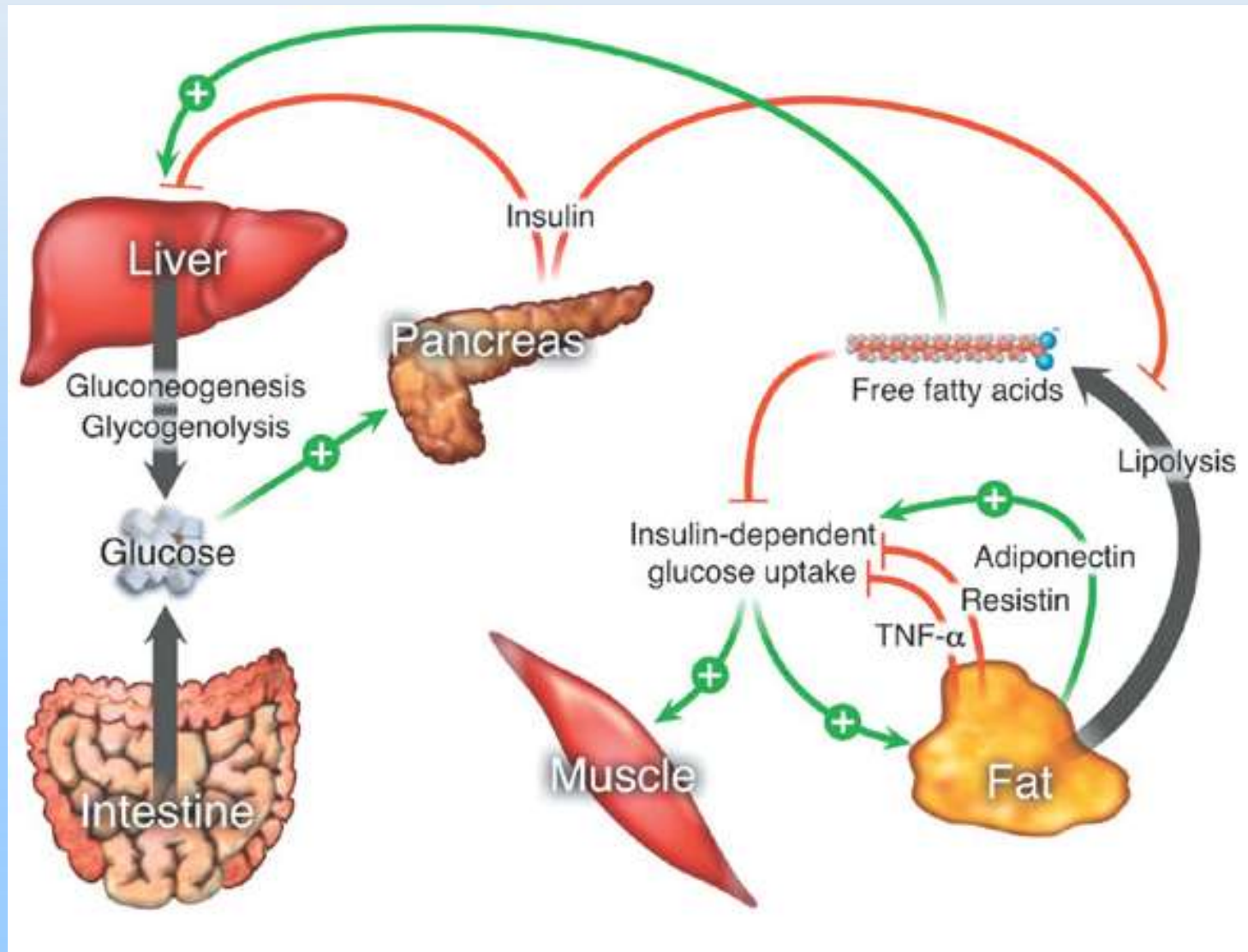
Le glucose est «brulé» par la cellule pour faire de l'énergie



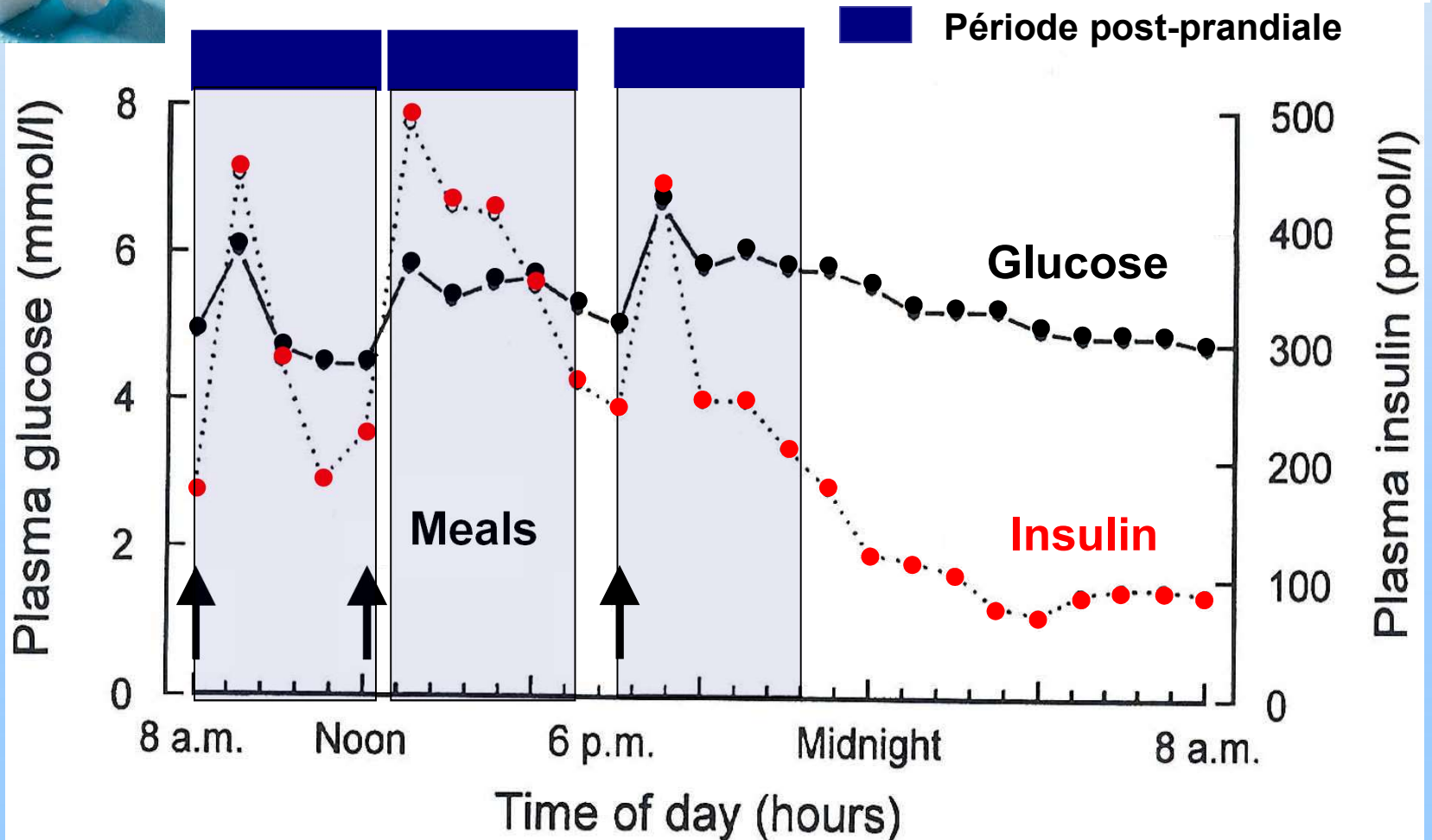
Utilisation du glucose par différents organes pendant les 3 heures qui suivent un repas riche en glucides



La glycémie résulte d'un dialogue entre les tissus



Variations du glucose et de l'insuline dans le plasma au cours de la journée



Les îlots de Langerhans: micro-organes régulateurs du glucose sanguin

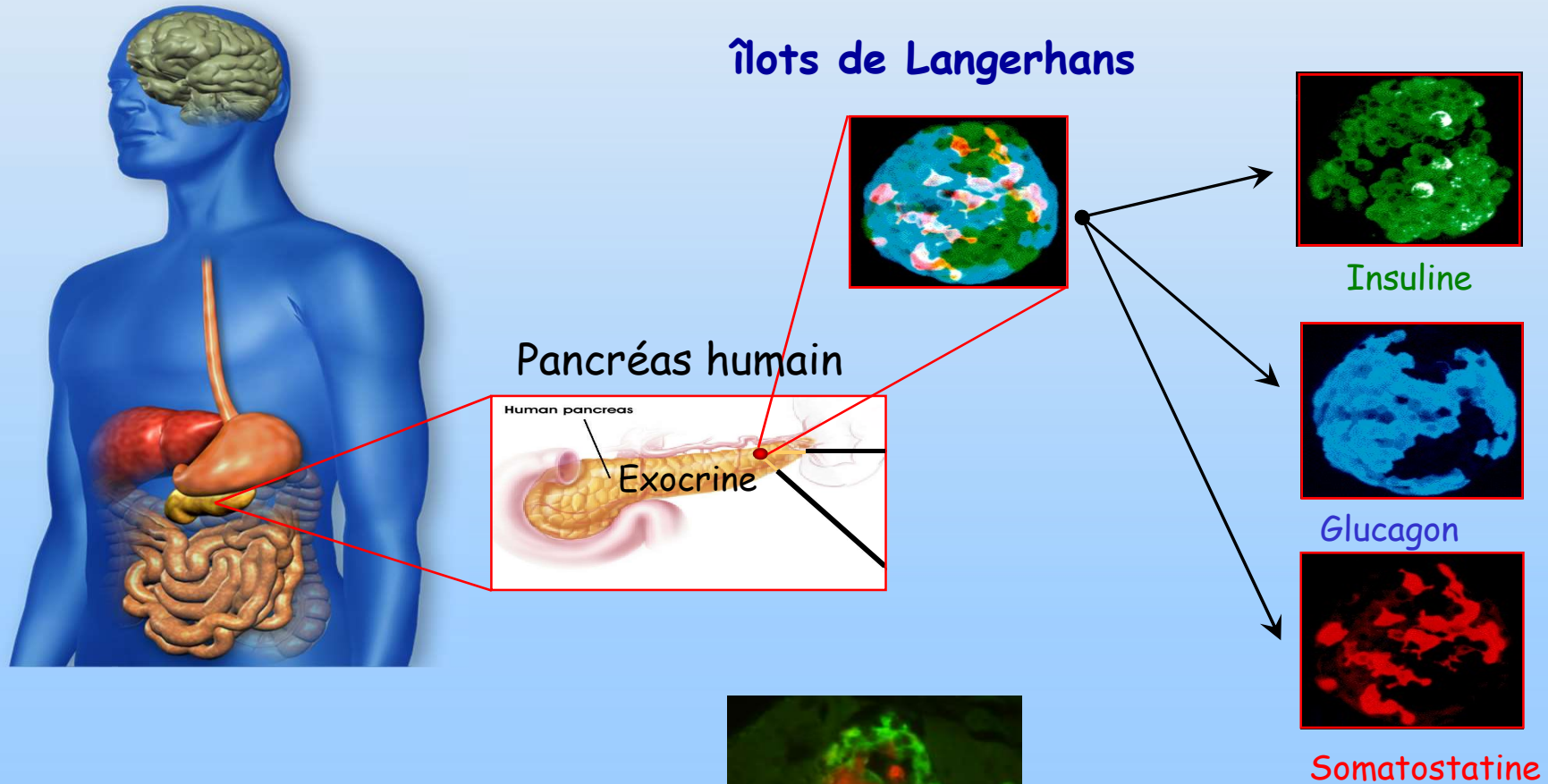
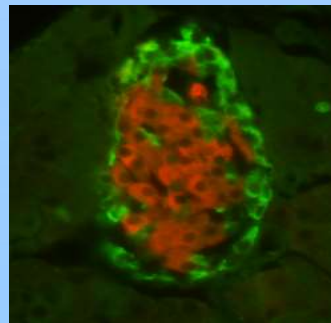
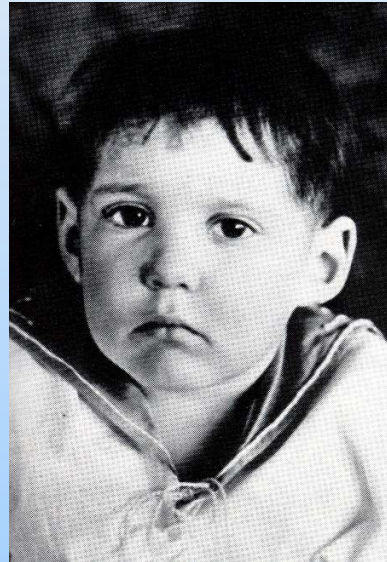


Image par
immunofluorescence



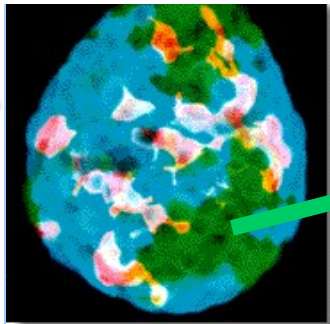
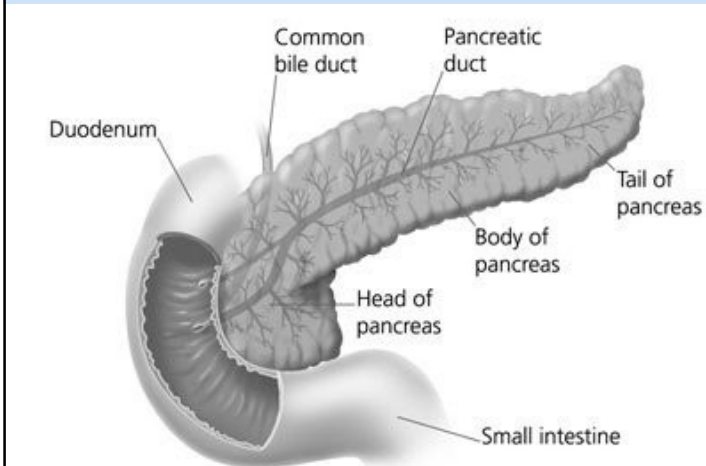
Courtesy of Prof. P Maechler

