



HAL
open science

De la biologie du développement à la thérapie cellulaire du diabète

Valérie Schreiber, Gérard Gradwohl

► **To cite this version:**

Valérie Schreiber, Gérard Gradwohl. De la biologie du développement à la thérapie cellulaire du diabète. Médecine des Maladies Métaboliques, A paraître, <10.1016/j.mmm.2023.05.009>. <hal-04124672>

HAL Id: hal-04124672

<https://hal.science/hal-04124672v1>

Submitted on 20 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

De la biologie du développement à la thérapie cellulaire du diabète

Valérie Schreiber^{1,2,3,4} et Gérard Gradwohl^{1,2,3,4}

¹ Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), 1 rue Laurent Fries, 67404 Illkirch, France.

² Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1258, 1 rue Laurent Fries, 67404 Illkirch, France.

³ Centre National de Recherche Scientifique (CNRS) UMR7104, 1 rue Laurent Fries, 67404 Illkirch, France.

⁴ Université de Strasbourg, 1 rue Laurent Fries, 67404 Illkirch, France.

Résumé

La possibilité de générer des cellules bêta pancréatiques à partir de cellules souches pluripotentes permettrait de disposer d'une source illimitée de cellules insulino-sécrétrices pour le traitement du diabète de type 1. Dans cet objectif, les mécanismes moléculaires et cellulaires qui contrôlent la formation des cellules bêta au cours de l'embryogenèse, lorsque les cellules bêta naissent, ont été finement disséqués. Ces connaissances ont permis de mimer le développement des cellules bêta *in vitro* et de générer des cellules insulino-sécrétrices à partir de cellules souches pluripotentes. Des essais cliniques récents et encourageants suggèrent que la transplantation des cellules pancréatiques ainsi obtenues permet de réduire les besoins en insuline des patients traités. Malgré les progrès récents des protocoles de différenciation, les cellules insulino-sécrétrices générées *in vitro* sont différentes des cellules bêta primaires au plan physiologique et les conditions de leur maturation fonctionnelle *in vitro* restent à identifier. Les développements futurs pourraient concerner la génération et la transplantation d'îlots pancréatiques complets, ce qui pourrait améliorer la fonctionnalité des cellules insulaires dans le contrôle de la glycémie. Enfin, il sera important de trouver les moyens de protéger les cellules transplantées de leur destruction par le système immunitaire tout en assurant leur vascularisation. En conclusion, il paraît envisageable que la transplantation de cellules insulino-sécrétrices produites à partir de cellules souches pluripotentes constitue dans le futur une alternative à la transplantation d'îlots cadavériques dans le traitement du diabète de type 1.

Summary

The generation of pancreatic beta cells from pluripotent stem cells would provide an unlimited source of insulin-secreting cells for the treatment of type 1 diabetes. To this end, the molecular and cellular mechanisms that control the formation of beta cells during embryogenesis, when beta cells are born, were finely dissected. Thus, by mimicking the development of beta cells, it has been possible to generate insulin-secreting cells *in vitro* from pluripotent stem cells. Recent and encouraging clinical trials suggest that the transplantation of stem cell derived pancreatic cells makes it possible to reduce the insulin requirements of treated patients. Despite recent advances in differentiation protocols, insulin-secreting cells generated *in vitro* are still physiologically different from primary beta cells and the conditions for their functional maturation *in vitro* remain to be identified. Future developments could be the generation and transplantation of entire, stem cell derived, pancreatic islets which could improve the functionality of islets cells in the control of glycemia. Finally, it will be important to find the means to protect the transplanted cells from their destruction by the immune system while ensuring their vascularization. In conclusion, it seems possible that the transplantation of insulin-secreting cells produced from pluripotent stem cells constitutes, in the future, an alternative to the transplantation of cadaveric islets in type 1 diabetes.

Introduction

Le diabète de type 1 résulte de la destruction des cellules bêta productrices d'insuline localisées au sein des îlots de Langerhans du pancréas. Malgré l'injection pluriquotidienne d'insuline, certains patients n'arrivent pas à équilibrer leur glycémie. Les complications liées à l'hyperglycémie chronique incluent les rétinopathies, les neuropathies ou les néphropathies, et soulignent l'importance de thérapies alternatives qui permettraient d'assurer une régulation de la glycémie plus physiologique. En parallèle de la mise au point de dispositifs médicaux sophistiqués comme le pancréas artificiel, des approches « cellulaires » sont explorées pour restaurer la masse de cellules bêta. Une stratégie consiste à remplacer les cellules bêta détruites en stimulant *in vivo* la prolifération des cellules bêta préservées ou leur différenciation *de novo*. Chez l'adulte, le renouvellement des cellules bêta est assuré par la division de cellules bêta existantes (Dor et al., 2004). Ce processus est toutefois relativement limité dans la mesure où moins de 1% de cellules bêta sont renouvelées par réplication tous les jours. Néanmoins, des stratégies thérapeutiques visant à promouvoir la prolifération des cellules bêta humaines afin de restaurer leur masse chez les sujets diabétiques sont à l'étude (Shcheglova et al., 2022; Shirakawa and Kulkarni, 2016). Certains travaux, chez le rongeur, suggèrent par ailleurs que la néogenèse des cellules bêta pourrait être assurée chez l'adulte, au moins en partie, *via* des cellules souches présentes dans les canaux pancréatiques (Gribben et al., 2021). Cette hypothèse est toutefois très controversée (Magenheim et al., 2023) et en absence de stimuli (pancréatectomie partielle, ablation cellulaire), il paraît improbable que cette voie représente un mécanisme important de production de cellule bêta dans le pancréas adulte sain. Contrairement à ces approches qui sont encore au stade de la recherche, la transplantation de cellules bêta exogènes est une réalité clinique (Shapiro et al., 2000). En effet, depuis plus de 20 ans la greffe d'îlots cadavériques a été proposée à des patients dont la concentration de glucose était incontrôlée en dépit d'une insulinothérapie. Brièvement, les îlots sont purifiés à partir de pancréas de donneurs cadavériques et transplantés dans le foie via leur injection dans la veine porte. Une avancée majeure a été obtenue en 2000 par une équipe d'Edmonton qui a démontré que la transplantation d'îlots permettait d'améliorer le contrôle de la glycémie, voire pour certains patients, de se passer d'insuline (Shapiro et al., 2000). Ce succès est dû à l'utilisation d'une nouvelle catégorie d'immuno-supresseurs non-stéroïdiens et à l'augmentation de la quantité d'îlots transplantés. Depuis, la greffe d'îlots de Langerhans est pratiquée dans de nombreux centres dans le monde (Vantyghem et al., 2019) et son remboursement a été acté récemment en France pour le traitement des formes sévères de diabète de type 1. Chaque transplantation nécessitant 2-3 pancréas il est devenu rapidement évident, devant la pénurie de donneurs, qu'il faudrait trouver des sources alternatives de cellules productrices d'insuline pour pouvoir, dans le futur, proposer cette thérapie cellulaire au plus grand nombre de patients qui pourraient en bénéficier. Dans cet objectif une approche prometteuse est la production *in vitro* de cellules bêta, par différenciation de cellules souches pluripotentes, en récapitulant des programmes de différenciation opérant au cours de la vie fœtale lorsque les cellules bêta sont produites.

