

**EXPOSÉ PAR G. ROUSSEAU, membre titulaire**

Monsieur le Ministre, Messieurs les Secrétaires perpétuels, Messieurs les Présidents, chers confrères, Mesdames, Messieurs,

Christophe Colomb a découvert l'Amérique en cherchant à atteindre l'Inde. De même, en recherche scientifique faire une découverte c'est trouver autre chose que ce

que l'on cherchait et ainsi faire progresser les connaissances. Si j'ai l'honneur d'occuper cette tribune, c'est que cette chance m'a été donnée au cours d'une carrière résumée par le Professeur Christophe, ce dont je le remercie chaleureusement.

J'ai bénéficié de trois atouts : le territoire à explorer était pratiquement inconnu ; j'ai rencontré sur ma route des personnes d'exception ; et j'ai profité, comme les princes de Serendip immortalisés par Walpole, du caractère inattendu d'observations fortuites, la « serendipity » de nos confrères anglo-saxons.

Mon domaine de recherche était la transmission de l'information dans la cellule ; mon objectif, comprendre comment la cellule décode certains messages chimiques qui lui arrivent par le sang : les hormones stéroïdes.

Lorsque j'entreprends mes travaux, il y a quarante ans, on ignore comment sont contrôlés les supports physiques de l'information dans la cellule, l'ADN et l'ARN messenger. Rappelons que l'ADN de chacune de nos cellules contient tous nos gènes, dans une langue de quatre lettres. Cette bibliothèque comprend trois milliards de lettres. A raison de mille lettres par page, cela donne trois millions de pages, soit dix mille volumes de trois cents pages, rangés sur les vingt-trois étagères que sont nos chromosomes. L'ARN messenger, lui, est la copie d'une de ces pages contenant les instructions pour fabriquer l'une ou l'autre des milliers de protéines différentes qui exécutent les fonctions cellulaires. Il y a donc des milliers d'ARN messagers différents, d'où la question : Comment se fait le choix de la bonne page à transcrire, au bon moment et dans le bon organe ?

Quant à mon objectif, le mécanisme d'action des hormones stéroïdes, on savait que l'une d'elle, la cortisone, stimule dans le foie l'activité de certaines protéines, notamment des enzymes du métabolisme du glucose. L'hypothèse était que la cortisone interagissait directement avec l'enzyme qu'elle stimule.

Mais retournons en 1960 à Tübingen chez le Professeur Clever, qui s'intéresse à l'ADN. Il étudie les glandes salivaires d'une espèce de moustique car elles contiennent des chromosomes géants visibles au microscope. Le problème est que ces glandes salivaires meurent rapidement après avoir été isolées. Clever apprend que Karlson, de Marburg, a réussi à purifier une hormone de la métamorphose des insectes, l'ecdysone. Karlson avait relancé un élevage de vers à soie installé secrètement pendant la guerre pour fabriquer des parachutes militaires. Il était parvenu à obtenir quelques milligrammes d'ecdysone à partir de 500 kg de chrysalides. Clever pense que l'ecdysone pourrait prolonger la survie des glandes salivaires et il invite Karlson pendant les vacances. A la surprise des deux chercheurs, l'ecdysone fait gonfler les chromosomes en quelques minutes : elle agit donc via l'ADN !

Lorsqu'en 1963 Karlson établit que l'ecdysone est un stéroïde, il formule une hypothèse révolutionnaire : les hormones stéroïdes peuvent agir sur les gènes. Cependant, l'ARN messenger des eucaryotes ne sera découvert que quatre ans plus tard par Arsène Burny dans l'équipe d'Hubert Chantrenne à l'U.L.B. C'est là, puis chez Jean Crabbé à l'U.C.L. et Gordon Tomkins à San Francisco que je pus étudier l'action des stéroïdes sur tissus

isolés, puis sur cellules en culture. De plus, nous disposions de stéroïdes radioactifs, dont le cheminement dans la cellule pouvait donc être suivi à la trace.

Nos résultats – nous sommes au début des années 1970 – discréditent l'idée, encore à la mode, d'une interaction entre stéroïde et enzyme. Ils plaident au contraire pour un mécanisme inattendu chez les mammifères, mais conformes à l'hypothèse de Karlson. Ainsi, nous démontrons que l'hormone stéroïde est d'abord reconnue par un récepteur, non pas à la surface de la cellule comme pour d'autres hormones, mais à l'intérieur de celle-ci. Le complexe hormone-récepteur se fixe alors sur l'ADN, et il y stimule la transcription, en ARN messenger, du gène qui code la protéine cible.