Diabète pour un patient: un avant et un après

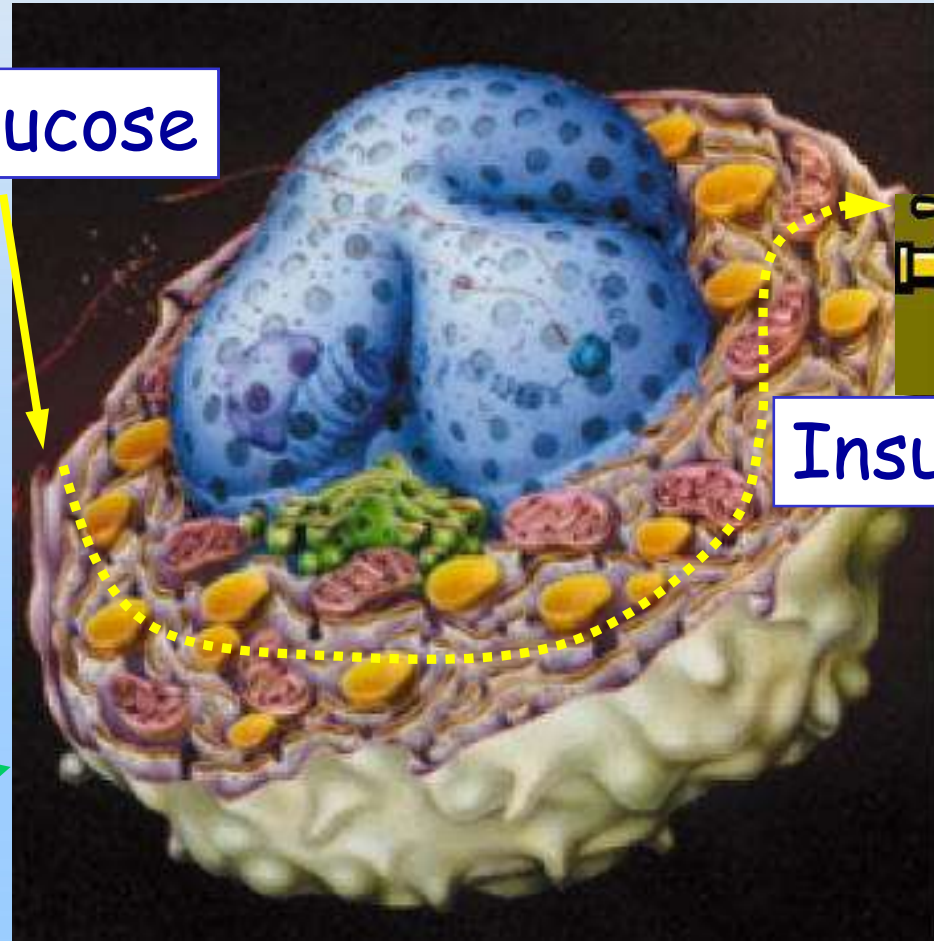


Leonard Thompson premier enfant à recevoir de l'insuline en janvier 1922

La cellule β (bêta): détecteur du sucre



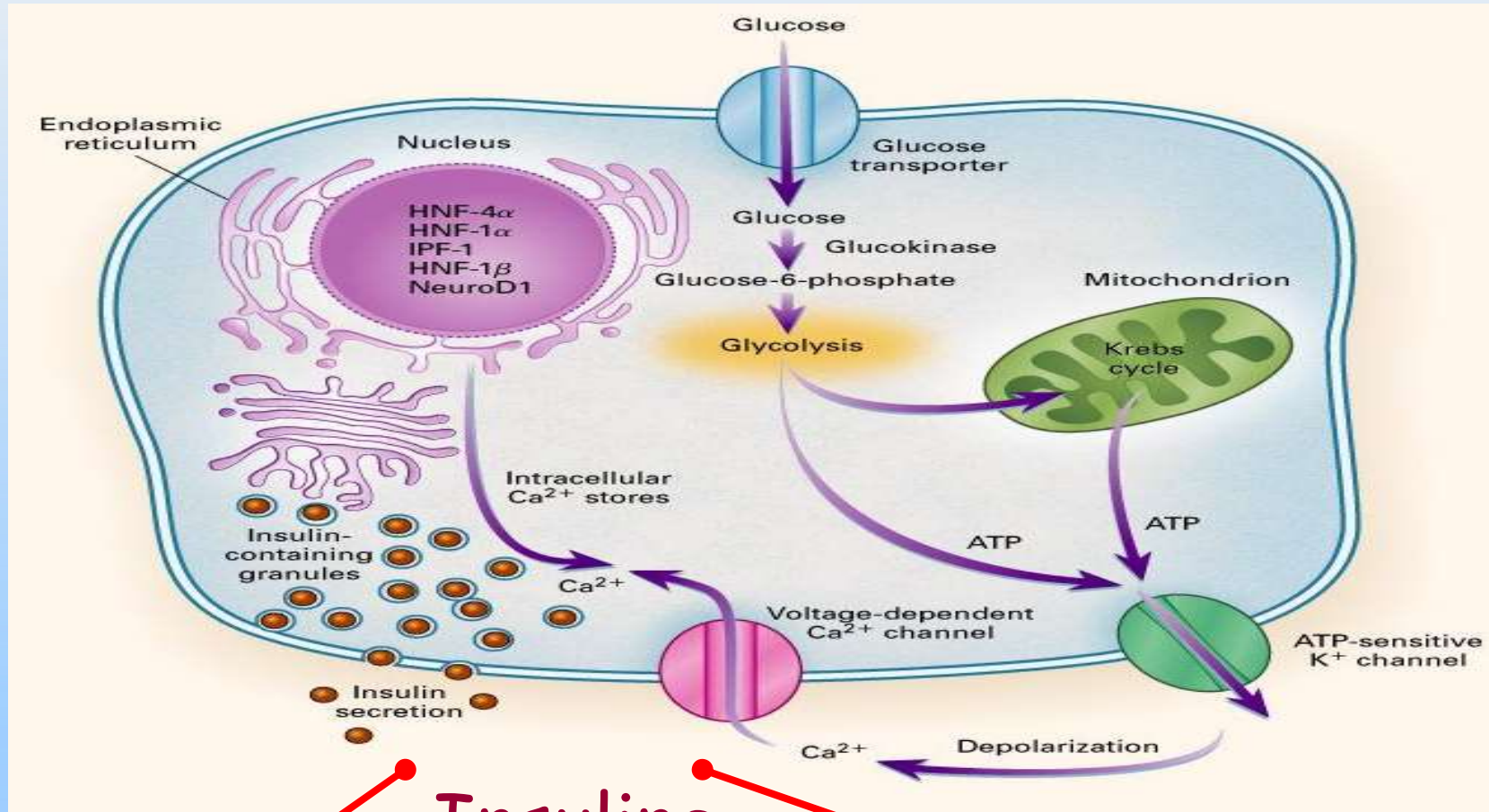
Glucose



Insuline

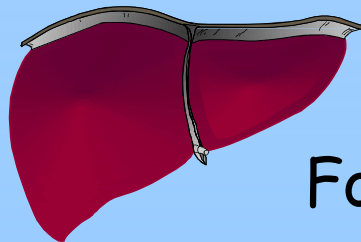
Courtesy of Prof. P Maechler (poste 1)

La cellule β (bêta): détecteur du sucre



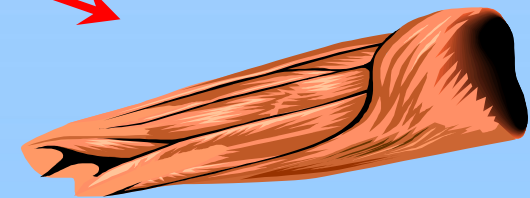
Insuline

Stockage du glucose



Foie

Muscle



Diabète

Maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie, due à un défaut de sécrétion d'insuline.

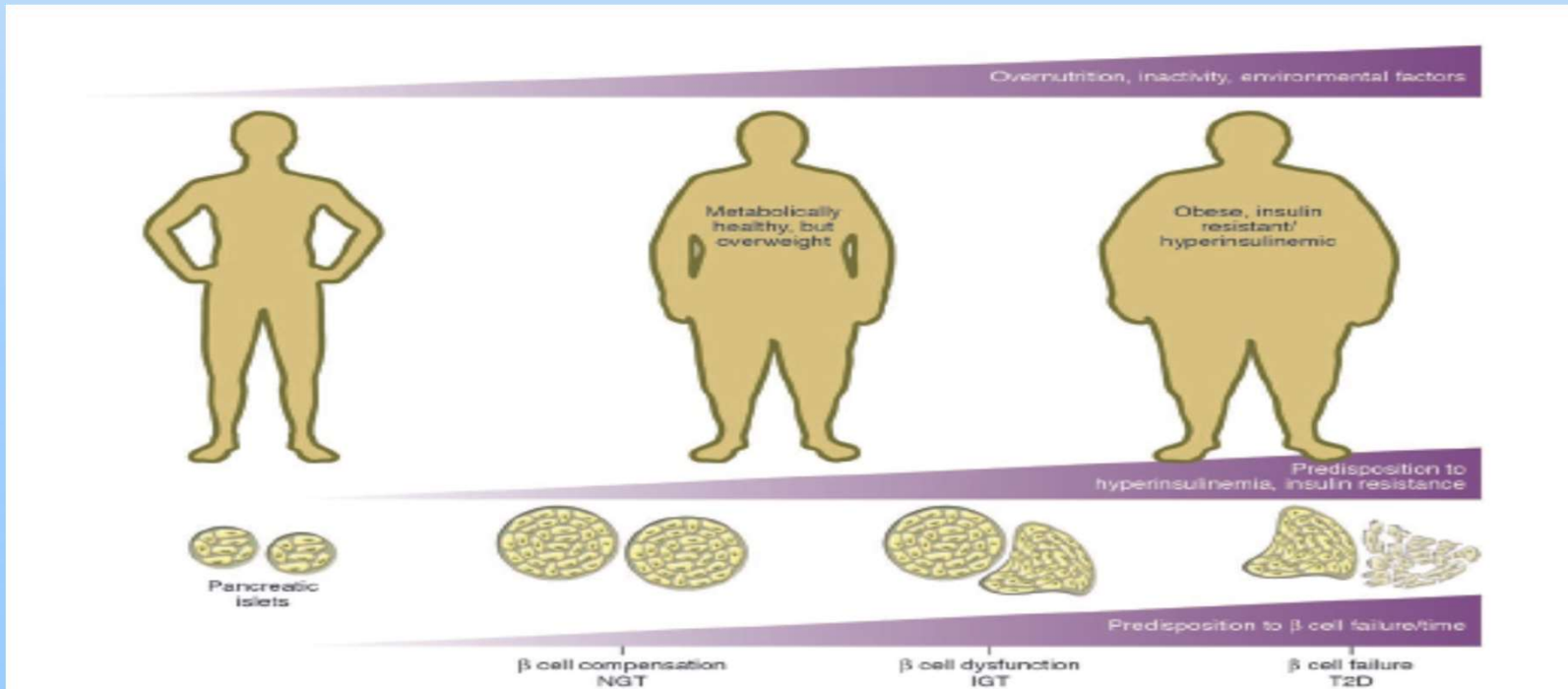
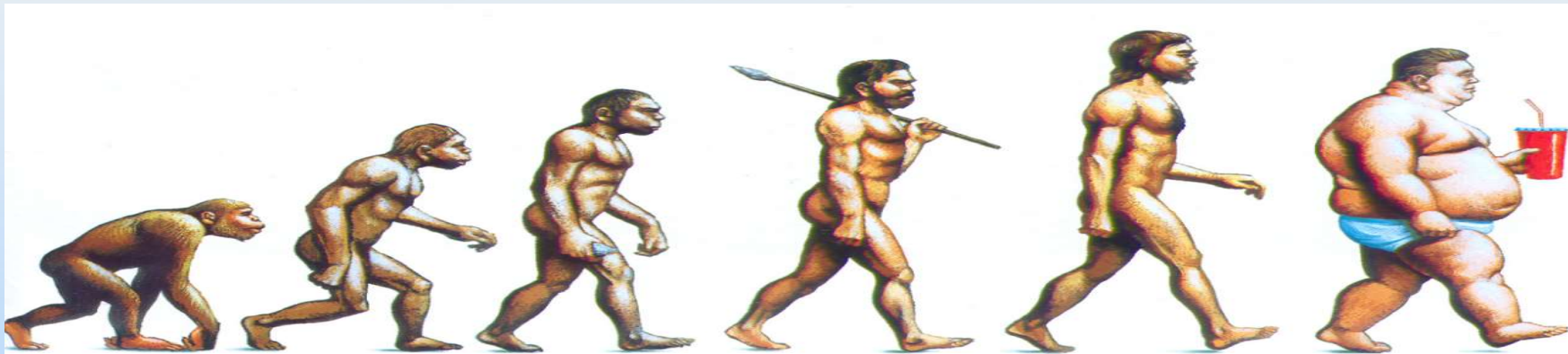
cause des complications à long terme (oculaires, rénales, cardiovasculaires, nerveuses, etc...)

Diabète de type 1 : destruction auto-immune progressive des cellules β

Diabète de type 2 : résistance des cellules β du pancréas à sécréter l'insuline

Au moins 50 % des personnes atteintes de diabète ne sont pas au courant de leur état !!

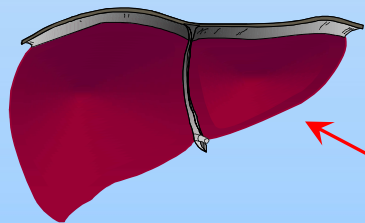
Développement du diabète de type 2



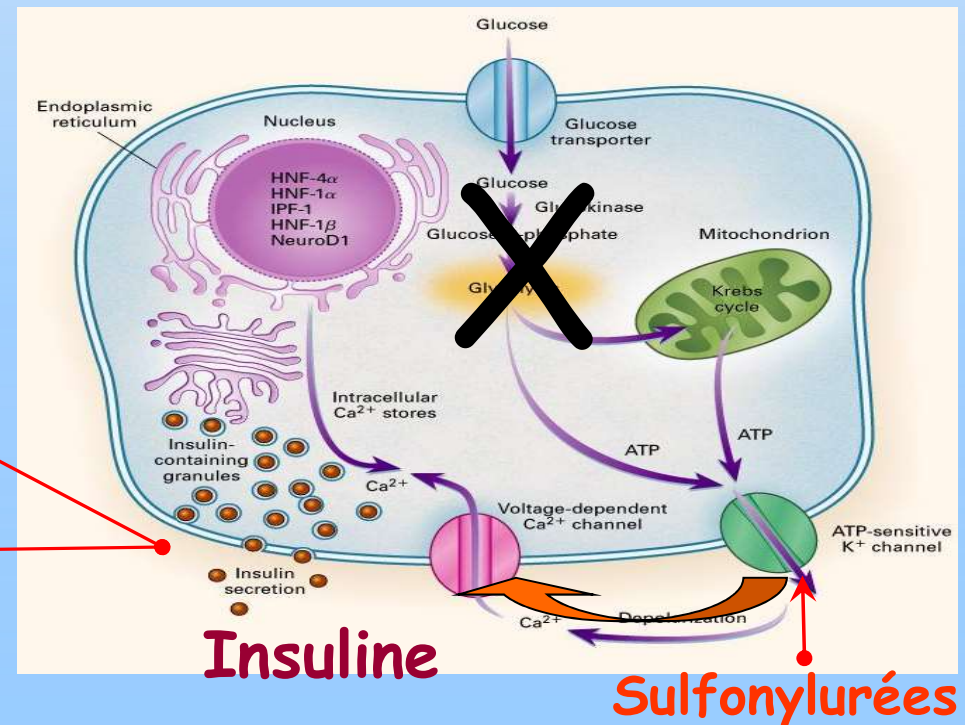
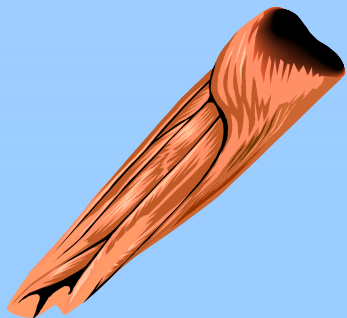
Traitements actuels (Réalité!)