Développement du pancréas et des cellules bêta

Les cellules bêta sont générées principalement *de novo* lors de la vie embryonnaire (**Figure 1**) et il est par conséquent paru évident que la compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents pourrait être exploitée afin de générer des cellules bêta *in vitro*. Au cours du développement, l'épithélium pancréatique émane de l'endoderme définitif. Sous l'impulsion d'interactions avec le mésoderme voisin, l'endoderme se régionalise conduisant à la formation de l'intestin primitif divisé en 3 territoires : l'intestin antérieur, l'intestin moyen et l'intestin postérieur, qui donneront naissance aux appareils respiratoires et digestifs (Zorn and Wells, 2009). Le pancréas se développe à partir de la région distale de l'intestin antérieur consécutivement à des signaux émis successivement par les tissus adjacents (notochorde, aorte, mésenchyme). Les premiers signes visibles de formation du pancréas se manifestent à partir des jours embryonnaires E8.5-9.5 (Pan and Wright, 2011) chez la souris, et lors de la 5^{ème} semaine de gestation chez l'homme (Jennings et al., 2013) par la formation de deux évaginations (ventrale et dorsale) de l'endoderme intestinal entre les ébauches de l'estomac et duodénum. Ultérieurement, les deux bourgeons fusionnent pour ne former qu'un seul organe. Concomitamment, l'épithélium se ramifie et s'organise en 2 domaines dits « tip » et « trunk » (Zhou et al., 2007). Les tips donneront naissance aux cellules acinaires. Les trunks contiennent des progéniteurs bi-potents à l'origine des cellules endocrines et ductales (aussi appelées canalaies). Quand ils sont spécifiés, les progéniteurs endocrines quittent ensuite l'épithélium et migrent dans le mésenchyme voisin en poursuivant leur différenciation pour former les différents sous types endocrines (alpha, beta, delta, PP) puis s'agrègent pour former les îlots de Langerhans.

Au cours des deux dernières décennies, de nombreuses équipes se sont attachées à déchiffrer les signaux et les régulations transcriptionnelles qui contrôlent l'organogenèse du pancréas et la formation des cellules bêta, principalement chez la souris (Mastracci and Sussel, 2012; Petersen et al., 2018; Shih et al., 2012). Il a par exemple été démontré que les facteurs de transcription Pdx1, Nkx6-1 et Ptf1a sont essentiels pour la formation des progéniteurs pancréatiques multipotents qui peuvent donner naissance à toutes les cellules épithéliales pancréatiques (**Figure 2**). C'est ensuite l'expression du facteur de transcription Neurog3 qui spécifie la destinée endocrine de ces progéniteurs multipotents, Pax4 et Arx étant requis, en aval de Neurog3, pour former respectivement les cellules bêta/delta ou alpha. Mafa est important pour la régulation de la transcription du gène de l'insuline et un marqueur de cellule bêta matures. D'autres études ont permis d'identifier les facteurs extrinsèques qui enclenchent ces programmes transcriptionnels. Ainsi, les voies de signalisation Nodal/activine A et WNT sont essentielles pour l'induction de l'endoderme caractérisé par l'expression de Sox17 et FoxA2. Puis, les voies FGF et de l'acide rétinoïque contrôlent la régionalisation antéro-postérieur de l'endoderme et la formation du pancréas dorsal, marquée par l'expression de PDX1 dans les progéniteurs pancréatiques. Du côté ventral, il a été montré que la voie BMP promeut initialement la formation du foie et plus tard la formation du bourgeon pancréatique ventral. Les signaux qui gouvernent les étapes ultérieures, comme les choix de destinée endocrine et la différenciation des sous-type insulaires dont les cellules bêta, sont largement inconnus.

Différenciation de cellules productrices d'insuline à partir de cellules souches pluripotentes

L'obtention de lignées de cellules souches pluripotentes embryonnaires (CSPE) ou induites (CSPi) humaines a ouvert la possibilité théorique de produire, *in vitro*, des cellules bêta. La première publication décrivant la génération de cellules productrices d'insuline (appelées *beta-like* ou *SC-bêta pour Stem Cell bêta*) à partir de cellules souches embryonnaires humaines, en mimant les principales étapes de l'organogenèse pancréatique décrites plus haut, date de 2006 (D'Amour et al., 2006). Toutefois, la sécrétion d'insuline n'était pas stimulée par le glucose dans ces cellules générées *in vitro*. La réponse au glucose a été toutefois améliorée, mais toujours suboptimale, après greffe des cellules différenciées au stade de progéniteurs pancréatiques sous la capsule rénale de souris immunodéficientes, la transplantation favorisant la maturation des cellules insulino-productrices (Kroon et al., 2008). Depuis ces travaux, les protocoles de différenciation se sont considérablement améliorés et consistent généralement en 6-7 étapes (**Figure 3A, B**). Les cultures sont réalisées soit en culture planaire (Petersen et al., 2017), éventuellement suivies d'une étape de culture à l'interface air/liquide (Rezania et al., 2014), soit en suspension (Pagliuca et al., 2014; Russ et al., 2015). Outre les molécules induisant l'endoderme définitif puis l'endoderme pancréatique, l'ajout d'inhibiteurs des voies SHH et BMP ont pour objectifs d'empêcher la formation de dérivés alternatifs de l'endoderme intestinal antérieur, comme le foie ou les poumons. Enfin les inhibiteurs de Notch (inhibiteur de γ -sécrétase) et de la voie TFG- β (inhibiteur de ALK5) augmentent l'expression de NEUROG3 et par conséquent la quantité de cellules productrices d'insuline et de glucagon (Rezania et al., 2011). Néanmoins, il a été montré que l'expression prématurée de NEUROG3 engendrait la formation de cellules poly-hormonales non fonctionnelles (Russ et al., 2015). L'importance des interactions entre la cellule progénitrice endocrine et la matrice extracellulaire pour empêcher cette expression prématurée, a été rapportée récemment, révélant que l'utilisation de composés induisant une dépolymérisation du cytosquelette d'actine favorisait fortement la destinée endocrine (Hogrebe et al., 2020; Mamidi et al., 2018). Cependant, malgré les améliorations significatives des protocoles de différenciation, les cellules bêta-like générées, souvent, n'expriment pas des marqueurs de maturité comme MAFA, NKX6-1, PDX1, MNX1 et la réponse au glucose est suboptimale, suggérant que ces cellules ne sont pas pleinement fonctionnelles.

Maturation des cellules beta

La cellule bêta adulte est une cellule hautement spécialisée qui agit comme un détecteur métabolique où le métabolisme du glucose, via la glycolyse et la phosphorylation oxydative, contrôle la sécrétion des vésicules d'insuline (**Figure 3C**). Les cellules bêta générées *in vitro* ont des caractéristiques de cellules embryonnaires ou néonatales (Hrvatn et al., 2014). Promouvoir la maturation de ces cellules pour les rendre pleinement fonctionnelles est un défi majeur. Certains mécanismes responsables de la maturation fonctionnelle des cellules bêta, qui opèrent entre la naissance et le sevrage, ont été identifiés (**Figure 3A, C**) (Liu and Hebrok, 2017). Ainsi, à la naissance, contrairement à la situation chez l'adulte, les cellules bêta sécrètent de l'insuline à faible concentration de glucose car elles expriment des hexokinases à forte affinité pour le glucose. Les cellules bêta matures expriment par contre exclusivement l'Hexokinase IV (Glucokinase) qui a une faible affinité pour le glucose, nécessitant des concentrations plus élevées de glucose pour stimuler la sécrétion d'insuline. Par ailleurs, le niveau d'expression de plusieurs enzymes impliquées dans la glycolyse, le cycle de Krebs, la

phosphorylation oxydative, ou de composants de la machinerie de sécrétion est augmentée au cours de la maturation des cellules bêta. Des facteurs de transcription comme MAFA ou le récepteur nucléaire au œstrogène ERR γ semblent promouvoir ces processus de maturation. Enfin la répression d'une catégorie de gènes dits « disallowed » ou « interdits » comme *LDH1*, *MCT*, ou l'hexokinase à haute affinité *HK1* a été décrite concomitamment à la maturation fonctionnelle des cellules bêta. Ces travaux, parmi d'autres, ont permis à la communauté scientifique d'établir une liste de critères permettant de distinguer des cellules bêta matures de cellules bêta-like (voir pour une revue Kaestner et al., 2021).

