

SFD-Allocation SFD-Boehringer Ingelheim-Lilly 2015

Projet : analyse du rôle de la protéine mitochondriale UCP2

Monsieur le Professeur Vergès et Monsieur le Professeur Fontaine,

J'ai eu l'honneur de recevoir une allocation de la SFD, en association avec Boehringer Ingelheim et Lilly. Je vous en suis extrêmement reconnaissant et je vous fais part, dans ce document, des résultats obtenus. Je vous indique que ce travail a été présenté dans deux congrès internationaux, et un manuscrit a été rédigé. Il va être soumis très prochainement.

Introduction.

Le développement du pancréas est un processus complexe qui s'effectue en plusieurs étapes. Il est contrôlé par l'expression séquentielle de facteurs de transcription. Il dépend également de facteurs environnementaux, parmi lesquels on trouve les niveaux de glucose, la pression partielle d'oxygène, le stress oxydant (Heinis et al., 2010). Durant ces dix dernières années, les conséquences des anomalies fonctionnelles des mitochondries sur la biologie du pancréas et le diabète ont été étudiés par de nombreux laboratoires (Simmons et al., 2006). Néanmoins, les mécanismes mitochondriaux restent encore mal compris.

La protéine mitochondriale UCP2 appartient à la famille des protéine découplantes UCPs. Malgré son nom, il est maintenant admis qu'UCP2 est plutôt un transporteur mitochondrial de métabolites qu'une protéine à activité découplante. UCP2 est exprimée dans le rein, le poumon, le tissu adipeux et le pancréas (Pecqueur et al., 2001 ; Robson-Doucette et al., 2011). Chez l'homme, des variants hypomorphes du gène *Ucp2* sont responsables d'un hyperinsulinisme congénital. De plus, chez les rongeurs, UCP2 est impliquée dans le contrôle de la masse de cellules alpha et bêta du pancréas. La question posée était de savoir si de telles observations dans le pancréas adulte pouvaient avoir une origine embryonnaire.

Objectif : L'objectif de mon projet était d'analyser le rôle de la protéine UCP2 dans le développement du pancréas embryonnaire. Pour cela, nous avons utilisé des souris portant une mutation nulle du gène *Ucp2*.

Résultats.

Augmentation de la croissance du pancréas chez les embryons de souris *Ucp2*^{-/-}.

Les souris *Ucp2*^{-/-} ont été obtenues par le croisement de souris hétérozygotes. Elles étaient à la fréquence mendélienne attendue, excluant toute létalité embryonnaire. Leurs poids, leurs morphologies et leurs glycémies étaient identiques au témoins sauvages. Au jour 2 après la naissance, la taille du pancréas des souris *Ucp2*^{-/-} était augmenté d'un facteur 2 par rapport aux témoins. Des expériences d'immunofluorescence ont démontré que les surfaces de marquage avec des anticorps anti-insuline, anti-glucagon, et anti-amylase étaient également augmentées chez les nouveau-nés *Ucp2*^{-/-}. Pour comprendre les mécanismes responsables de ce phénotype, nous nous sommes concentrés sur les stades embryonnaires. A E16.5, nous avons mesuré une augmentation du nombre de cellules alpha et bêta chez les mutants d'UCP2, dans une proportion similaire à celle détectée à la naissance. Le nombre de précurseurs endocrines exprimant le facteur de transcription pro-endocrine Neurogénine 3 (NGN3) était aussi augmenté à E16.5. Afin d'identifier le mécanisme cellulaire impliqué, nous avons quantifié la prolifération des cellules progénitrices qui expriment PDX1 à un stade plus précoce, E13.5.

Nous avons trouvé une élévation de la prolifération des progéniteurs de 1.5 fois dans le pancréas des embryons *Ucp2*^{-/-} comparés aux témoins.

UCP2 contrôle la production de ROS et la signalisation par AKT dans le pancréas fœtal.

Nous avons ensuite examiné le niveau de stress oxydant dans le pancréas des mutants *Ucp2*^{-/-}. Notamment, nous avons montré que la translocation nucléaire du facteur de transcription NRF2, qui est sensible aux ROS (espèces réactives de l'oxygène), était augmentée chez les mutants à E16.5. De plus, la phosphorylation d'AKT qui est une autre cible des ROS, était aussi activée dans les pancréas UCP2 KO. Enfin, l'administration d'un antioxydant, la N-Acétyl Cystéine, à des femelles gestantes *Ucp2*^{-/-} restaure un phénotype normal dans le pancréas de leurs fœtus. Ceci démontre donc que UCP2 contrôle le développement pancréatique en activant la voie de signalisation ROS-AKT.

Conclusion.

Ce projet a permis de démontrer que la déficience en UCP2 stimule la croissance pancréatique pendant l'embryogénèse et la période périnatale. Cet effet est dépendant de la voie de signalisation ROS-AKT. Ces mécanismes sont importants pour mieux comprendre l'hyperinsulinisme observé chez les enfants ayant des mutations d'UCP2. De plus, la manipulation de l'expression du gène *Ucp2* peut représenter un nouvel outil pour contrôler la prolifération de cellules souches embryonnaires et leur différenciation en cellules bêta. Ceci représente une étape importante de la thérapie cellulaire du diabète.

Références.

Heinis M, Simon M-T, Ilc K, Mazure NM, Pouyssegur J, Scharfmann R, et al. Oxygen Tension Regulates Pancreatic β -Cell Differentiation Through Hypoxia-Inducible Factor 1. *Diabetes*. 2010 Mar 1;59(3):662–9.

Pecqueur C, Alves-Guerra MC, Gelly C, Levi-Meyrueis C, Couplan E, Collins S, et al. Uncoupling protein 2, in vivo distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. *J Biol Chem*. 2001 Mar 23;276(12):8705–12.

Robson-Doucette CA, Sultan S, Allister EM, Wikstrom JD, Koshkin V, Bhattacharjee A, et al. Beta-cell uncoupling protein 2 regulates reactive oxygen species production, which influences both insulin and glucagon secretion. *Diabetes*. 2011 Nov;60(11):2710–9.

Simmons RA. Developmental origins of diabetes: The role of oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2006 Mar;40(6):917–22.

Production scientifique :

Congrès :

Congrès de la SFD 2016 (Lyon). Présentation orale, intitulée « La protéine mitochondriale UCP2 contrôle le développement du pancréas endocrine ».

Congrès de l'American Diabetes Association (new Orleans, LA, USA). Présentation d'un poster commenté, intitulé « Mitochondrial Protein UCP2 controls the development of the

endocrine pancreas ». Benjamin Broche, Selma Ben Fradj, Fatna Mackaci, Clotilde Alves-Guerra, Raphael Scharfmann et Bertrand Duvillié.

Publication :

Mitochondrial protein UCP2 controls pancreas development.

Benjamin Broche, Selma Ben Fradj, Esther Aguilar-Fad, Tiphaine Sancerni, Matthieu Benard , Fatna Makaci, Raphaël Scharfmann, Marie-Clotilde Alves-Guerra and Bertrand Duvillié (en préparation).