Diabète de Type 2

- Régime alimentaire et exercice physique
- Agents pharmacologiques permettant:
 - l'augmentation de la libération d'insuline (sulfonylurées)
 - une meilleure sensibilité des tissus cibles (foie, muscles...)



Stockage du
glucose augmenté



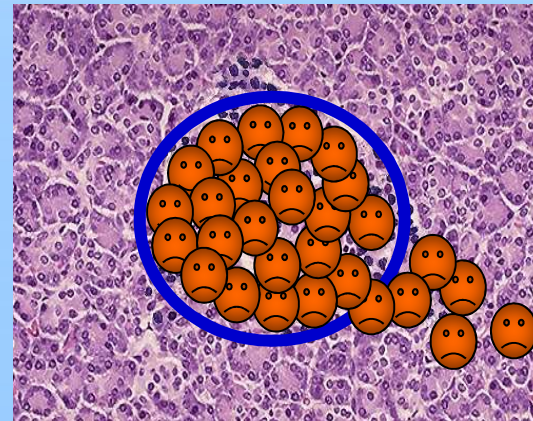
Diabète de type 1 : diabète insulino-dépendant

- Population mondiale souffrant du diabète de type 1 : 6 millions
- Nombre d'enfants atteints : 430 000
- Représente 10 % des diabètes
- L'organisme s'attaque aux cellules bêta des îlots de Langerhans (réaction auto-immunitaire)
- Destruction totale des cellules à insuline

Ilots sains



Ilots de diabétique de type 1



Traitements actuels (Réalité!)

Diabète de Type 1

- ✿ **Traitement de choix: Injections multiples d'insuline**

Permet jusqu'à un certain point un bon contrôle du glucose sanguin

Si et seulement si

Une instabilité glycémique entraîne des complications aiguës:

- ✿ Greffe du pancréas \longleftrightarrow Reins

Intervention chirurgicale lourde

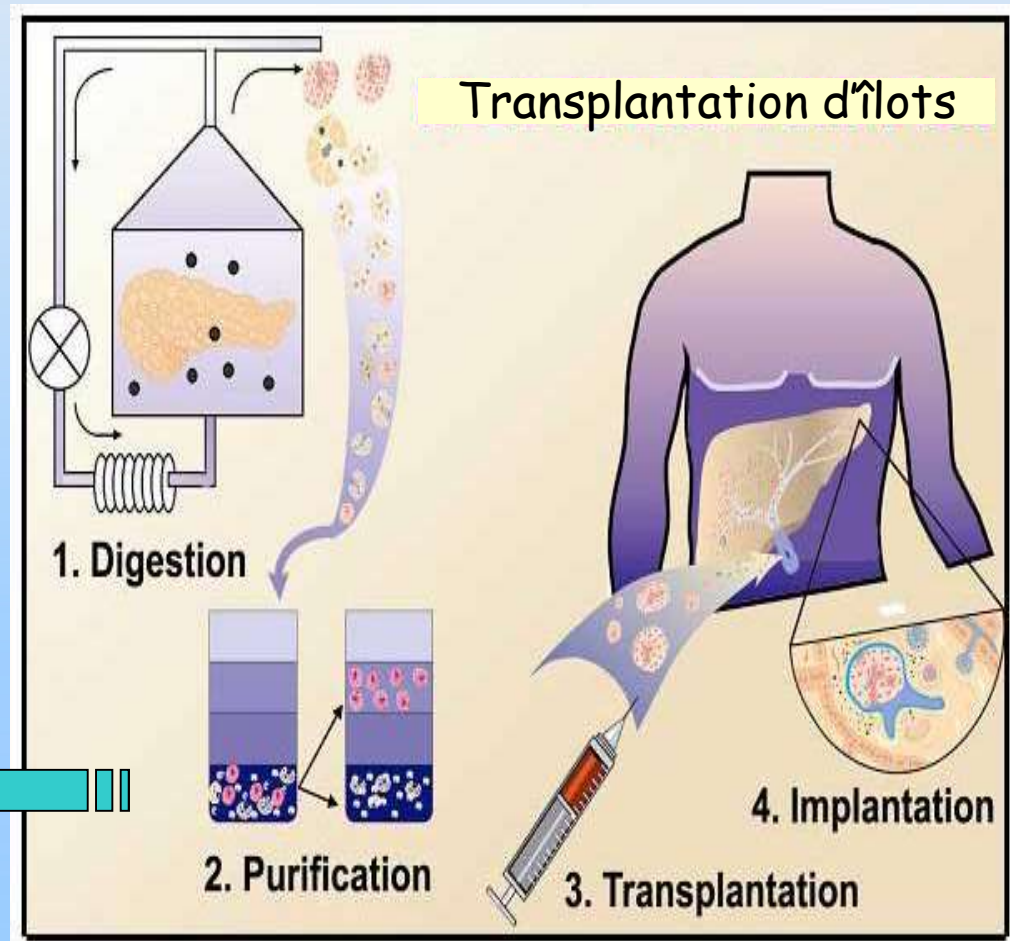
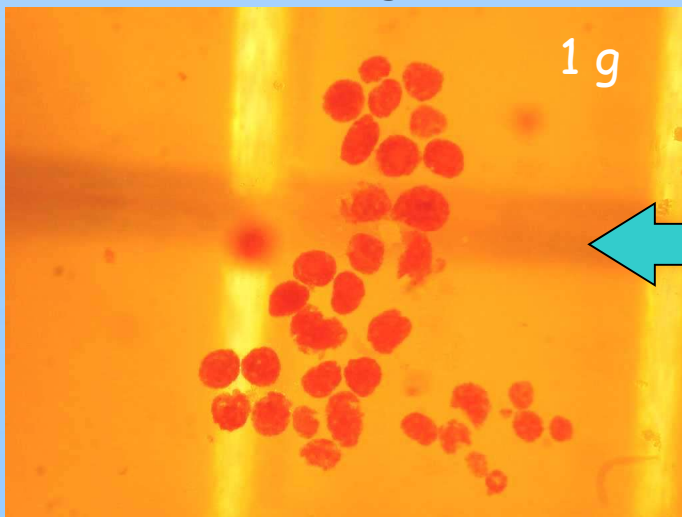
Thérapie immunosuppressive lourde

Principes de l'isolement et de la transplantation d'îlots de Langerhans

Pancréas humain



Ilots de Langerhans



Traitements actuels (Réalité!)

Diabète de Type 1

Transplantation d'îlots de Langerhans



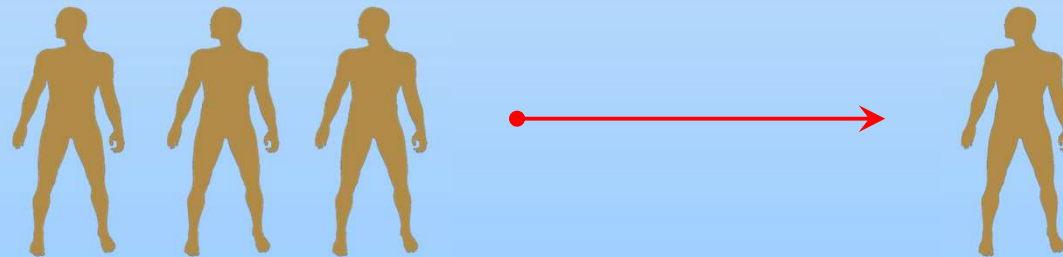
Intervention chirurgicale beaucoup moins lourde
Thérapie immunosuppressive moins lourde

Limites actuelles des transplantations

- **Tolérance immunitaire (rejet des îlots)**

L'emploi d'immunodépresseurs dont la toxicité est problématique

- **Nombre insuffisant de donneurs**



Donneurs en état de mort cérébrale

Receveur

1999-2002: 162 transplantations dans le monde

Japon: moins de 10 morts cérébrales par année

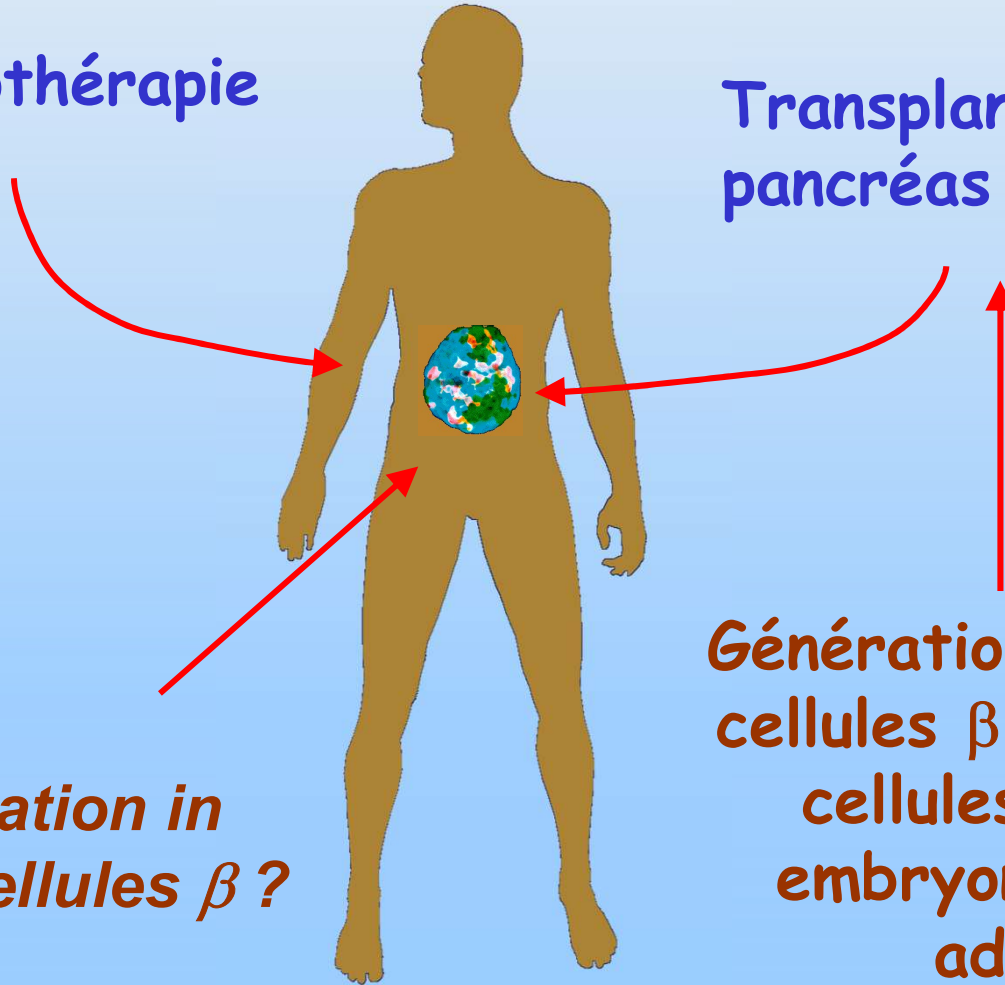
Thérapies actuelles et perspectives futures dans le diabète de type 1

Insulinothérapie

Transplantation de
pancréas ou d'îlots

*Régénération in
vivo des cellules β ?*

Génération ex vivo de
cellules β à partir de
cellules souches
embryonnaires ou
adultes



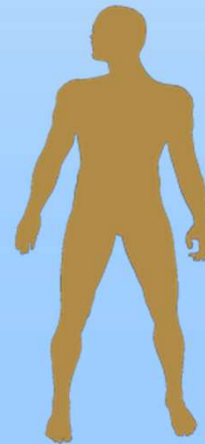
Recherche expérimentale: Plus un mythe, bientôt une réalité!

Alternative aux îlots de Langerhans:

Cellules souches

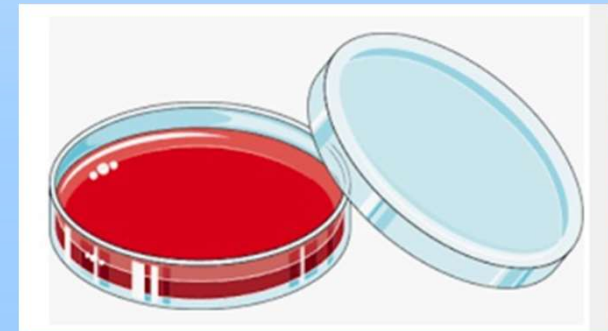


Embryonnaire



Adulte

Cellules souches
induites



Qu'est-ce qu'une cellule souche ?

Les cellules souches sont **non différenciées**

Les cellules souches sont **pluripotentes**: une seule cellule est capable de produire tous les types d'organes (foie, coeur, pancréas...)

Les cellules souches sont **immortelles**: placées dans des conditions appropriées, elles s'auto-renouvellent de façon illimitée

Outil de choix pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques fondées sur le remplacement cellulaire

D'où proviennent elles ?

Qu'est-ce qu'une cellule souche ?