Plusieurs études récentes importantes décrivent différentes approches pour améliorer la fonctionnalité des cellules bêta-like générées *in vitro* et en particulier la réponse dynamique au glucose de la sécrétion d'insuline. Une stratégie consiste à mieux comprendre les mécanismes moléculaires de la maturation qui ont lieu entre la vie fœtale et néonatale, afin de les reproduire *in vitro*. Au cours de la vie fœtale, la sécrétion d'insuline est stimulée de façon permanente, principalement par les acides aminés présents dans le sérum. A ce stade, l'insuline agit comme un facteur de croissance assurant le développement de l'embryon. A la naissance l'organisme doit s'adapter aux changements de nourriture et au caractère intermittent de l'alimentation. Helman et collègues (Helman et al., 2020) ont montré que les cellules bêta s'adaptent à ces changements nutritionnels par une modification des mécanismes de stimulation de la sécrétion d'insuline, basculant d'une sécrétion stable stimulée par les acides aminés à une sécrétion induite par le glucose. Ces adaptations seraient médiées par des modifications de la sensibilité aux nutriments de la voie mTORC1, l'activité mTORC1 passant de constitutive à dynamique. Les auteurs ont ensuite tenté de mimer ces changements d'activité mTORC1 *in vitro*, en abaissant la concentration des acides aminés dans le milieu de culture, ce qui a eu pour effet d'augmenter d'un facteur 2 la sécrétion d'insuline, glucose dépendante, des cellules bêta dérivées de CSP. Dans une autre étude, Davis et ses collègues ont démontré que la fonctionnalité amoindrie des cellules bêta produites *in vitro* serait due à une déficience d'une étape la voie glycolytique (activité de la glyceraldehyde-3-phosphate deshydrogénase et de la phosphoglycérate kinase) agissant comme un goulot de restriction métabolique (Davis et al., 2020). En contournant ce blocage, les auteurs rapportent une sécrétion bi-phasique d'insuline des cellules générées *in vitro* d'une amplitude similaire aux cellules bêta d'îlots humains. D'autres études ont rapporté une sécrétion dynamique de l'insuline en réponse au glucose des cellules bêta-like générées *in vitro*, en modulant la voie de signalisation au TGF- β (Velazco-Cruz et al., 2019). En 2022, Balboa, Barsby Lithovius et leurs collègues ont publié un travail remarquable décrivant un protocole de différenciation modifié accompagné d'une caractérisation méticuleuse au plan transcriptionnel et physiologique des différentes étapes de la sécrétion d'insuline, en mesurant par exemple la consommation d'oxygène, la production d'ATP et les flux calciques des cellules produites *in vitro* (Balboa et al., 2022; Nguyen-Ngoc et al., 2022). Avec ce protocole, les cellules générées sont regroupées en amas cellulaire appelés SC-islets (Stem Cell-Islets) et contiennent environ 40% de cellules bêta, 45% de cellules alpha et 4% de cellules delta, une composition proche des îlots humains (60/30/10). Une des modifications majeures dans le protocole a consisté à ajouter un inhibiteur de la kinase Aurora, lors des 6 semaines de maturation finale. Une hypothèse est que l'inhibition de la prolifération favoriserait la maturation fonctionnelle des cellules bêta et la sécrétion optimale d'insuline induite par le glucose. En utilisant ce protocole, les auteurs rapportent que les SC-islets sécrètent de l'insuline en réponse au glucose mais également aux incrétines et ceci de façon comparable en qualité et en quantité aux îlots primaires. Néanmoins, de façon surprenante, les

mécanismes de sécrétion mis en œuvre sont différents. Ainsi, la consommation d'oxygène et le rapport ATP/ADP n'augmentent pas en réponse au glucose et les flux calciques sont plus faibles que dans les cellules bêta primaires. Ces résultats suggèrent que d'autres mécanismes alternatifs, compensatoires, qui restent à identifier, assurent la fonctionnalité des cellules bêta générées *in vitro*.

Premiers Essais cliniques

La transplantation de progéniteurs pancréatiques ou de cellules bêta-like humaines, générés *in vitro* à partir de CSP, permet de normaliser la glycémie chez la souris diabétique (Pagliuca et al., 2014; Reznick et al., 2014). Ces résultats encourageants ont stimulé la recherche clinique chez l'homme (**Figure 4**). Deux publications récentes décrivent les résultats préliminaires d'essais cliniques de Phase I/II en cours (ClinicalTrials.gov identifier NCT04678557 ; NCT03163511) menés par la société Viacyte (aujourd'hui propriété de Vertex) sur 2 cohortes de 15 et 17 patients (Ramzy et al., 2021; Shapiro et al., 2021). L'approche a consisté à transplanter, à des patients atteints de diabète de type 1, des cellules de l'endoderme pancréatique (ou progéniteurs pancréatiques) - dérivée de CSP dont on anticipe qu'elles vont, comme chez la souris, poursuivre leur différenciation *in vivo* et générer des cellules bêta-like. Les cellules sont placées dans des dispositifs de macroencapsulation sous-cutanés, pouvant être néo-vascularisés par les vaisseaux de l'hôte, mais non immunoprotecteurs (**Figure 4**). Les patients nécessitent par conséquent un traitement immunosuppresseurs. La production d'insuline a pu être détectée dans environ 2/3 des greffons explantés entre 3 et 12 mois après leur l'implantation (Shapiro et al., 2021). Une sécrétion d'insuline, induite par l'alimentation, a été mise en évidence chez certains patients qui ont vu leurs besoins en insuline se réduire, aucun patient n'ayant toutefois atteint l'insulino-indépendance. L'analyse des greffons a par ailleurs révélé que les cellules sécrétrices de glucagon sont les cellules endocrines prédominantes, suggérant que la différenciation des progéniteurs pancréatiques transplantés ait eu lieu principalement vers la voie alpha ou que les cellules alpha auraient un avantage trophique. Enfin, plus de la moitié des cellules macroencapsulées représentent des cellules de l'hôte et en particulier des vaisseaux sanguins qui ont colonisé les greffons au voisinage des cellules endocrines. A noter qu'aucun tératome ne s'est développé à partir des cellules transplantées, gageant de la sécurité du traitement. En résumé, ces travaux plaident en faveur de la faisabilité, de la sécurité et de l'efficacité possible de la transplantation de cellules de l'endoderme pancréatique macro-encapsulées, générées à partir de cellules souches et transplantées chez des patients atteints de diabète de type 1 (Ramzy et al., 2021; Shapiro et al., 2021).

D'autres essais cliniques, menés par la société Vertex (ClinicalTrials.gov identifier NCT04786262), mais non évalués par les pairs à ce stade, ont été rapportés *via* un communiqué de presse en Octobre 2021 (source : <https://www.businesswire.com/news/home/20211018005226/en/>) et présentés au congrès de l'American Diabetes Association (ADA) en juin 2022 (source : <https://www.cgtlive.com/view/islet-cell-therapy-reduces-insulin-dependence-type-1-diabetes>). Dans cette étude, trois patients ont été traités par transplantation de cellules productrices d'insuline générées *in vitro*, à partir de CSP (nom commercial, VX-880), et injectées directement, sans encapsulation, dans le foie *via* la veine porte, comme lors de la transplantation d'îlots de Langerhans. Deux patients ont reçu une demi-dose ; une sécrétion d'insuline en réponse à un stimuli de glucose a été rapportée et le contrôle de la glycémie

amélioré. Un des patients est devenu insulino-indépendant (HbA1c, 5,2% au jour 270), l'autre a réduit de 30% ses besoins en insuline (au jour 150). Les résultats d'un troisième patient ayant reçu une dose complète n'ont pas été communiqués. Il est prévu de déployer cet essai NCT04786262 en Europe et notamment en France, à Lille en 2023. Par ailleurs, Vertex a annoncé en Mars 2023 un nouvel essai clinique sur 17 patients avec le produit VX-264 qui utilise les mêmes cellules bêta que VX-880 additionné d'un dispositif immuno-protecteur, qui éviterait la nécessité d'un traitement immunosuppresseur (source : <https://www.cgtlive.com/view/fda-greenlights-phase-1-2-trialvertex-type-1-diabetes-cell-therapy>).

