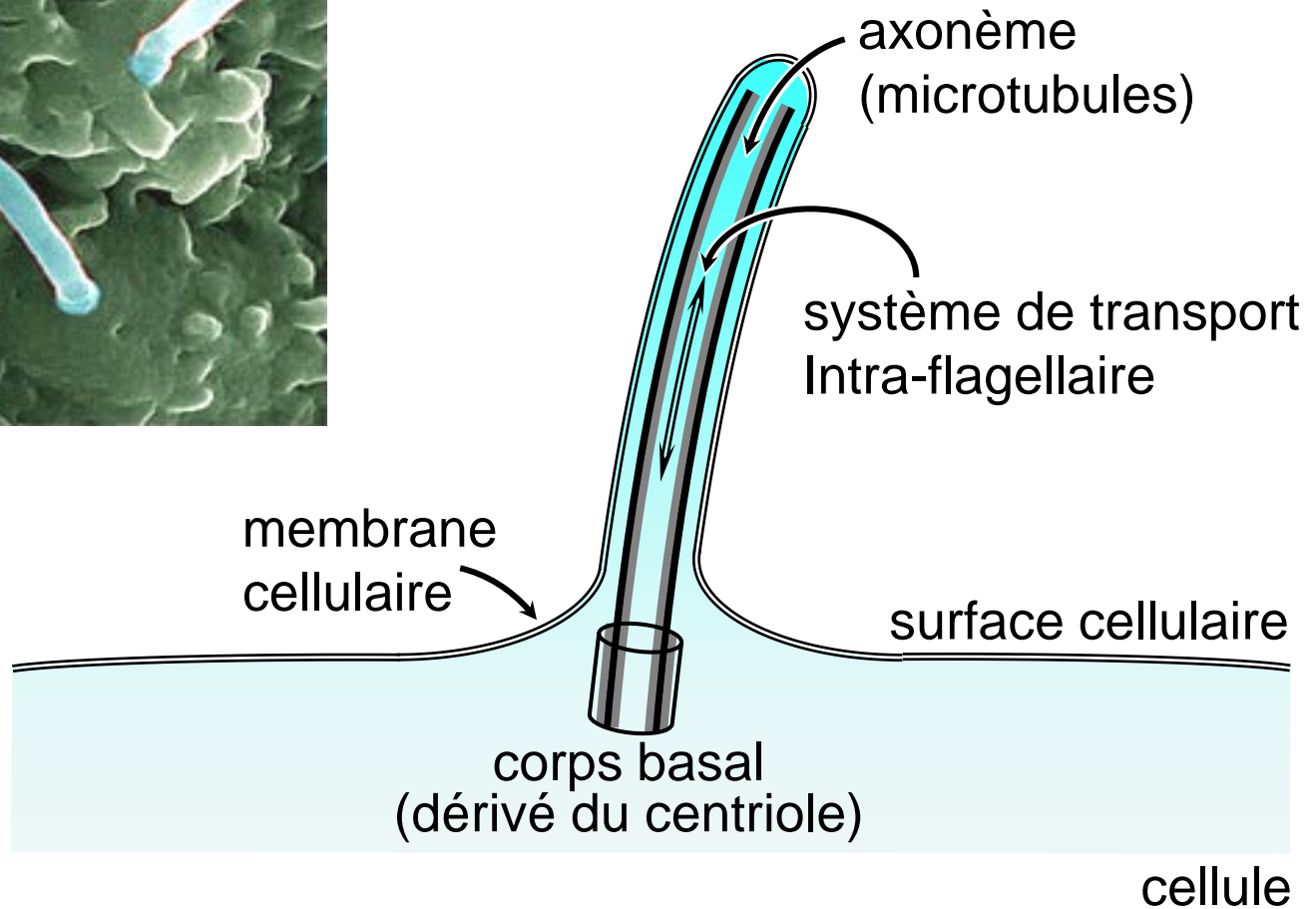
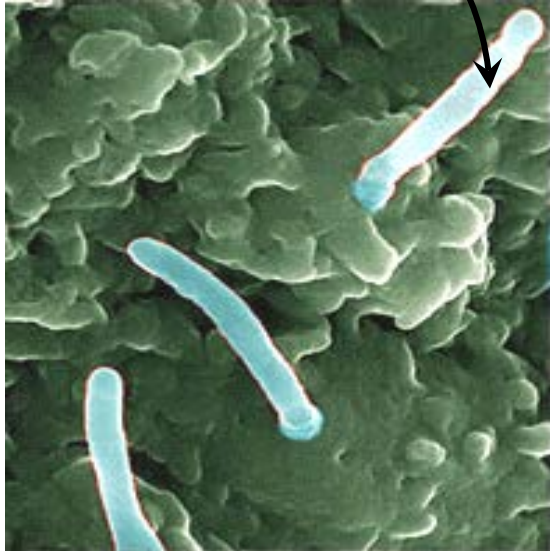