Les cellules souches sont **non différenciées**

Outil de choix pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques fondées sur le remplacement cellulaire



Cellules du sang



Cellules de la peau



Cellules beta

L'espoir des cellules souches

L'étude des cellules souches constitue une source d'espoir pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques fondées sur le remplacement cellulaire **(médecine régénérative)**

Les cellules souches peuvent soit provenir d'un embryon **(cellules souches embryonnaires)** issu de fertilisation *in vitro*, soit être extraite d'un donneur adulte **(cellules souches adultes)** à partir de la moelle osseuse, du sang, du placenta ou du cordon ombilical

Utilisation des cellules souches humaines: dans quel but?

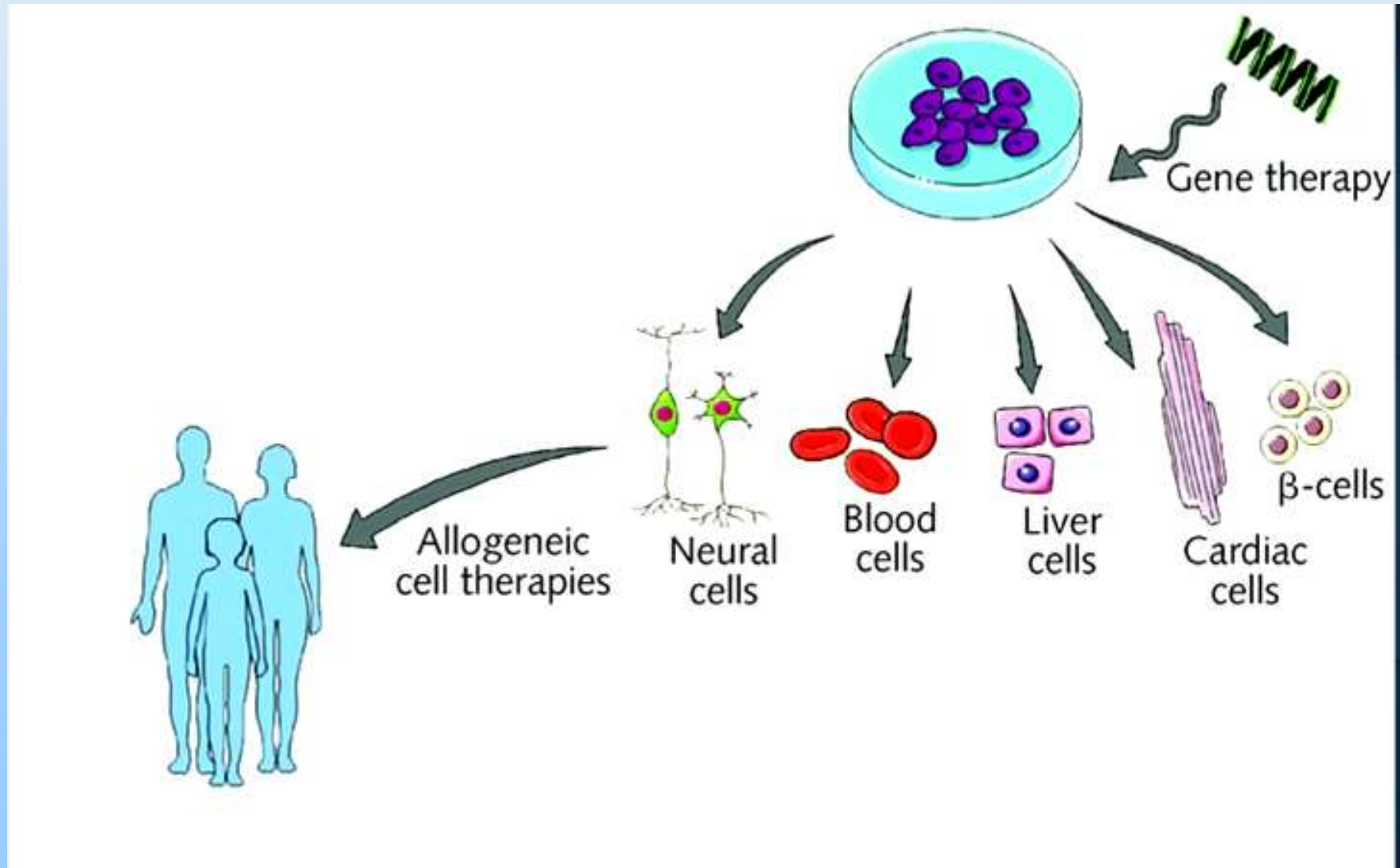
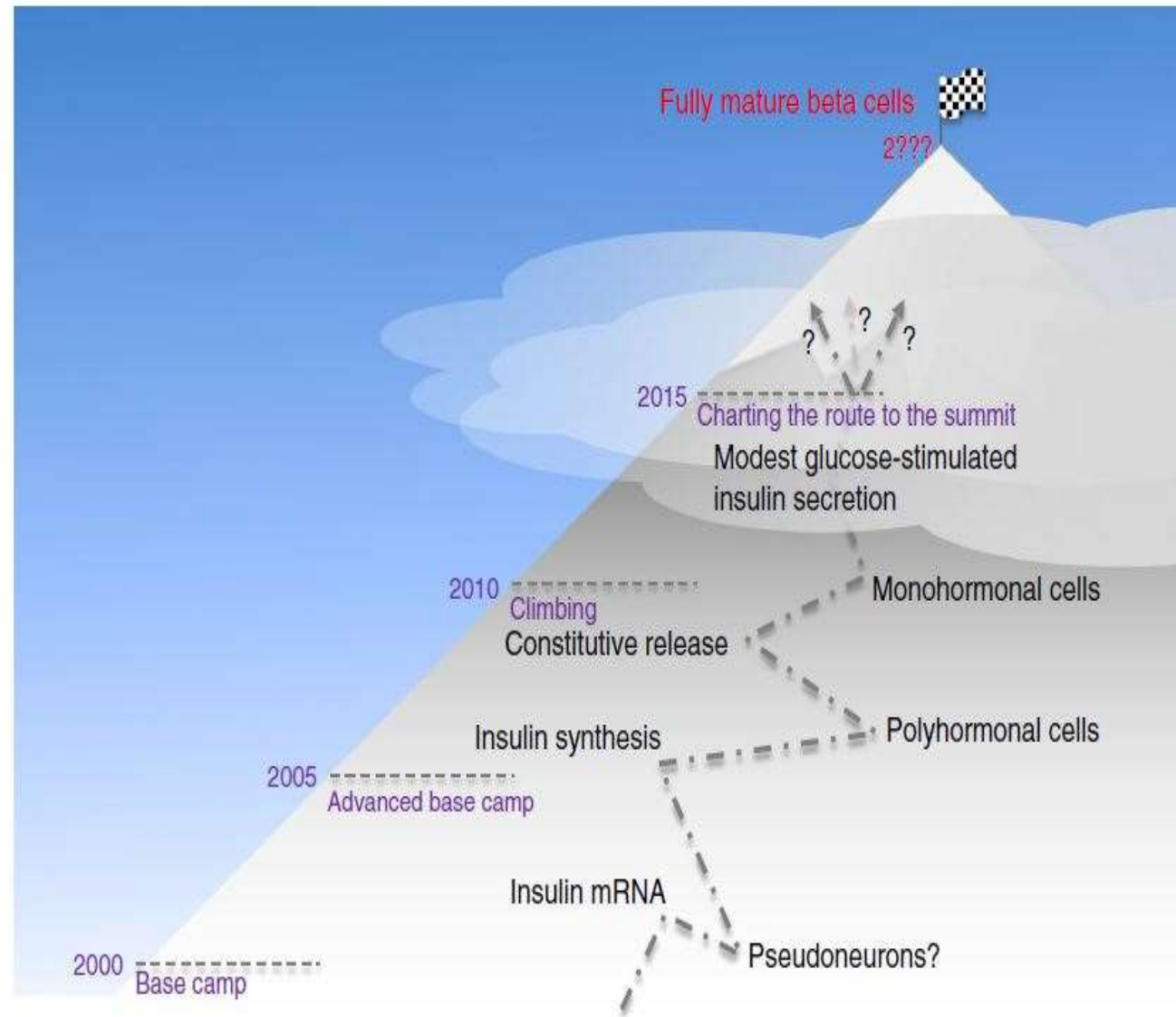


Fig. 1 Climbing a mountain in the clouds. Approximate timeline of efforts to derive beta cell surrogates from embryonic stem cells, including key milestones



The quest to make fully functional human pancreatic beta cells from embryonic stem cells: climbing a mountain in the clouds
James D. Johnson *Diabetologia* (2016) 59:2047–2057

Des cellules souches aux cellules beta

nature
biotechnology

Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived *in vitro* from human pluripotent stem cells

Alireza Rezaei¹, Jennifer E Bruin², Payal Arora¹, Allison Rubin¹, Irina Batushansky¹, Ali Asadi², Shannon O'Connell¹, James D Johnson¹

Cell

Resource

Generation of Functional Human Pancreatic β Cells In Vitro

Felicia W. Pagliuca,^{1,2} Jeffrey R. Millman,^{1,2} Mads Gürtler,^{1,2} Michael Segel,¹ Alana Van Dierfort,¹ Jennifer Hyeon Ryu,¹ Quinn

Article



Controlled induction of human pancreatic progenitors produces functional beta-like cells *in vitro*

Holger A Russ, Audrey V Parent, Jennifer J Ringler, Thomas G Hennings, Gopika G Nair, Mayya Shveygert, Tingxia Guo, Sapna Puri, Leena Haataja, Vincenzo Cirulli, Robert Bleiloch, Greg L Szot, Peter Arvan, Matthias Hebrok