Conclusion et Directions futures

Dans de futurs essais cliniques, on peut penser qu'il serait préférable de transplanter des cellules bêta obtenues *in vitro* à partir de cellules souches, dont on peut contrôler le nombre et la qualité en amont, plutôt que des progéniteurs pancréatiques dont la différenciation *in vivo* ne peut être garantie. Toutefois, quoique leur fonctionnalité ait été améliorée, les cellules bêta dérivées de cellules souches restent encore différentes des cellules bêta primaires (Balboa et al., 2022). En effet, Balboa et collègues ont décrit que les cellules insulaires bêta générées *in vitro* (SC-bêta) gardent des traits d'immaturation notamment car, contrairement aux cellules bêta natives, elles sécrètent de l'insuline en réponse au pyruvate. Cette caractéristique pourrait être causée par la répression incomplète des gènes « disallowed » dont certains contrôlent la sensibilité au pyruvate (Otonkoski et al., 2007). Dans ces conditions, on peut spéculer que des patients transplantés avec ces cellules risquent des épisodes d'hypoglycémie lors d'exercices physiques. Par conséquent il est important de poursuivre les recherches pour identifier les facteurs promouvant la maturation des SC-bêta lorsqu'elles sont transplantées chez la souris et de reproduire au mieux ces conditions *in vitro*.

Les îlots de Langerhans sont des micro-organes vascularisés et innervés dont les différents types cellulaires endocrines communiquent entre eux via des interactions paracrines pour contrôler la glycémie (Moede et al., 2020). L'architecture particulière des îlots humains favorise ces interactions. De plus, les cellules alpha étant également affectées dans le diabète de type 1 (Brissova et al., 2018), on peut penser qu'il serait préférable de reconstituer ces micro-organes *in vitro* (encore appelés SC-islets) et de les transplanter pour une restauration optimale de la régulation glycémique. Toutefois, à ce jour, le nombre, la proportion et l'organisation des différents types cellulaires insulaires obtenus, *in vitro*, ne sont pas contrôlés. Une meilleure compréhension des mécanismes de formation des îlots de Langerhans humains est donc nécessaire. En effet, bien que les mécanismes de différenciation des cellules insulaires semblent bien conservés entre la souris et l'homme, de nombreuses différences existent. L'organisation cellulaire des îlots est différente; chez la souris, les cellules alpha et delta sont situées en périphérie des îlots ; chez l'homme, elles sont imbriquées au sein des cellules bêta. Le profil d'expression de certains facteurs de transcription est également différent entre les deux organismes. Ainsi, MAFB est restreint aux cellules alpha chez la souris adulte mais également exprimé dans les cellules bêta chez l'homme (Dai et al., 2012). L'avènement des technologies multi-omics à l'échelle de la cellule unique a, de façon spectaculaire, permis d'établir les signatures transcriptomiques et épigénétiques des différents états cellulaires et des trajectoires de différenciation des cellules insulaires dans le pancréas fœtal humain (Cao et al., 2020; Domcke et al., 2020; Gonçalves et al., 2021; Olaniru et al., 2023; Sean et al., 2022; Yu et al., 2021) et de leur identité dans le pancréas adulte (Chiou et al., 2021; Muraro et al., 2016). Ces informations permettent d'établir et de tester de nouvelles hypothèses quant aux voies de

signalisation et aux réseaux de régulation transcriptionnelle qui contrôlent le développement et la fonctionnalité des cellules endocrines pancréatiques humaines (Zhu et al., 2023).

Les résultats publiés des premiers essais cliniques sont encourageants et établissent les prémises d'une preuve de concept d'une thérapie cellulaires du diabète de type 1 à partir de cellules pancréatiques dérivés *in vitro* de cellules souches. Comme discuté plus haut, un des défis consiste à présent à améliorer la fonctionnalité des cellules obtenues *in vitro*. Un autre challenge est de continuer à s'assurer de l'innocuité des traitements thérapeutiques à base de cellules souches, afin d'éviter la formation de tératome à partir de cellules indifférenciées résiduelles. Dans ce but, des étapes de purification ou l'introduction de gènes suicides permettant d'éliminer les cellules tumorales sont envisageables (Martin et al., 2020; Wu et al., 2019). Toutefois, le défi majeur consiste à protéger les cellules greffées de leur immuno-destruction, tout en permettant leur oxygénation, la détection des nutriments et la sécrétion d'insuline et en s'affranchissant des traitements immunosuppresseurs au long cours. Dans cet objectif, des techniques de macro- et micro-encapsulation (Desai and Shea, 2017; Hanna and Berishvili, 2022) sont explorées. La co-transplantation de cellules SC-bêta dérivées de cellules souches avec des micro-vaisseaux permet d'améliorer la survie cellulaire et la réponse au glucose (Aghazadeh et al., 2021). D'autres stratégies consistent à générer des cellules insulino-sécrétrices à partir de cellules souches pluripotentes rendues hypo-immunes par modification génétique (Deuse et al., 2019) ou encore à induire localement une immunotolérance (Wang et al., 2021). Dans ce sens, Vertex en collaboration avec CRISPR Therapeutics, a annoncé un nouvel essai clinique pour 2023 (ClinicalTrials.gov identifier NCT05210530) avec le produit VCTX210A composé de cellules de l'endoderme pancréatique dérivées des CPS modifiées par CRISPR/Cas9 pour échapper au système immunitaire. Enfin, bien que le foie soit toujours l'organe cible privilégié pour la greffe des îlots cadavériques comme celle des SC-islets, des sites alternatifs sont explorés qui permettraient de suivre, réalimenter ou retirer le greffon si nécessaire.

En conclusion, de façon remarquable, en deux décennies de recherche intense et transversale, la compréhension du développement du pancréas et de la formation des cellules bêta s'est traduite par la mise en place des premiers essais cliniques visant à traiter le diabète de type 1 par transplantation de cellules insulino-sécrétrices générées à partir de cellules souches pluripotentes. A ce rythme, on peut espérer que les derniers obstacles pourront être surmontés dans la prochaine décennie et, si aucun effet adverse majeur n'émerge, qu'une thérapie cellulaire de diabète sûre et efficace puisse être proposée à de nombreux patients diabétiques.