# Rôle des cils dans le développement et la fonction des cellules $\beta$ du pancréas

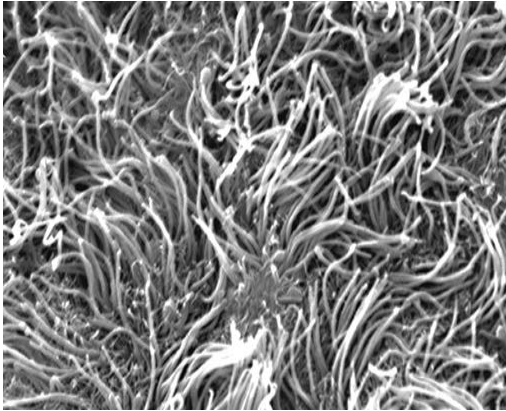
W. Reith

# Les cils



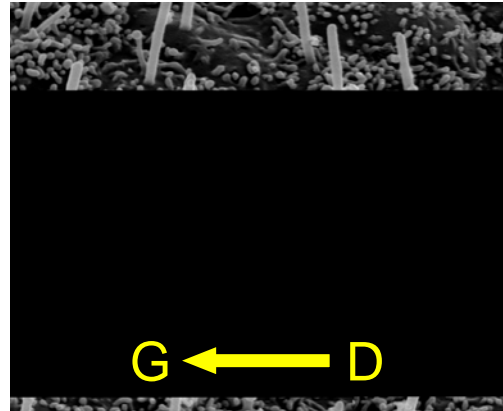
# Trois types de cils chez les vertébrés

## motiles



- surfaces épithéliales spécialisés (trachée, cerveau, tractus reproductifs)
- déplacement de cellules ou liquides