THE
EMBO
JOURNAL

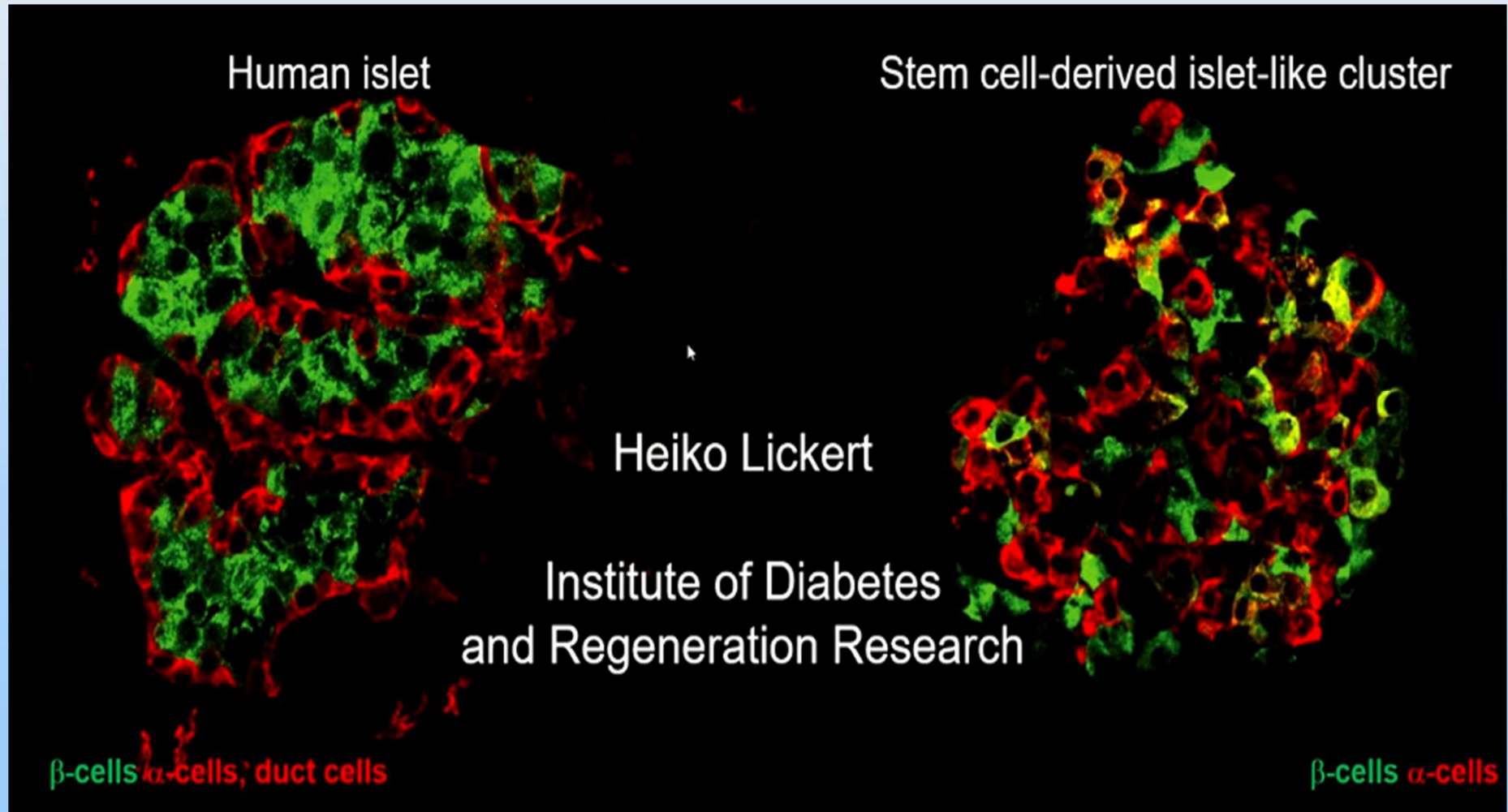
PDF

Share

Export

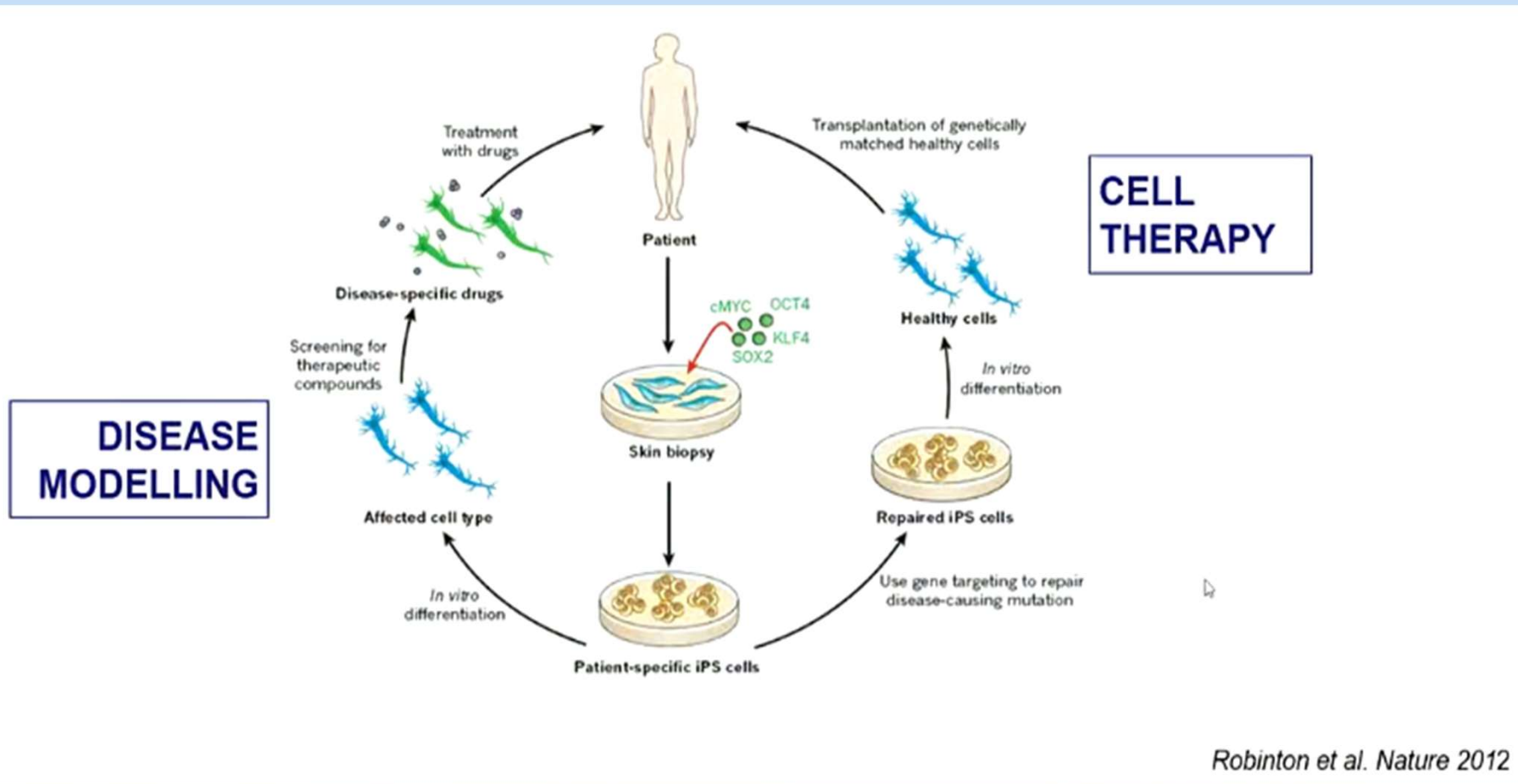
Print

Des cellules souches aux cellules beta

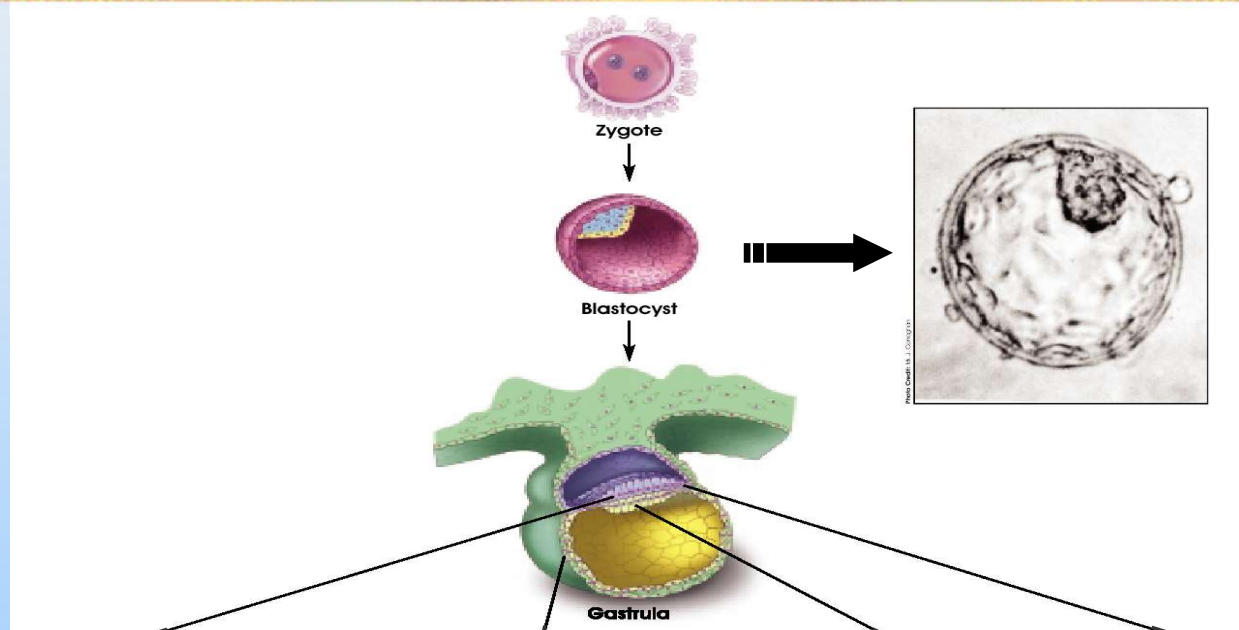


Pourquoi chercher à produire des cellules beta fonctionnelles à partir de cellules souches?

- Pour la thérapie cellulaire
- Pour comprendre les mécanismes du diabète



ESC: Différenciation des tissus humains durant le développement embryonnaire

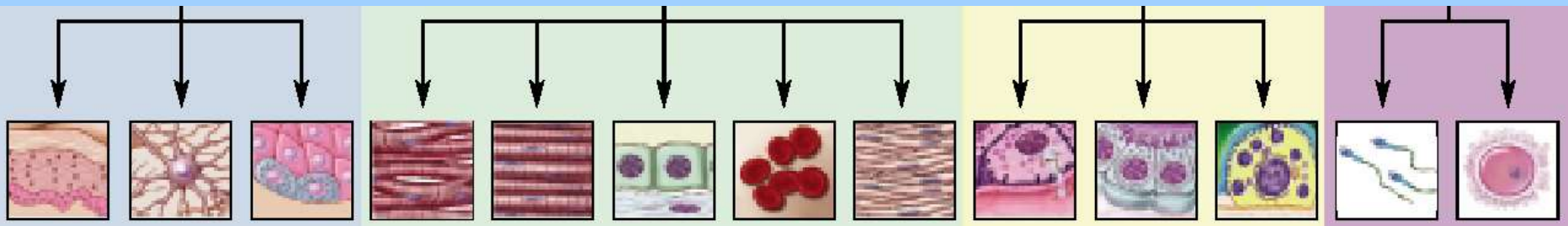


Ectoderme

Mésoderme

Endoderme

Germinale



Peau

Cerveau

Yeux

Coeur

Muscle

Rein

Globule

Muscle lisse

Pancréas

Foie

Poumons

ESC: Techniques de cultures pour générer des cellules souches embryonnaires

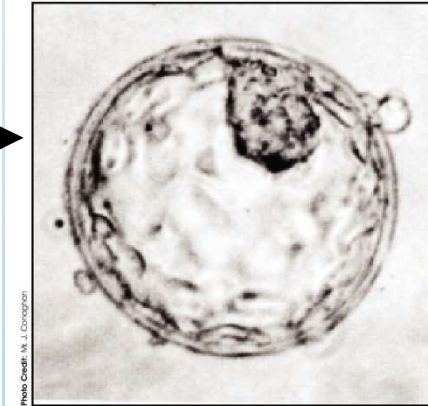
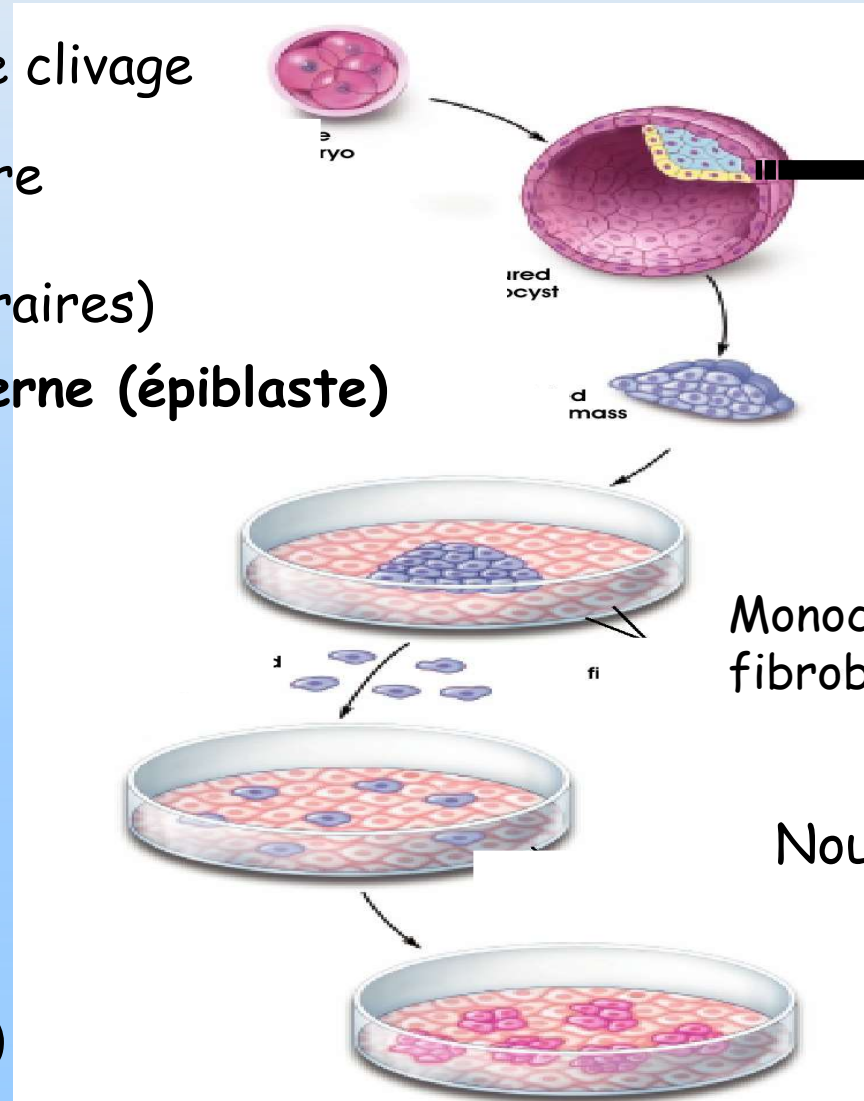
Embryon au stade de clivage

Blastocyste en culture
(Obtenu à partir
d'embryons surnuméraires)

Masse cellulaire interne (épiplaste)

Cellules dissociées

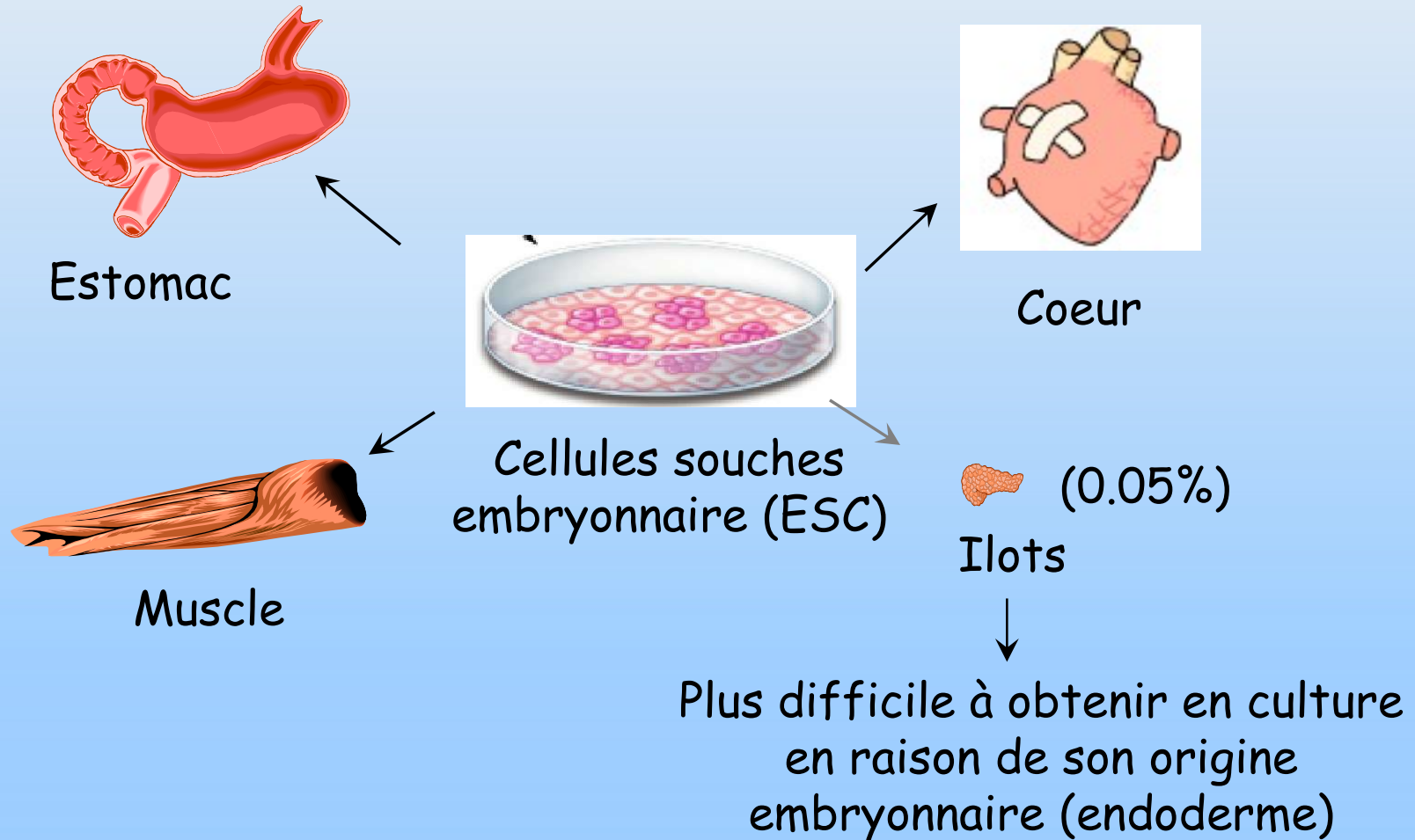
Cellules souches
embryonnaires (ES)