Bibliographie

- Aghazadeh, Y., Poon, F., Sarangi, F., Wong, F. T. M., Khan, S. T., Sun, X., Hatkar, R., Cox, B. J., Nunes, S. S. and Nostro, M. C. (2021). Microvessels support engraftment and functionality of human islets and hESC-derived pancreatic progenitors in diabetes models. *Cell Stem Cell*.
- Balboa, D., Barsby, T., Lithovius, V., Saarimäki-Vire, J., Omar-Hmeadi, M., Dyachok, O., Montaser, H., Lund, P.-E., Yang, M., Ibrahim, H., et al. (2022). Functional, metabolic and transcriptional maturation of human pancreatic islets derived from stem cells. *Nat Biotechnol* 40, 1042–1055.
- Brissova, M., Haliyur, R., Saunders, D., Shrestha, S., Dai, C., Blodgett, D. M., Bottino, R., Campbell-Thompson, M., Aramandla, R., Poffenberger, G., et al. (2018). α Cell Function and Gene Expression Are Compromised in Type 1 Diabetes. *Cell Reports* 22, 2667–2676.
- Cao, J., O’Day, D. R., Pliner, H. A., Kingsley, P. D., Deng, M., Daza, R. M., Zager, M. A., Aldinger, K. A., Blecher-Gonen, R., Zhang, F., et al. (2020). A human cell atlas of fetal gene expression. *Science* 370, eaba7721.
- Chiou, J., Zeng, C., Cheng, Z., Han, J. Y., Schlichting, M., Miller, M., Mendez, R., Huang, S., Wang, J., Sui, Y., et al. (2021). Single-cell chromatin accessibility identifies pancreatic islet cell type- and state-specific regulatory programs of diabetes risk. *Nat Genet* 53, 455–466.
- Dai, C., Brissova, M., Hang, Y., Thompson, C., Poffenberger, G., Shostak, A., Chen, Z., Stein, R. and Powers, A. C. (2012). Islet-enriched gene expression and glucose-induced insulin secretion in human and mouse islets. *Diabetologia* 55, 707–718.
- D’Amour, K. A., Bang, A. G., Eliazar, S., Kelly, O. G., Agulnick, A. D., Smart, N. G., Moorman, M. A., Kroon, E., Carpenter, M. K. and Baetge, E. E. (2006). Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 24, 1392–1401.
- Davis, J. C., Alves, T. C., Helman, A., Chen, J. C., Kenty, J. H., Cardone, R. L., Liu, D. R., Kibbey, R. G. and Melton, D. A. (2020). Glucose Response by Stem Cell-Derived β Cells In Vitro Is Inhibited by a Bottleneck in Glycolysis. *Cell Reports* 31, 107623.
- Desai, T. and Shea, L. D. (2017). Advances in islet encapsulation technologies. *Nat Rev Drug Discov* 16, 338–350.
- Deuse, T., Hu, X., Gravina, A., Wang, D., Tediashvili, G., De, C., Thayer, W. O., Wahl, A., Garcia, J. V., Reichenspurner, H., et al. (2019). Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients. *Nat Biotechnol* 37, 252–258.
- Domcke, S., Hill, A. J., Daza, R. M., Cao, J., O’Day, D. R., Pliner, H. A., Aldinger, K. A., Pokholok, D., Zhang, F., Milbank, J. H., et al. (2020). A human cell atlas of fetal chromatin accessibility. *Science* 370, eaba7612.
- Dor, Y., Brown, J., Martinez, O. I. and Melton, D. A. (2004). Adult pancreatic β -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 429, 41–46.

- Gonçalves, C. A., Larsen, M., Jung, S., Stratmann, J., Nakamura, A., Leuschner, M., Hersemann, L., Keshara, R., Perlman, S., Lundvall, L., et al. (2021). A 3D system to model human pancreas development and its reference single-cell transcriptome atlas identify signaling pathways required for progenitor expansion. *Nat Commun* 12, 3144.
- Gribben, C., Lambert, C., Messal, H. A., Hubber, E.-L., Rackham, C., Evans, I., Heimberg, H., Jones, P., Sancho, R. and Behrens, A. (2021). Ductal Ngn3-expressing progenitors contribute to adult β cell neogenesis in the pancreas. *Cell Stem Cell*.
- Hanna, R. and Berishvili, E. (2022). Advances and challenges of endocrine pancreas bioengineering. *Curr Opin Endocr Metabolic Res* 23, 100320.
- Helman, A., Cangelosi, A. L., Davis, J. C., Pham, Q., Rothman, A., Faust, A. L., Straubhaar, J. R., Sabatini, D. M. and Melton, D. A. (2020). A Nutrient-Sensing Transition at Birth Triggers Glucose-Responsive Insulin Secretion. *Cell Metab* 31, 1004-1016.e5.
- Hogrebe, N. J., Augsornworawat, P., Maxwell, K. G., Velazco-Cruz, L. and Millman, J. R. (2020). Targeting the cytoskeleton to direct pancreatic differentiation of human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 38, 460–470.
- Hrvatin, S., O'Donnell, C. W., Deng, F., Millman, J. R., Pagliuca, F. W., Dilorio, P., Reznia, A., Gifford, D. K. and Melton, D. A. (2014). Differentiated human stem cells resemble fetal, not adult, β cells. *Proc National Acad Sci* 111, 3038–3043.
- Jennings, R. E., Berry, A. A., Kirkwood-Wilson, R., Roberts, N. A., Hearn, T., Salisbury, R. J., Blaylock, J., Hanley, K. P. and Hanley, N. A. (2013). Development of the Human Pancreas From Foregut to Endocrine Commitment. *Diabetes* 62, 3514–3522.
- Kaestner, K. H., Campbell–Thompson, M., Dor, Y., Gill, R. G., Glaser, B., Kim, S. K., Sander, M., Stabler, C., Stewart, A. F. and Powers, A. C. (2021). What is a β cell? – Chapter I in the Human Islet Research Network (HIRN) review series. *Mol Metab* 53, 101323.
- Kroon, E., Martinson, L. A., Kadoya, K., Bang, A. G., Kelly, O. G., Eliazar, S., Young, H., Richardson, M., Smart, N. G., Cunningham, J., et al. (2008). Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol* 26, 443–452.
- Liu, J. S. E. and Hebrok, M. (2017). All mixed up: defining roles for β -cell subtypes in mature islets. *Gene Dev* 31, 228–240.
- Magenheim, J., Maestro, M. A., Sharon, N., Herrera, P. L., Murtaugh, L. C., Kopp, J., Sander, M., Gu, G., Melton, D. A., Ferrer, J., et al. (2023). Matters arising: Insufficient evidence that pancreatic β cells are derived from adult ductal Neurog3-expressing progenitors. *Cell Stem Cell* 30, 488-497.e3.
- Mamidi, A., Prawiro, C., Seymour, P. A., Lichtenberg, K. H. de, Jackson, A., Serup, P. and Semb, H. (2018). Mechanosignalling via integrins directs fate decisions of pancreatic progenitors. *Nature* 564, 114–118.
- Martin, R. M., Fowler, J. L., Cromer, M. K., Lesch, B. J., Ponce, E., Uchida, N., Nishimura, T., Porteus, M. H. and Loh, K. M. (2020). Improving the safety of human pluripotent stem cell therapies using genome-edited orthogonal safeguards. *Nat Commun* 11, 2713.