Pour mon premier maître en recherche, le Professeur Jacques Genest de Montréal, une mission du chercheur est d'ouvrir des portes. Notre découverte en ouvrait trois, dont j'étudiai les perspectives chez Michel De Visscher à l'Institut de Duve. Premièrement, nous montrions que certaines affections s'expliquent par une anomalie des récepteurs d'hormones. Deux, nous pouvions entreprendre sur nos récepteurs l'étude des relations entre la structure des stéroïdes et leur activité. Ainsi, nous avons décrit de nouvelles molécules synthétiques qui miment l'action des stéroïdes ou qui s'y opposent, notamment des anti-glucocorticoïdes et des anti-androgènes. Quant à la troisième porte, elle s'ouvrait sur une question plus générale, que nous abordons dans les années 1980 : par quel mécanisme l'expression des gènes est-elle contrôlée chez les organismes supérieurs ? Le récepteur stéroïde agit-il comme les inducteurs et les répresseurs des gènes chez les bactéries ?

Il nous faut donc cloner un gène cible de ce récepteur. Nous choisissons le gène de la phosphofructokinase-2, une enzyme du métabolisme du glucose étudiée par Louis Hue dans notre laboratoire. Ici encore, les résultats sont inattendus. Le décryptage de ce gène nous y révèle des séquences d'ADN correspondant à des commutateurs qui déclenchent ou éteignent la transcription du gène et ce en plusieurs versions d'ARN messenger. Telle séquence du gène reconnaît le récepteur stéroïde, telle autre relaie l'action de l'insuline, certaines séquences fixent des produits d'oncogènes (gènes qui provoquent des tumeurs), une séquence enfin porte l'empreinte d'un facteur inconnu dont je vais reparler. Ainsi, de nouvelles portes s'ouvrent, l'une pour mieux comprendre le rôle de l'insuline et donc le diabète, une autre pour expliquer la consommation excessive du glucose par les cellules cancéreuses, le fameux « Effet Warburg ».

Mais revenons au facteur inconnu qui se fixe sur le gène de la phosphofructokinase-2. Il y déclenche la transcription d'un ARN messenger qui n'apparaît que dans le foie. Le clonage de ce facteur par Frédéric Lemaigre dans mon laboratoire montre qu'il s'agit d'un nouveau type de « facteur de transcription tissulaire », c'est-à-dire une protéine qui « allume » ou « éteint » certains gènes, dans un tissu donné, à un moment précis. Ce nouveau facteur, que nous baptisons HNF-6, ne se fixe pas que sur le gène de la phosphofructokinase-2. Il est en fait capable d'allumer en cascade une batterie de gènes dans le foie et le pancréas. Bien plus, certains de ces gènes transcrits par HNF-6 codent eux-mêmes des facteurs de transcription. Comparons ces derniers à des coupe-

circuits qui contrôlent chacun une ou plusieurs lampes, à savoir leurs gènes cibles et les protéines qu'ils codent. Puisque HNF-6 contrôle ces coupe-circuits, il est un fusible général dans la domotique de la cellule.

Que se passe-t-il si nous faisons sauter ce fusible ? « Fabriquons » donc une souris dépourvue d'HNF-6. Pour ce faire, nous repérons, parmi les trois millions de pages de la bibliothèque génétique de l'animal, celle qui code HNF-6, et nous l'éliminons. La souris en question transmet cette censure à sa descendance, et qu'observons-nous ? Les souris « knock-out » pour HNF-6 manifestent un diabète et une cirrhose biliaire. De plus, ces pathologies résultent en partie de perturbations du développement du pancréas et du foie chez l'embryon. Dans le pancréas, des kystes apparaissent et on ne trouve pas d'îlots de Langerhans – ces amas de cellules qui produisent l'insuline. Dans le foie, on constate des anomalies du développement des voies biliaires, comme dans certaines maladies humaines. Voilà une notion nouvelle : HNF-6 contrôle non seulement le métabolisme dans le foie adulte, mais aussi des programmes de différenciation des tissus.