Monocouche nourricière de
fibroblastes embryonnaires

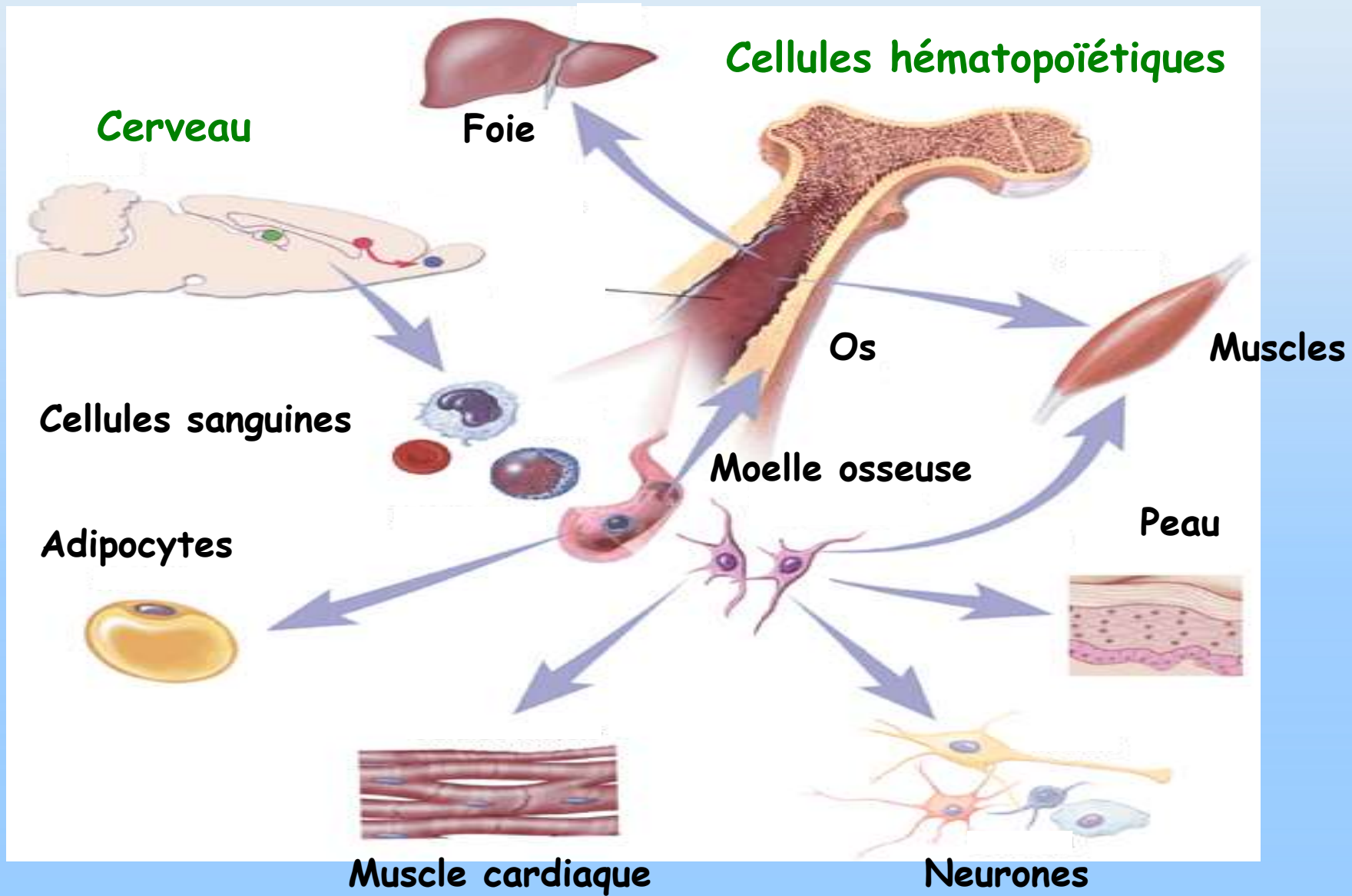
Nouvelle monocouche

ESC: Pas si facile que ça !!

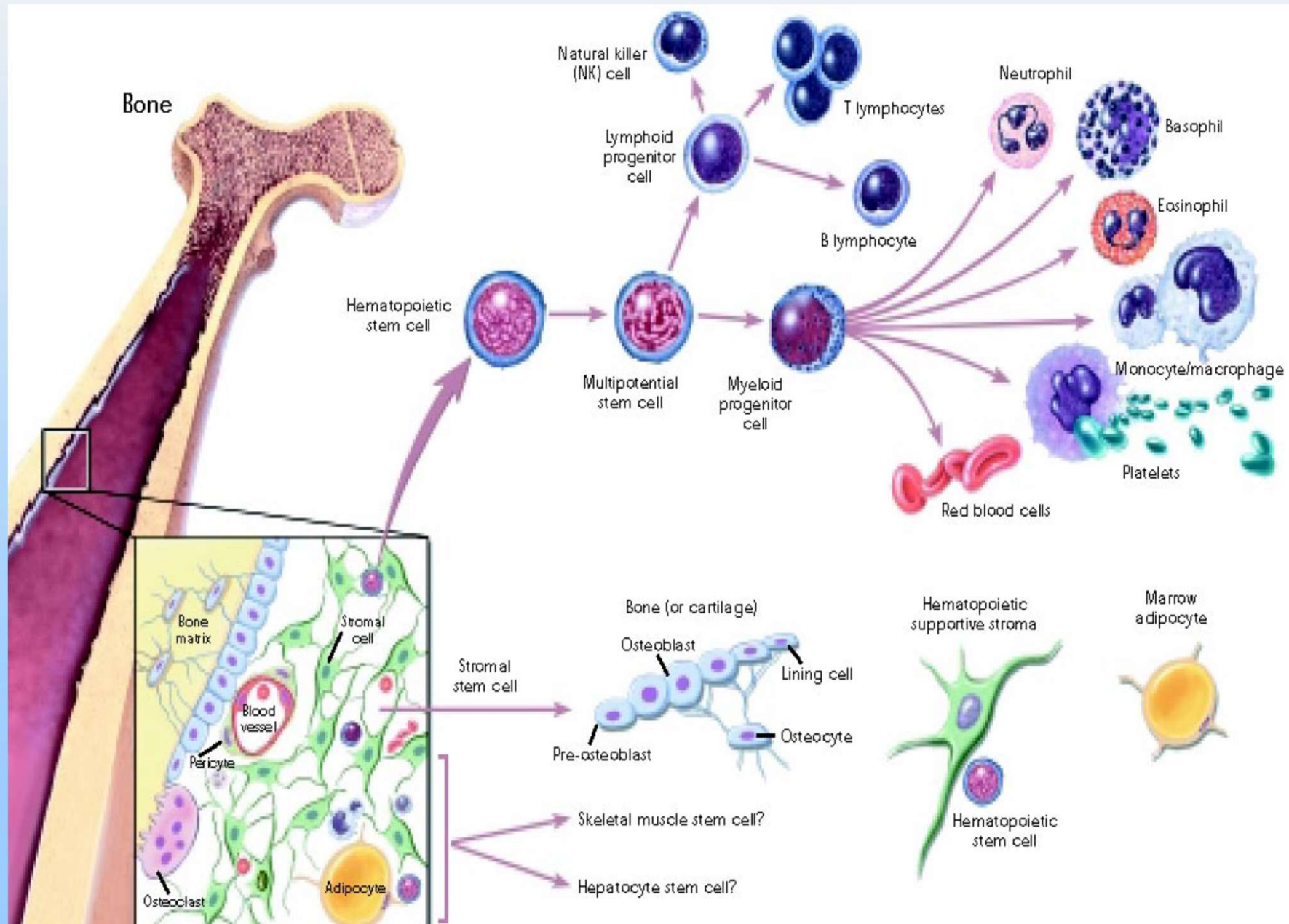


Sérieux problèmes éthiques et légaux

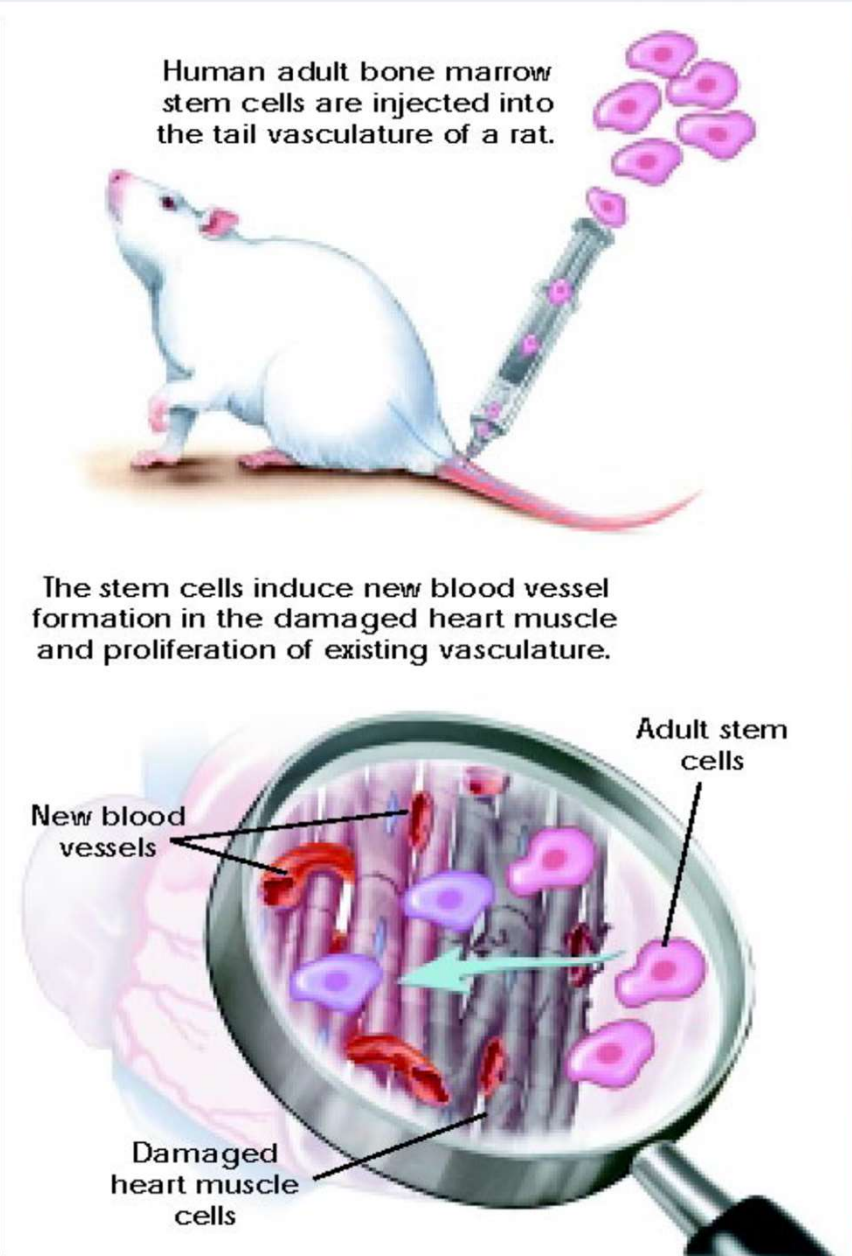
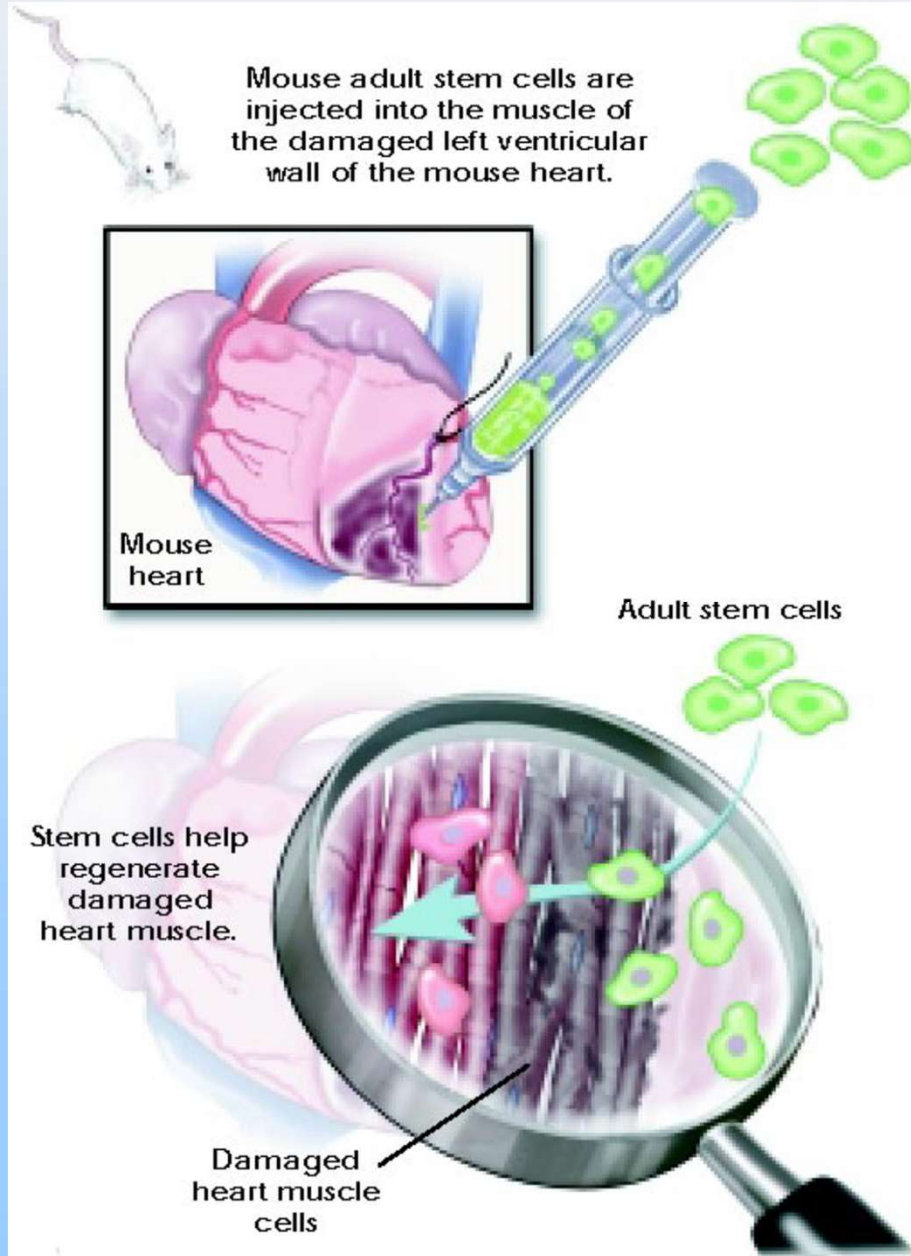
Cellules souches adultes: alternative aux îlots de Langerhans pour la transplantation



Cellules souches adultes:



Cellules souches adultes:



Autre source de cellules souches: Cellules souches pluripotentes induites

Le Prix Nobel de médecine

Les deux chercheurs ont montré que les cellules adultes spécialisées peuvent être **reprogrammées en cellules souches pluripotentes**, capables de produire n'importe quel tissu.