- Mastracci, T. L. and Sussel, L. (2012). The endocrine pancreas: insights into development, differentiation, and diabetes. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biology* 1, 609–628.
- Moede, T., Leibiger, I. B. and Berggren, P.-O. (2020). Alpha cell regulation of beta cell function. *Diabetologia* 63, 2064–2075.
- Muraro, M. J., Dharmadhikari, G., Grün, D., Groen, N., Dielen, T., Jansen, E., van Gorp, L., Engelse, M. A., Carlotti, F., de Koning, E. J. P., et al. (2016). A Single-Cell Transcriptome Atlas of the Human Pancreas. *Cell Syst* 3, 385-394.e3.
- Nguyen-Ngoc, K.-V., Wortham, M. and Sander, M. (2022). Sizing up beta cells made from stem cells. *Nat Biotechnol* 1–3.
- Olaniru, O. E., Kadolsky, U., Kannambath, S., Vaikkinen, H., Fung, K., Dhami, P. and Persaud, S. J. (2023). Single-cell transcriptomic and spatial landscapes of the developing human pancreas. *Cell Metab* 35, 184-199.e5.
- Otonkoski, T., Jiao, H., Kaminen-Ahola, N., Tapia-Paez, I., Ullah, M. S., Parton, L. E., Schuit, F., Quintens, R., Sipilä, I., Mayatepek, E., et al. (2007). Physical Exercise–Induced Hypoglycemia Caused by Failed Silencing of Monocarboxylate Transporter 1 in Pancreatic β Cells. *Am J Hum Genetics* 81, 467–474.
- Pagliuca, F. W., Millman, J. R., Gürtler, M., Segel, M., Van Dervort, A., Ryu, J. H., Peterson, Q. P., Greiner, D. and Melton, D. A. (2014). Generation of Functional Human Pancreatic β Cells In Vitro. *Cell* 159, 428–439.
- Pan, F. C. and Wright, C. (2011). Pancreas organogenesis: From bud to plexus to gland. *Dev Dynam* 240, 530–565.
- Petersen, M. B. K., Azad, A., Ingvorsen, C., Hess, K., Hansson, M., Grapin-Botton, A. and Honoré, C. (2017). Single-Cell Gene Expression Analysis of a Human ESC Model of Pancreatic Endocrine Development Reveals Different Paths to β -Cell Differentiation. *Stem Cell Rep* 9, 1246–1261.
- Petersen, M. B. K., Gonçalves, C. A. C., Kim, Y. H. and Grapin-Botton, A. (2018). Recapitulating and Deciphering Human Pancreas Development From Human Pluripotent Stem Cells in a Dish. *Curr Top Dev Biol* 129, 143–190.
- Ramzy, A., Thompson, D. M., Ward-Hartstonge, K. A., Ivison, S., Cook, L., Garcia, R. V., Loyal, J., Kim, P. T. W., Warnock, G. L., Levings, M. K., et al. (2021). Implanted pluripotent stem-cell-derived pancreatic endoderm cells secrete glucose-responsive C-peptide in patients with type 1 diabetes. *Cell Stem Cell* 28, 2047-2061.e5.
- Rezania, A., Riedel, M. J., Wideman, R. D., Karanu, F., Ao, Z., Warnock, G. L. and Kieffer, T. J. (2011). Production of Functional Glucagon-Secreting α -Cells From Human Embryonic Stem Cells. *Diabetes* 60, 239–247.
- Rezania, A., Bruin, J. E., Arora, P., Rubin, A., Batushansky, I., Asadi, A., O’Dwyer, S., Quiskamp, N., Mojibian, M., Albrecht, T., et al. (2014). Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 32, 1121–1133.

- Russ, H. A., Parent, A. V., Ringler, J. J., Hennings, T. G., Nair, G. G., Shveygert, M., Guo, T., Puri, S., Haataja, L., Cirulli, V., et al. (2015). Controlled induction of human pancreatic progenitors produces functional beta-like cells in vitro. *Embo J* 34, 1759–1772.
- Sean, de la O., Liu, Z., Sun, H., Yu, S. K., Wong, D. M., Chu, E., Rao, S. A., Eng, N., Peixoto, G., Bouza, J., et al. (2022). Single-Cell Multi-Omic Roadmap of Human Fetal Pancreatic Development. *Biorxiv* 2022.02.17.480942.
- Shapiro, A. M. J., Lakey, J. R. T., Ryan, E. A., Korbitt, G. S., Toth, E., Warnock, G. L., Kneteman, N. M. and Rajotte, R. V. (2000). Islet Transplantation in Seven Patients with Type 1 Diabetes Mellitus Using a Glucocorticoid-Free Immunosuppressive Regimen. *New Engl J Medicine* 343, 230–238.
- Shapiro, A. M. J., Thompson, D., Donner, T. W., Bellin, M. D., Hsueh, W., Pettus, J., Wilensky, J., Daniels, M., Wang, R. M., Brandon, E. P., et al. (2021). Insulin expression and C-peptide in type 1 diabetes subjects implanted with stem cell-derived pancreatic endoderm cells in an encapsulation device. *Cell Reports Medicine* 2, 100466.
- Shcheglova, E., Blaszczyk, K. and Borowiak, M. (2022). Mitogen Synergy: An Emerging Route to Boosting Human Beta Cell Proliferation. *Frontiers Cell Dev Biology* 9, 734597.
- Shih, H. P., Wang, A. and Sander, M. (2012). Pancreas Organogenesis: From Lineage Determination to Morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Bi* 29, 81–105.
- Shirakawa, J. and Kulkarni, R. N. (2016). Novel factors modulating human β -cell proliferation. *Diabetes Obes Metabolism* 18, 71–77.
- Vantyghem, M.-C., Koning, E. J. P. de, Pattou, F. and Rickels, M. R. (2019). Advances in β -cell replacement therapy for the treatment of type 1 diabetes. *Lancet* 394, 1274–1285.
- Velazco-Cruz, L., Song, J., Maxwell, K. G., Goedegebuure, M. M., Augsornworawat, P., Hoglebe, N. J. and Millman, J. R. (2019). Acquisition of Dynamic Function in Human Stem Cell-Derived β Cells. *Stem Cell Rep* 12, 351–365.
- Wang, X., Brown, N. K., Wang, B., Shariati, K., Wang, K., Fuchs, S., Melero-Martin, J. M. and Ma, M. (2021). Local Immunomodulatory Strategies to Prevent Allo-Rejection in Transplantation of Insulin-Producing Cells. *Adv Sci* 8, 2003708.
- Wu, Y., Chang, T., Long, Y., Huang, H., Kandeel, F. and Yee, J.-K. (2019). Using Gene Editing to Establish a Safeguard System for Pluripotent Stem-Cell-Based Therapies. *Science* 22, 409–422.
- Yu, X.-X., Qiu, W.-L., Yang, L., Wang, Y.-C., He, M.-Y., Wang, D., Zhang, Y., Li, L.-C., Zhang, J., Wang, Y., et al. (2021). Sequential progenitor states mark the generation of pancreatic endocrine lineages in mice and humans. *Cell Res* 31, 886–903.
- Zhou, Q., Law, A. C., Rajagopal, J., Anderson, W. J., Gray, P. A. and Melton, D. A. (2007). A Multipotent Progenitor Domain Guides Pancreatic Organogenesis. *Dev Cell* 13, 103–114.
- Zhu, H., Wang, G., Nguyen-Ngoc, K.-V., Kim, D., Miller, M., Goss, G., Kovsky, J., Harrington, A. R., Saunders, D. C., Hopkirk, A. L., et al. (2023). Understanding cell fate acquisition in stem-cell-derived pancreatic islets using single-cell multiome-inferred regulomes. *Dev Cell*.

Zorn, A. M. and Wells, J. M. (2009). Vertebrate Endoderm Development and Organ Formation. *Cell Dev Biology* 25, 221–251.