## nodaux



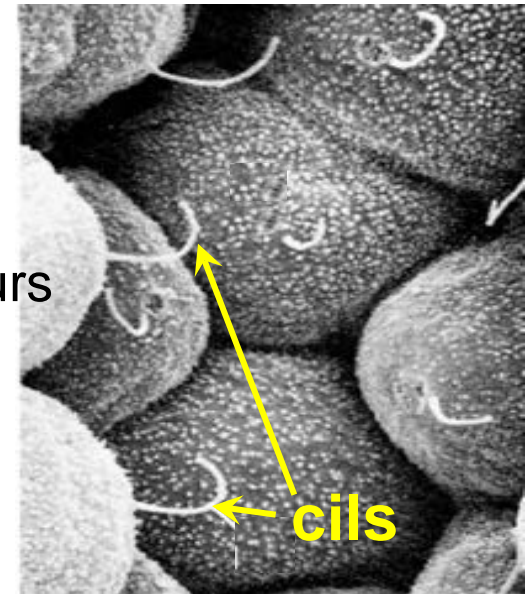
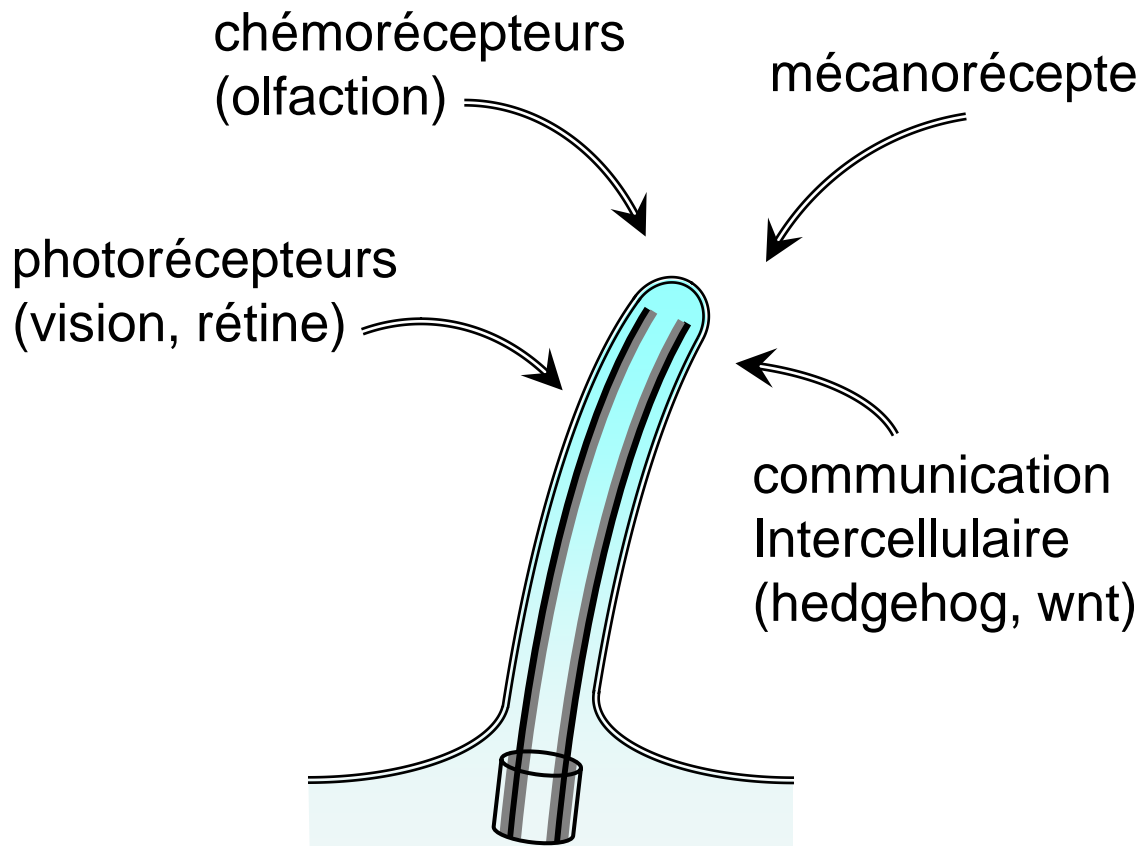
- motiles
- nœud embryonnaire
- mise en place de l'axe droite/gauche du corps

## primaires



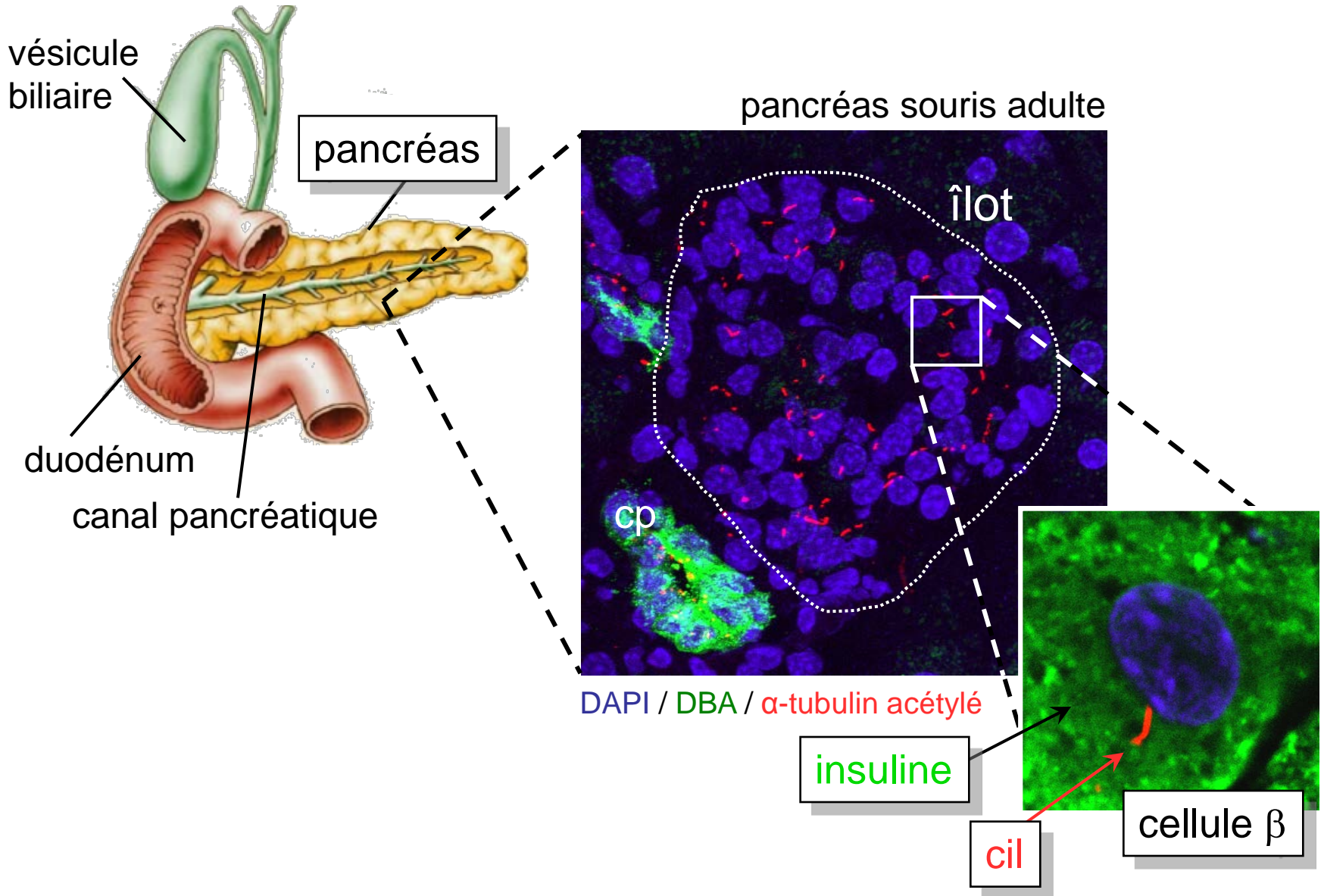
- immotiles
- nombreuses cellules
- fonctions mal connues
- organelles sensorielles