John B. Gurdon

79 ans, Anglais.
Découvre en 1962 que les cellules de grenouilles adultes contiennent toutes les informations d'une cellule souche.



Shinya Yamanaka

50 ans, Japonais.
Il confirme en 2006 la découverte de Gurdon en reprogrammant des cellules matures de souris en cellules pluripotentes.

Cellules souches pluripotentes induites

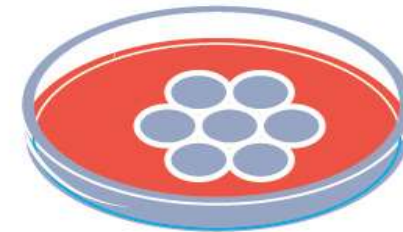
1



Des **cellules souches pluripotentes**

pourraient être produites à partir de cellules adultes spécialisées prélevées sur des humains.

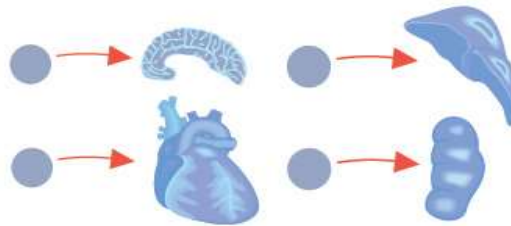
2



Ces cellules souches **mises en culture**

dans une boîte de Pétri peuvent se multiplier à l'infini.

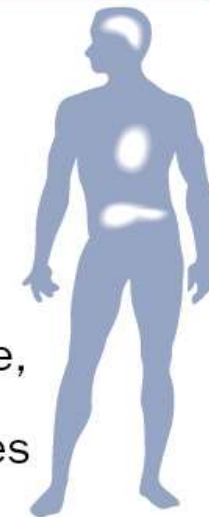
3



Manipulées en laboratoire, elles peuvent se transformer en n'importe quelle **cellule du corps humain,** soit *près de 200 types de cellules.*

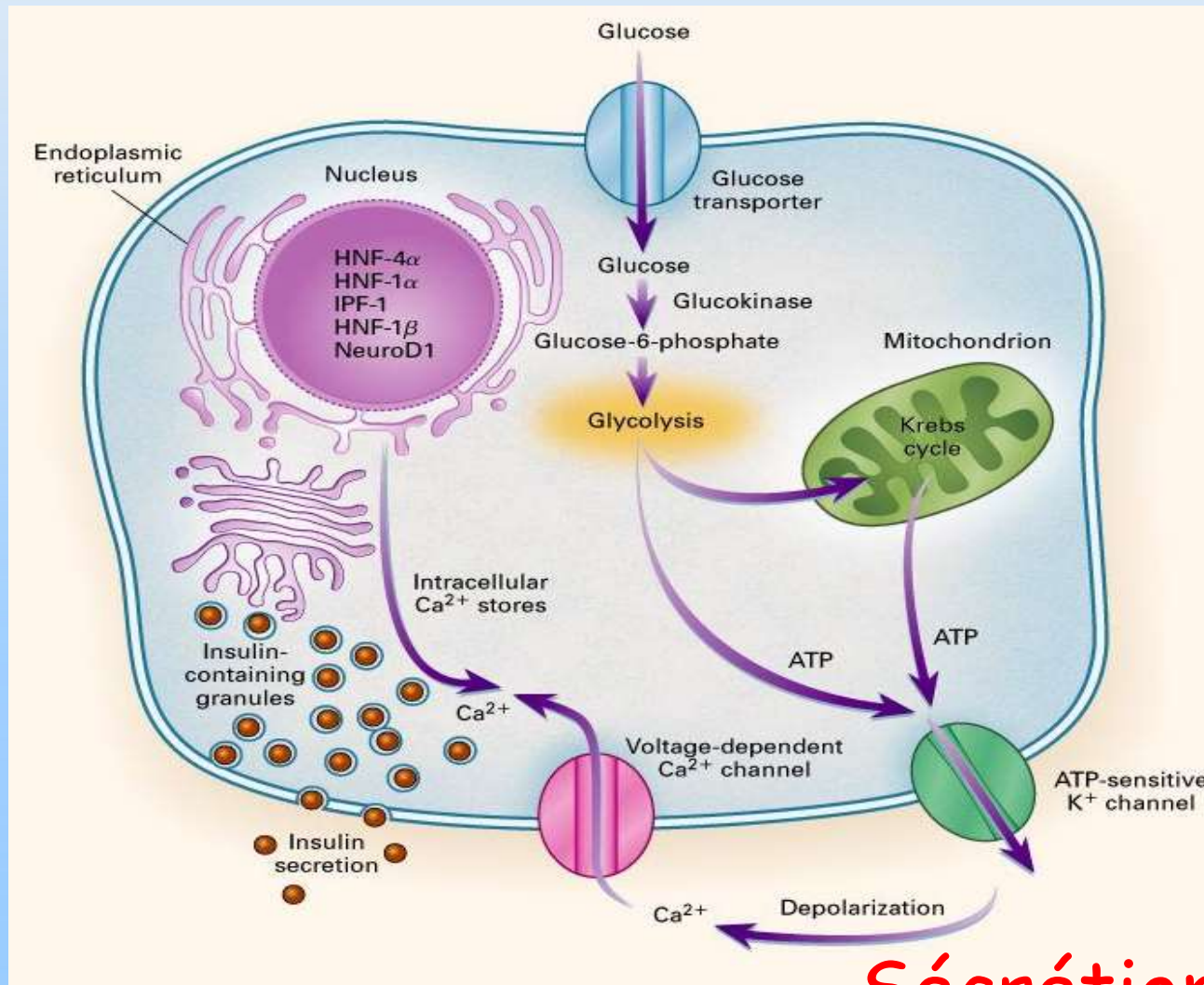
4

Implantées dans le corps d'un patient, elles pourraient **remplacer les cellules malades.** Pour les diabétiques, par exemple, elles remplaceraient les cellules pancréatiques productrices d'insuline.



Source : nobelprize.org

Conditions nécessaires pour obtenir une bonne cellule permettant de contrôler la glycémie

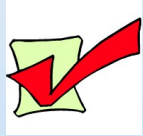


Captage et réponse au glucose

Fabrication de l'insuline

Sécrétion d'insuline !

Etapes à atteindre pour le développement d'une thérapie cellulaire utilisant les cellules souches humaines



Cellules souches humaines



Etablissement de lignées pures en culture

- Protocole bien défini et reproductible



Vérification de la fonction physiologique

- Sécrétion d'insuline en réponse au glucose



Démontrer l'efficacité

- Modèles animaux (souris et primates)

Démontrer la sécurité

- Absence de tumeurs
- Absence d'agents infectieux

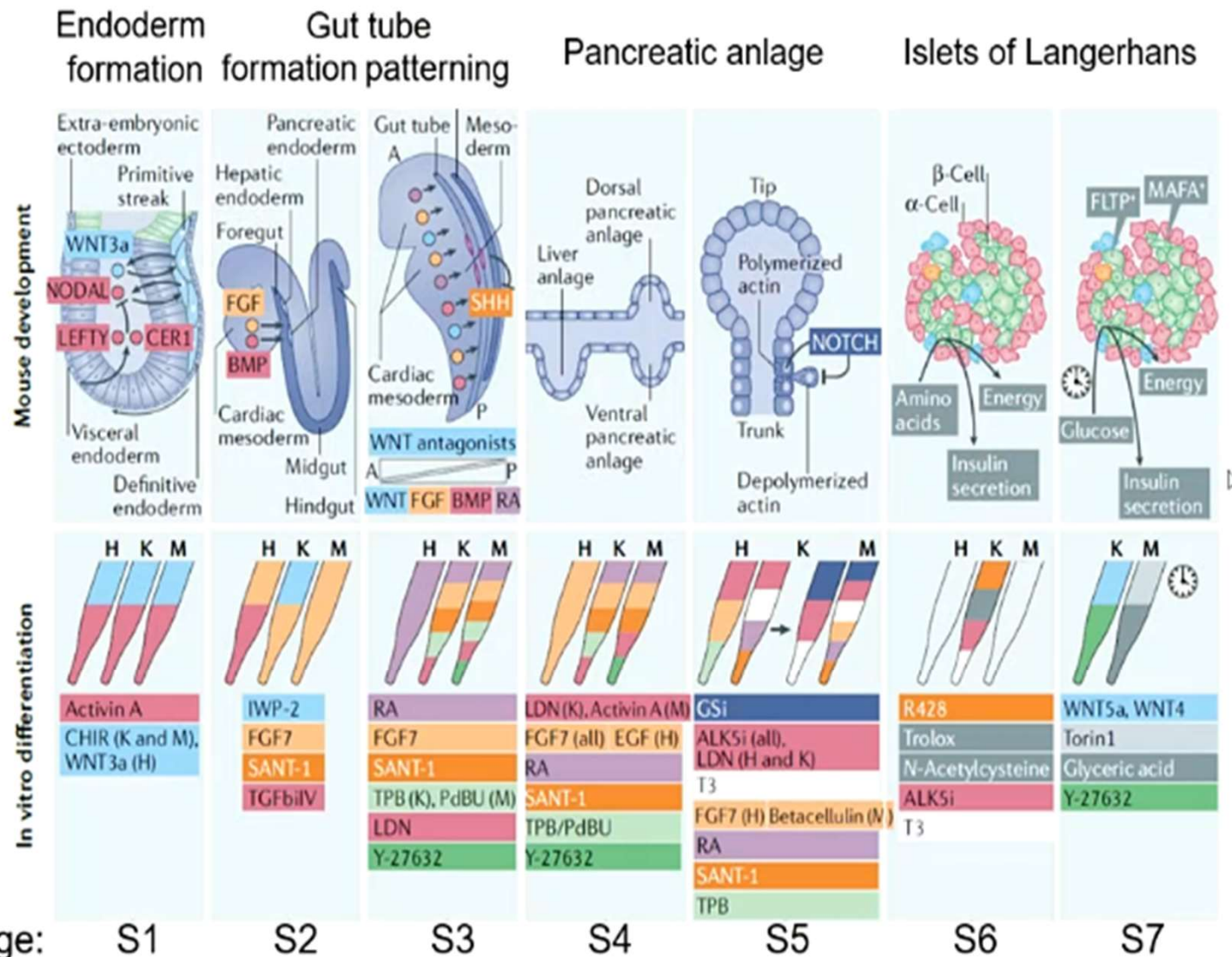
Prévenir le rejet des cellules

- Thérapie immuno-suppressive moins lourde
- Encapsulation

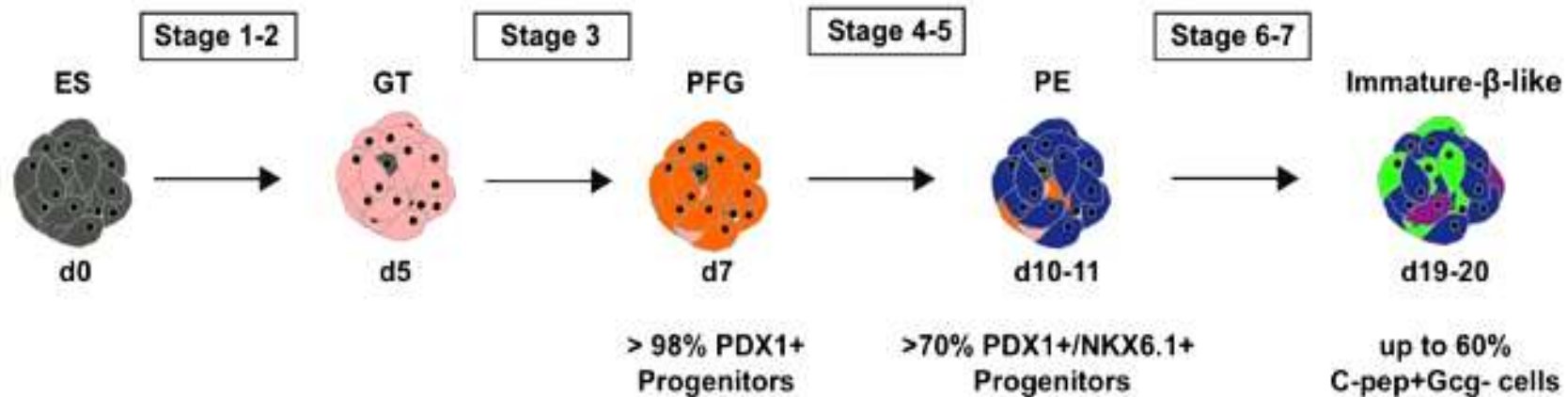


Essais cliniques

Les protocoles de différenciation in vitro imitent le développement du pancréas et des îlots de souris