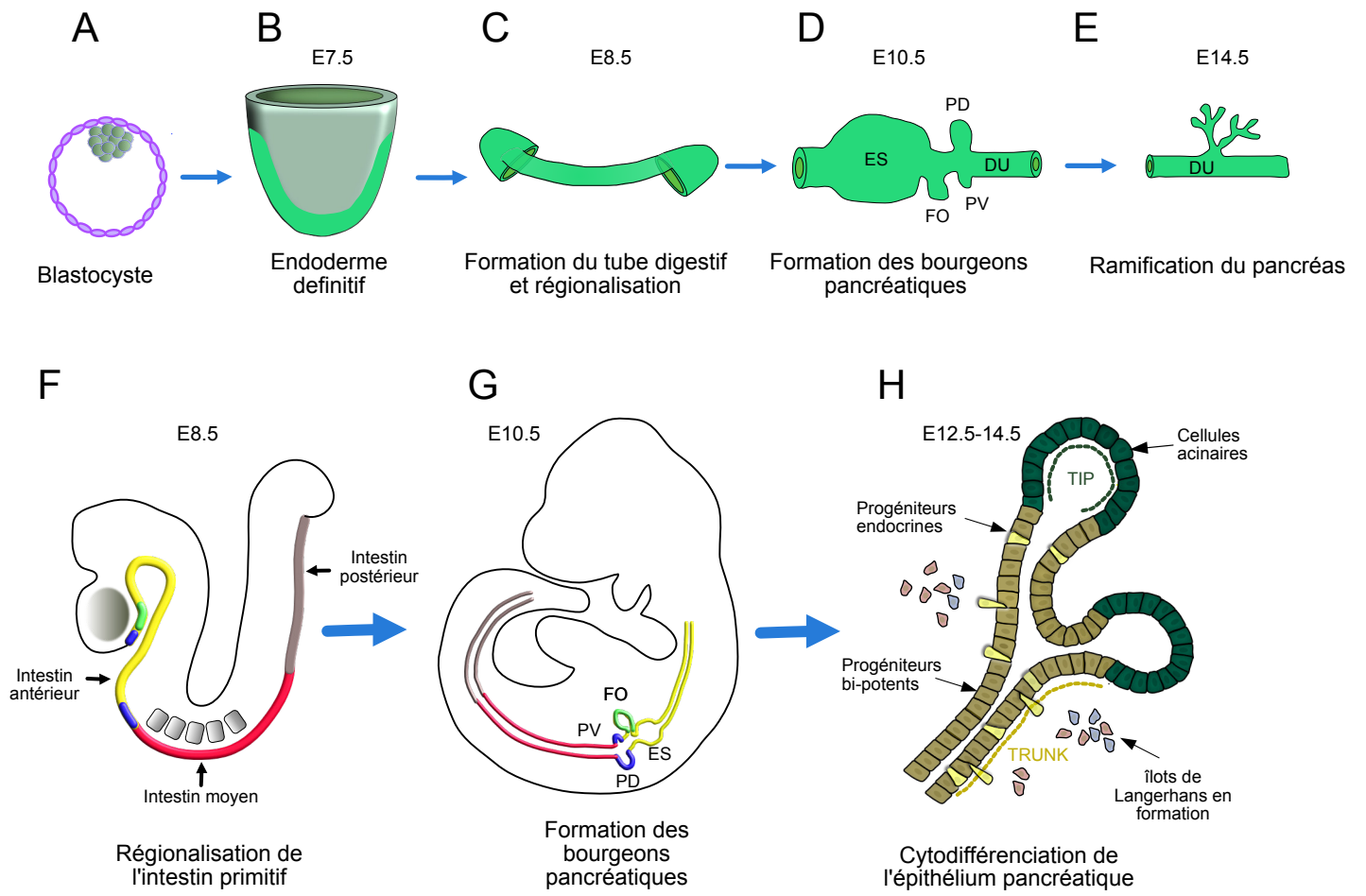


Figure 1

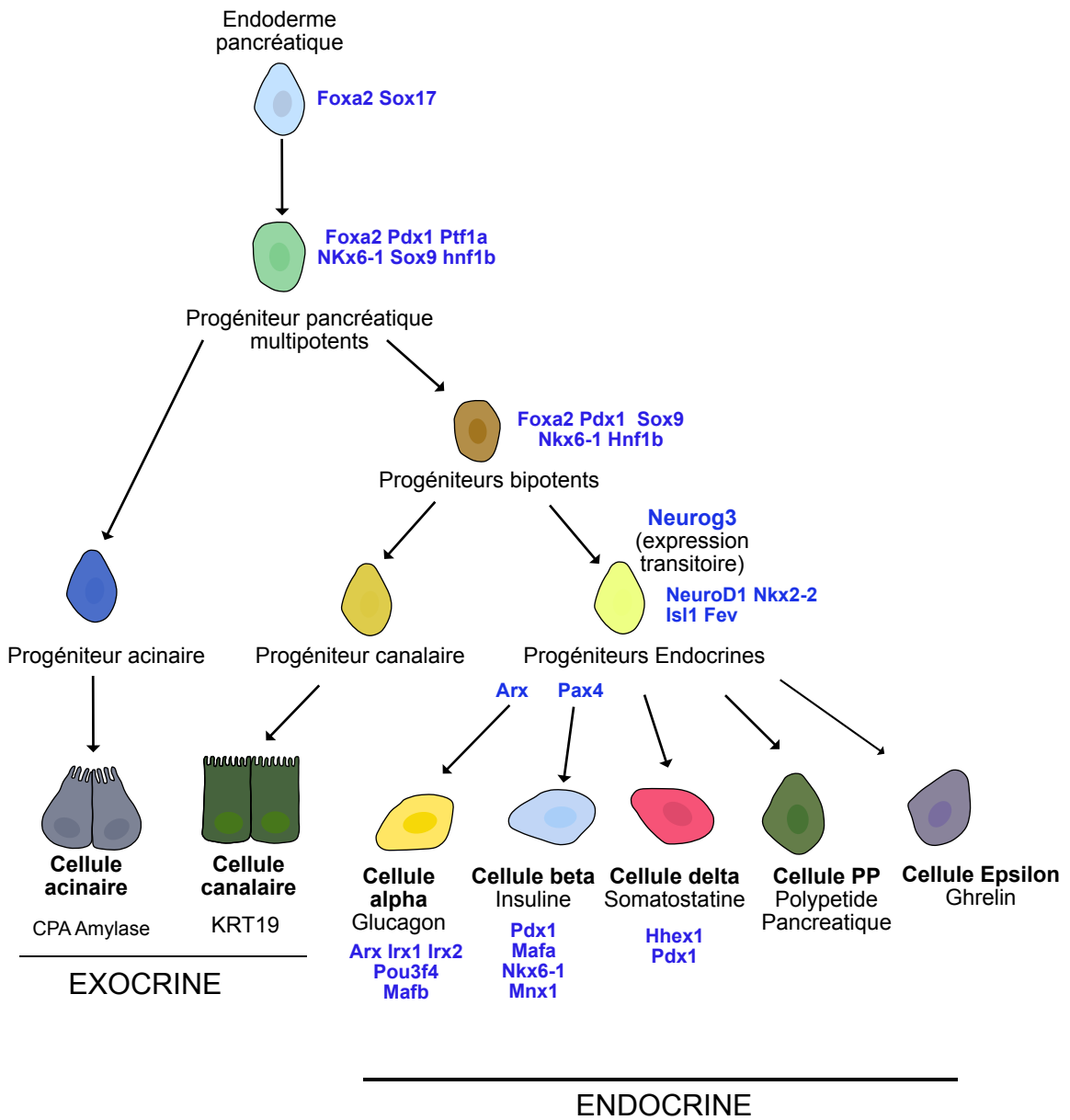


Figure 2

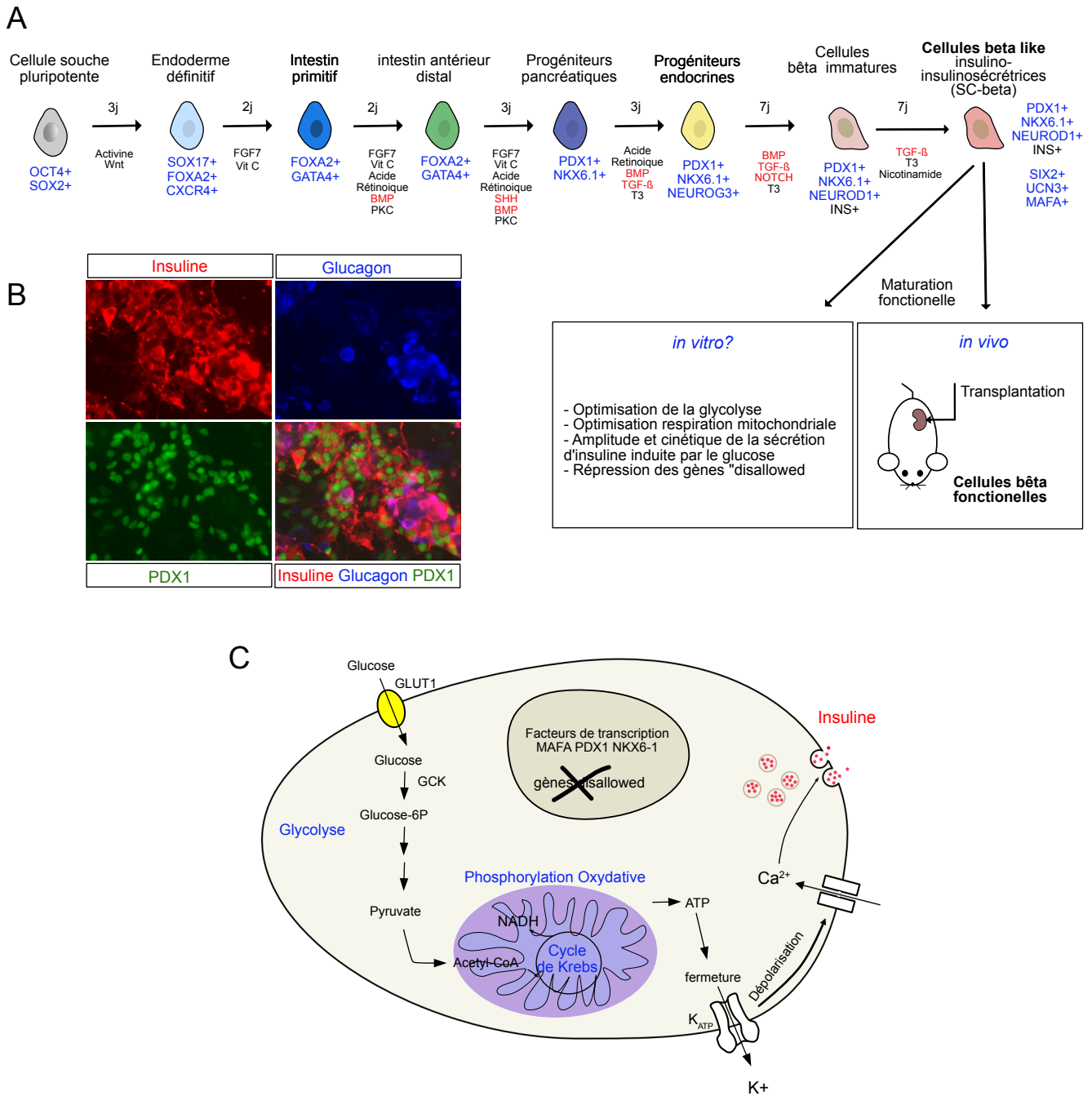


Figure 3

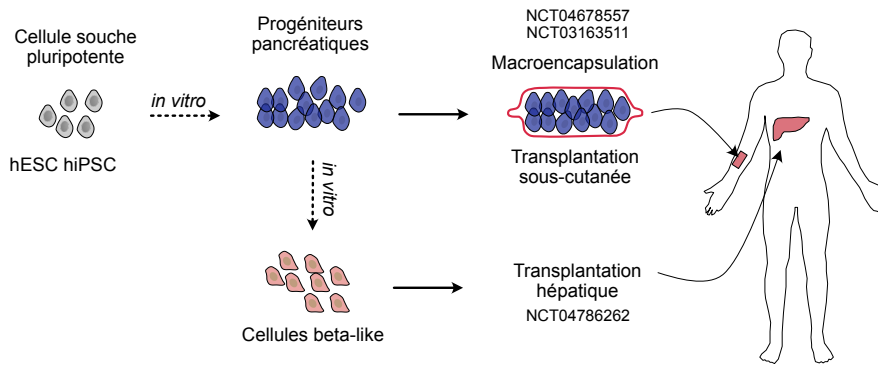


Figure 4

Légendes

Figure 1 : Développement du pancréas chez la souris

(A-E) Représentations schématiques des principales étapes de l'organogenèse pancréatique chez la souris, du blastocyste (A) aux jours embryonnaires E7,5 (B), E8,5 (C), E10,5 (D) et E14,5 (E). (F, G) Représentation schématiques en coupe sagittale illustrant la régionalisation de l'endoderme digestif à E8,5 (F) et la formation des bourgeons pancréatiques à E10,5 (G). (H) Schéma illustrant la formation des cellules endocrines des îlots de Langerhans par délamination et différenciation de progéniteurs endocrines de l'épithélium pancréatique au niveau des régions « trunk » entre E12,5 et E14,5. En F et G : endoderme antérieur (jaune), moyen (rouge), postérieur (brun) ; territoires présomptifs et bourgeons pancréatiques (bleu) et hépatique (vert). Pancréas ventral (PV), pancréas dorsal (PD), estomac (ES), foie (FO), duodenum (DU).

Figure 2 : Cascades de régulations transcriptionnelles contrôlant la formation des cellules endocrines pancréatiques au cours de l'embryogenèse chez la souris

Des réseaux de régulation transcriptionnelle contrôlent la formation et l'identité des différents types cellulaires endocrines et exocrines au cours de l'embryogenèse pancréatique. Les progéniteurs endocrines émanent de progéniteurs bipotents (endocrines-canaliaires) puis, sous l'impulsion de programmes génétiques spécifiques, adoptent des destinées différentes et se spécialisent pour donner naissance aux différents types de cellules endocrines des îlots de Langerhans.

Figure 3 : Génération de cellules insulino-sécrétrices humaines *in vitro* par différenciation de cellules souches pluripotentes.