Entre-temps, nous découvrons dans le génome deux gènes quasi identiques à celui qui code HNF-6. Nous montrons ainsi qu'HNF-6 est le prototype d'une nouvelle famille de facteurs de transcription que nous appelons « Onecut ». Ces facteurs ont été strictement conservés au cours de l'évolution, du ver à l'homme, en passant par l'oursin et la mouche. Ils interviennent à des stades embryonnaires précis, uniquement dans le système nerveux et dans le tube digestif et ses annexes, foie et pancréas. Comme nous l'avons fait pour HNF-6, nous inactivons chez la souris les deux gènes Onecut apparentés à HNF-6. Nous complétons ces expériences de « pertes de fonction » par des « gains de fonction », en mettant au point des systèmes de transfert de gènes dans des embryons de souris en culture et dans des tissus isolés de ces embryons. Ces expériences, menées au cours des cinq dernières années, sont fertiles en résultats dans plusieurs domaines.

Premièrement, elles dévoilent de nouveaux mécanismes du contrôle spatio-temporel de l'organogenèse par des réseaux de facteurs de transcription dont nous avons précisé la hiérarchie. Nos facteurs Onecut y contrôlent directement ou indirectement des programmes successifs de différenciation. Ainsi, dans le tube digestif primitif, les facteurs Onecut imposent à des cellules pluripotentes un destin pancréatique. Ensuite, ces facteurs organisent la morphogenèse du pancréas, puis régissent la différenciation des cellules endocrines, donc la production d'insuline, et la différenciation des canaux. Dans le foie embryonnaire, les facteurs Onecut provoquent la migration et la prolifération des hépatoblastes, et ils dictent à ces précurseurs comment se différencier en cellules hépatiques ou en cellules biliaires.

Deuxièmement, nos travaux concernent les cellules souches, qui sont à la base de la thérapie cellulaire. Les facteurs de transcription de notre réseau apparaissent ou disparaissent en fonction du stade de développement des cellules. Ils peuvent donc servir de marqueurs permettant de suivre, étape par étape, la différenciation de cellules pluripotentes en tissus spécialisés. De plus, nous avons identifié des substances susceptibles d'orienter le devenir de ces cellules vers les lignées pancréatique ou hépatique.

Trois, nos souris « knock-out » offrent des modèles originaux pour étudier chez l'animal des maladies génétiques et des malformations congénitales du pancréas et du foie, comme certains types de diabète, des maladies polykystiques et des malformations des voies biliaires.

Enfin, la découverte des gènes *Onecut* et l'identification de leurs gènes cibles en font des candidats pour y rechercher des mutations en génétique humaine.

Pasteur a dit : « Il n'y a pas de recherche appliquée ; il y a des applications de la science ». C'est sur cette maxime, transposée au domaine médical, que se fonde la devise de l'Institut de Duve : « Mieux comprendre pour mieux guérir ». Si j'ai pu l'illustrer par des exemples tirés de mon expérience personnelle, c'est grâce aux maîtres qui m'ont guidé, aux collaborateurs qui m'ont épaulé et aux jeunes chercheurs de mon laboratoire qui m'ont fait confiance. Ils sont trop nombreux pour être remerciés ici nommément. Plusieurs institutions, fondations et mécènes ont soutenu financièrement mes recherches, en particulier l'Institut de Duve, l'Université catholique de Louvain, le Fonds National de la Recherche Scientifique, Télévie, les Ministères compétents Communautaires, Régionaux et Fédéraux de Belgique, l'Union européenne. Je leur en suis infiniment reconnaissant. Je terminerai en remerciant l'Académie royale de Médecine de Belgique de m'avoir attribué le prix du Gouvernement.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

Présentation de M. LE Prof. D. Pipeleers, Membre ordinaire de la « Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België », lauréat du Prix des Sciences cliniques ou appliquées, par le Professeur J. Plum, membre du jury et membre ordinaire de la « Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België ».

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

Exposé par M. le Professeur D. Pipeleers, membre ordinaire de la « Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België », lauréat du Prix des Sciences cliniques pour la période 2001-2005, titre intitulé : « Beta Cell Therapy in Diabetes ». Le Professeur D. Pipeleers enseigne à la VUB où il est Professeur et coordinateur de physiologie pathologique et de biochimie, de plus, il est Professeur de pathologie moléculaire et cellulaire. Les personnes intéressées par son exposé peuvent s'adresser à la « Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België ».

\*  
\* \*