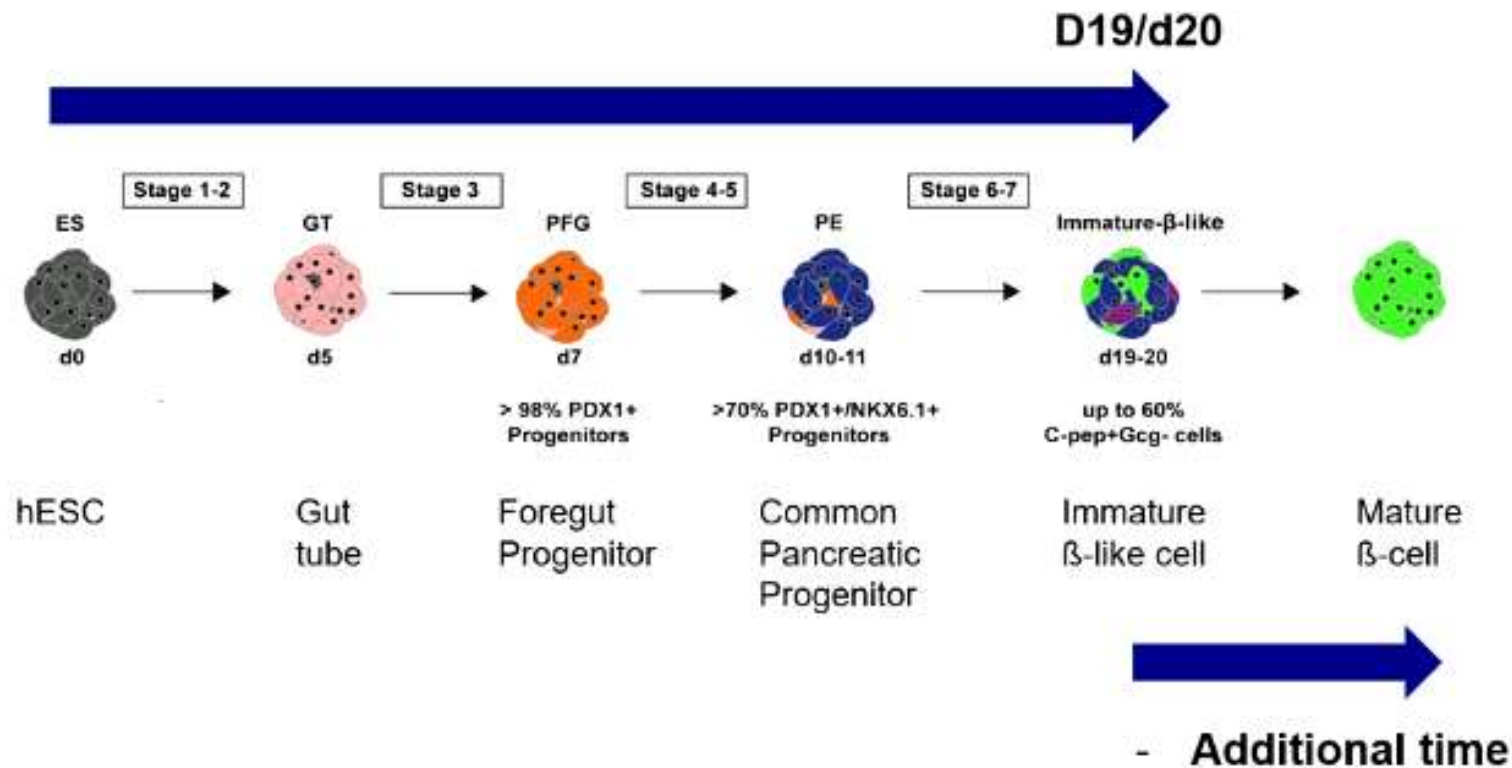


Défis actuels de la différenciation des cellules souches pluripotentes en cellules à insuline

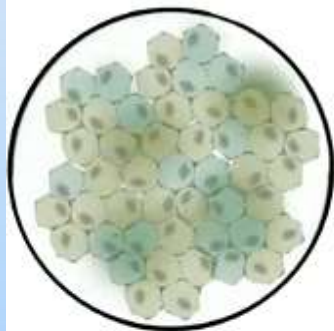


- **β-like** cells display immature phenotype, e.g. increased levels of beta cell development genes when compared to human adult beta cells
- **β-like** cells have limited functionality

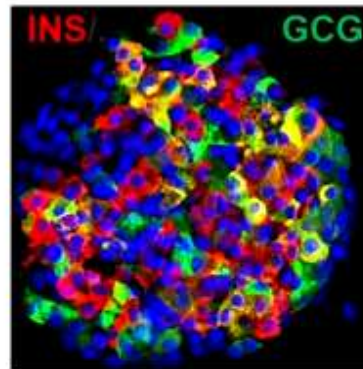
Défis actuels de la différenciation des cellules souches pluripotentes en cellules à insuline



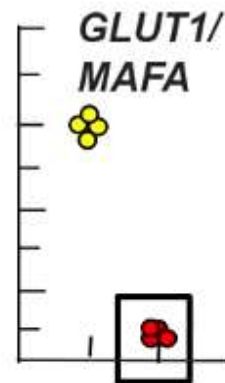
Défis actuels de la différenciation des cellules souches pluripotentes en cellules à insuline



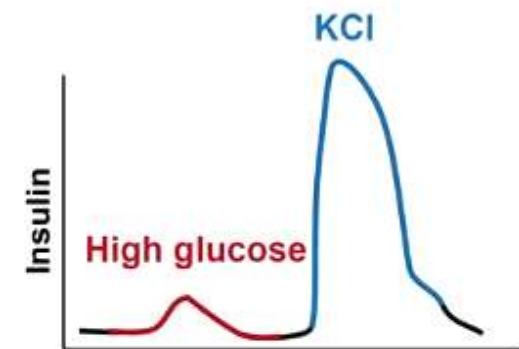
Heterogenous differentiation at every step



Heterogenous mixtures of progenitors, non-endocrine cells and β -, α - and δ -cells

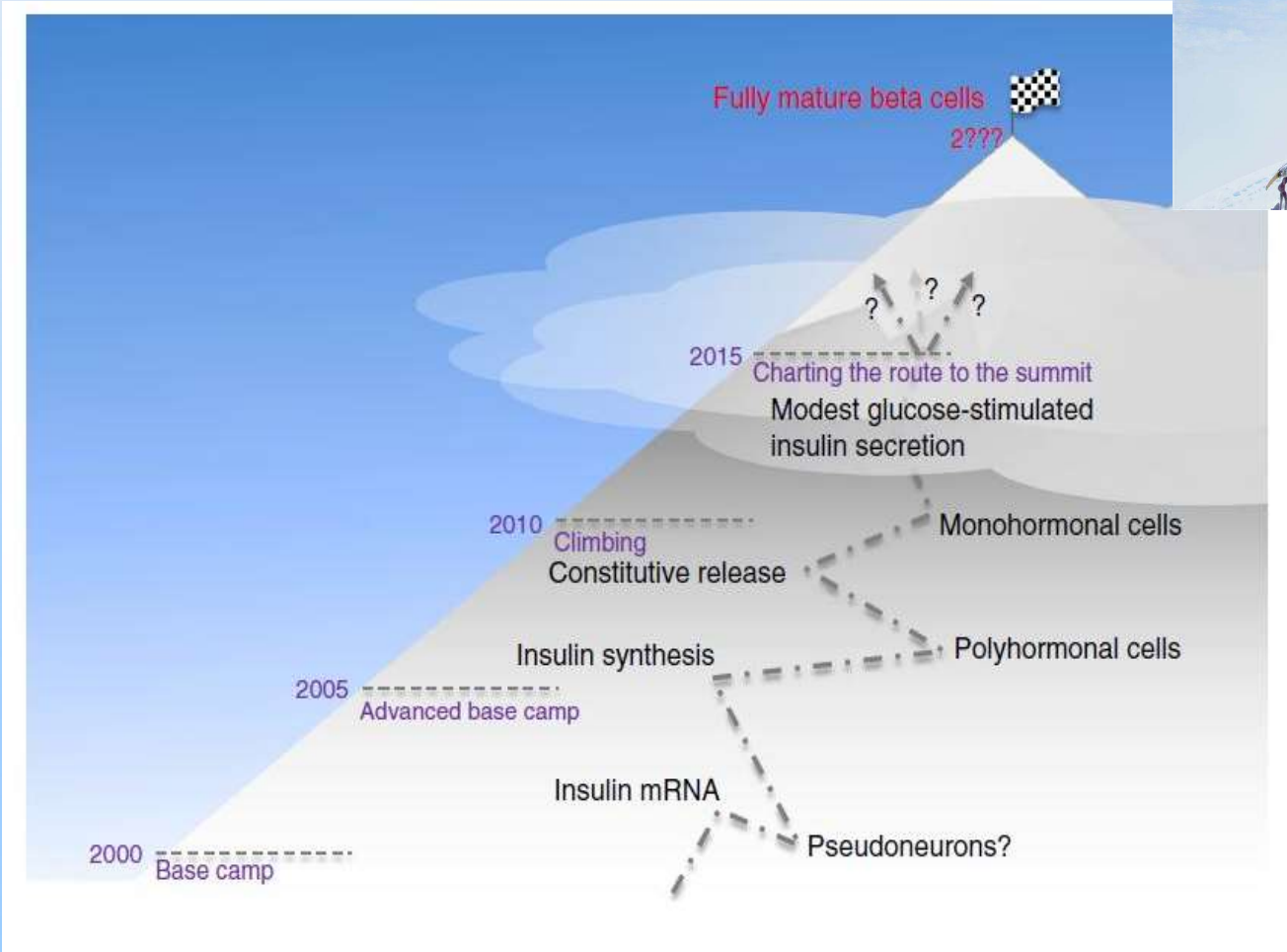


Immature cells (MAFA-/GLUT1-)



Immature response to glucose stimulation

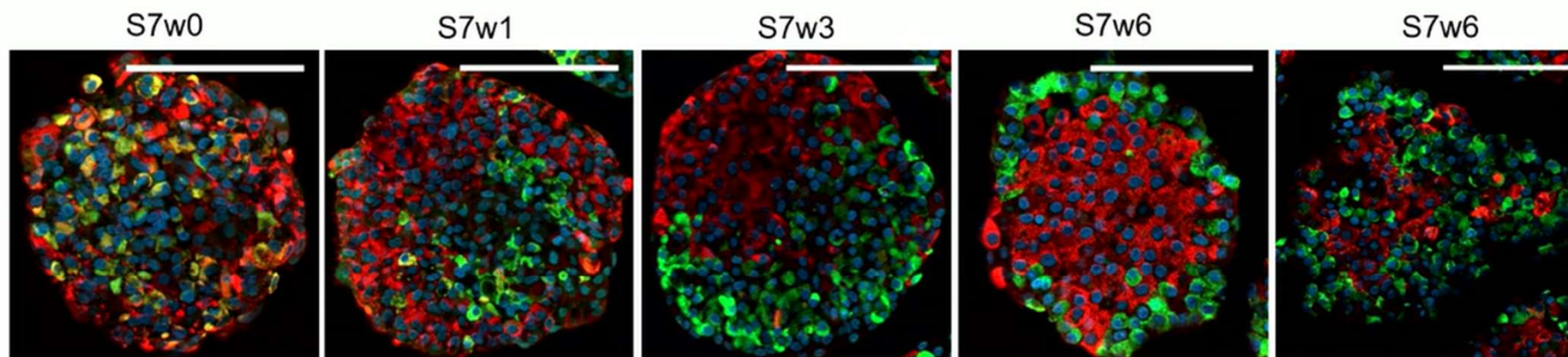
Bientôt une réalité !



The quest to make fully functional human pancreatic beta cells from embryonic stem cells: climbing a mountain in the clouds
James D. Johnson Diabetologia (2016) 59:2047–2057




Des cellules souches aux cellules beta

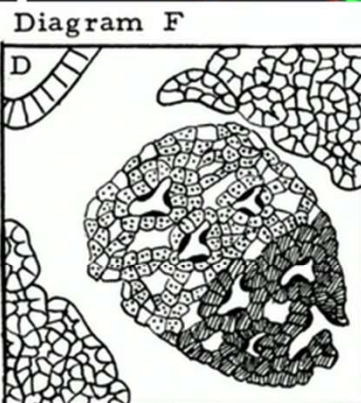
SC-islets reorganize during S7 culture



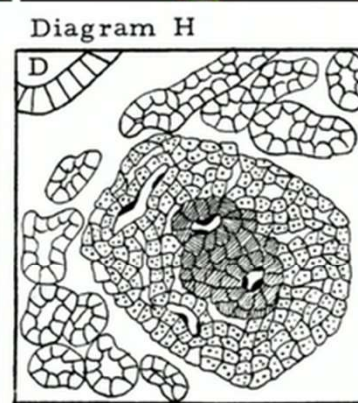
INS GCG DNA

Patricia Robb 1960
"The development of the islets of Langerhans
in the human foetus"

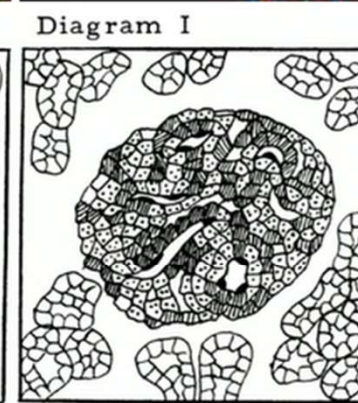
-  alpha cell
-  beta cell
-  ungranulated cell



Week 16 →
Bipolar islet



Week 20 →
Mantle islet



Week 30 →
Mature islet
(Mantle islets still dominant)

Des cellules souches aux cellules beta

CHAIKIN, YU. ILMIM BOUZARANI

Functional islets from human pluripotent stem cells

Timo Otonkoski, MD PhD
Children's Hospital and
Biomedicum Stem Cell Centre
University of Helsinki

METASTEM
CENTRE OF EXCELLENCE IN STEM CELL METABOLISM



Timo Otonkoski

Functional, metabolic and transcriptional maturation of human pancreatic islets derived from stem cells



2-6 October 2023
Hamburg, Germany

59TH
ANNUAL
MEETING

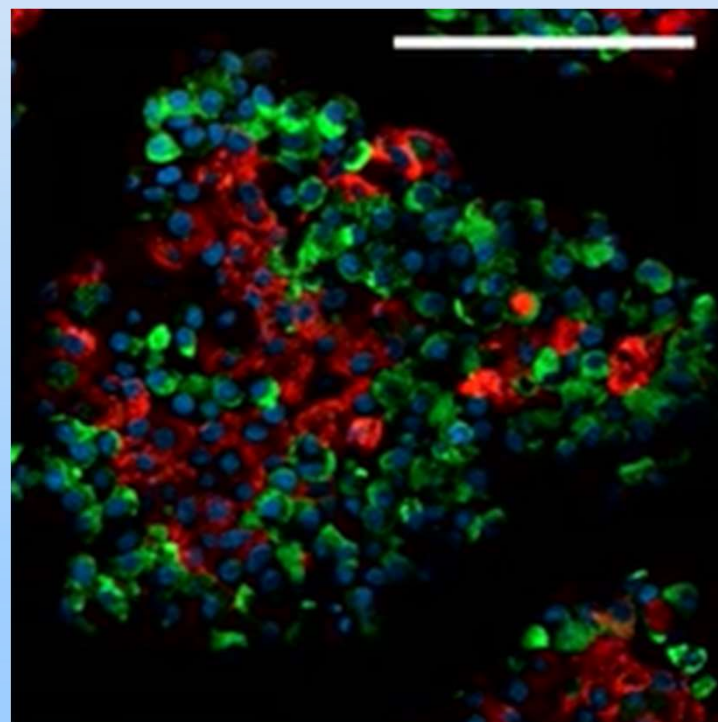
Merci de votre attention et
de votre visite !!

Pour tout renseignement, n'hésitez pas à
nous contacter:

www.diabete.unige.ch

ou

Thierry.brun@unige.ch



FACULTÉ DE MÉDECINE



UNIVERSITÉ
DE GENÈVE