(A) Représentation schématique du protocole de différenciation en 7 étapes de cellules souches pluripotentes (embryonnaires ou induites) en cellules insulino-sécrétrices (dites SC-bêta ou beta-like). Les SC-beta sont obtenues en mimant le développement embryonnaire par la stimulation (noir) ou l'inhibition (rouge) des voies de signalisation indiquées sous les flèches. Les différentes étapes peuvent être contrôlées par l'expression de facteurs de transcriptions spécifiques (en bleu). La réponse au glucose des cellules obtenues *in vitro* n'est pas optimale, leur maturation fonctionnelle peut être améliorée par transplantation *in vivo* sous la capsule rénale de souris receveuse. Les conditions assurant la maturation des SC-bêta *in vitro* sont à l'étude. (B) Immuno-fluorescence de cellules SC-bêta obtenues *in vitro* à partir de cellules pluripotentes souches induites montrant l'expression de l'insuline (rouge) et du facteur de transcription PDX1 (noyaux vert). Certaines cellules insuline+ co-expriment du glucagon (bleu) elles sont dites poly-hormonales. Les cellules glucagon + insuline- représentent les cellules SC-alpha (C) Principales étapes de la sécrétion d'insuline induite par le glucose dans la cellule beta mature. Le glucose entre dans la cellule beta via le transporteur de glucose GLUT1, puis est métabolisé en Glucose-6-phosphate par l'enzyme Glucokinase (GCK ou HK1). Lors de la glycolyse puis de la phosphorylation oxydative dans la mitochondrie, la métabolisation du Glucose-6-phosphate produit de l'ATP. L'augmentation du ration ATP/ADP stimule la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants et une dépolarisation de la membrane plasmique, entraînant l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'augmentation du calcium cytoplasmique provoque la fusion des granules de sécrétion contenant l'insuline avec la membrane plasmique et la sécrétion de l'insuline dans circulation sanguine.

Figure 4 : Thérapie cellulaire du diabète de type 1 à l'aide de cellules générées *in vitro* à partir de cellules souches pluripotentes : essais cliniques en cours

Deux types d'essais cliniques ont été rapportés, soit par transplantation sous-cutanée de progéniteurs pancréatiques dans un système de macroencapsulation et dont le développement en cellules bêta-like se fait post-transplantation, soit par transplantation hépatiques de cellules bêta-like.