# Fonctions des cils primaires

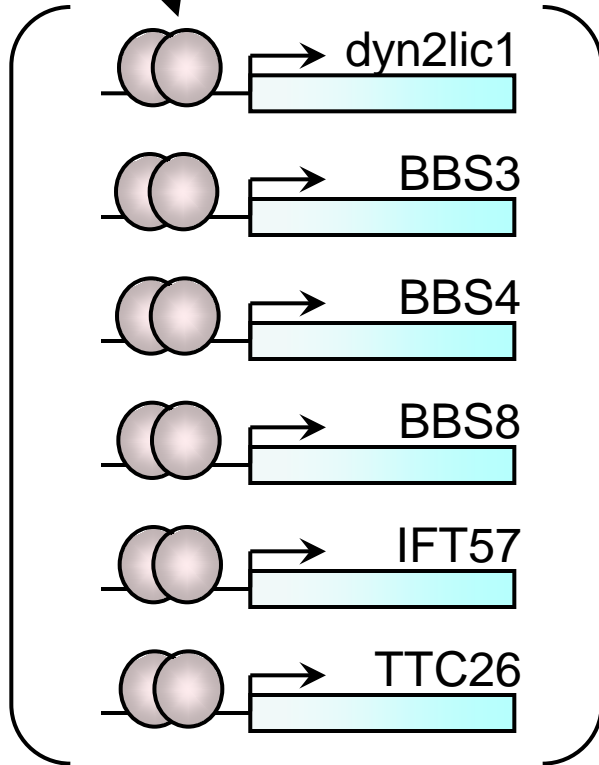
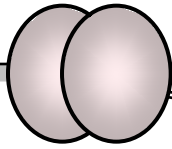


tubules rénaux

# Cils primaires dans les îlots du pancréas

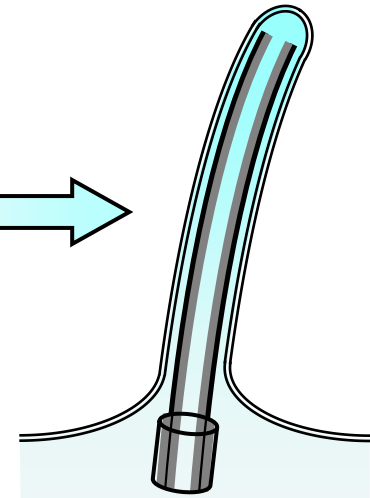


facteur de transcription  
RFX3

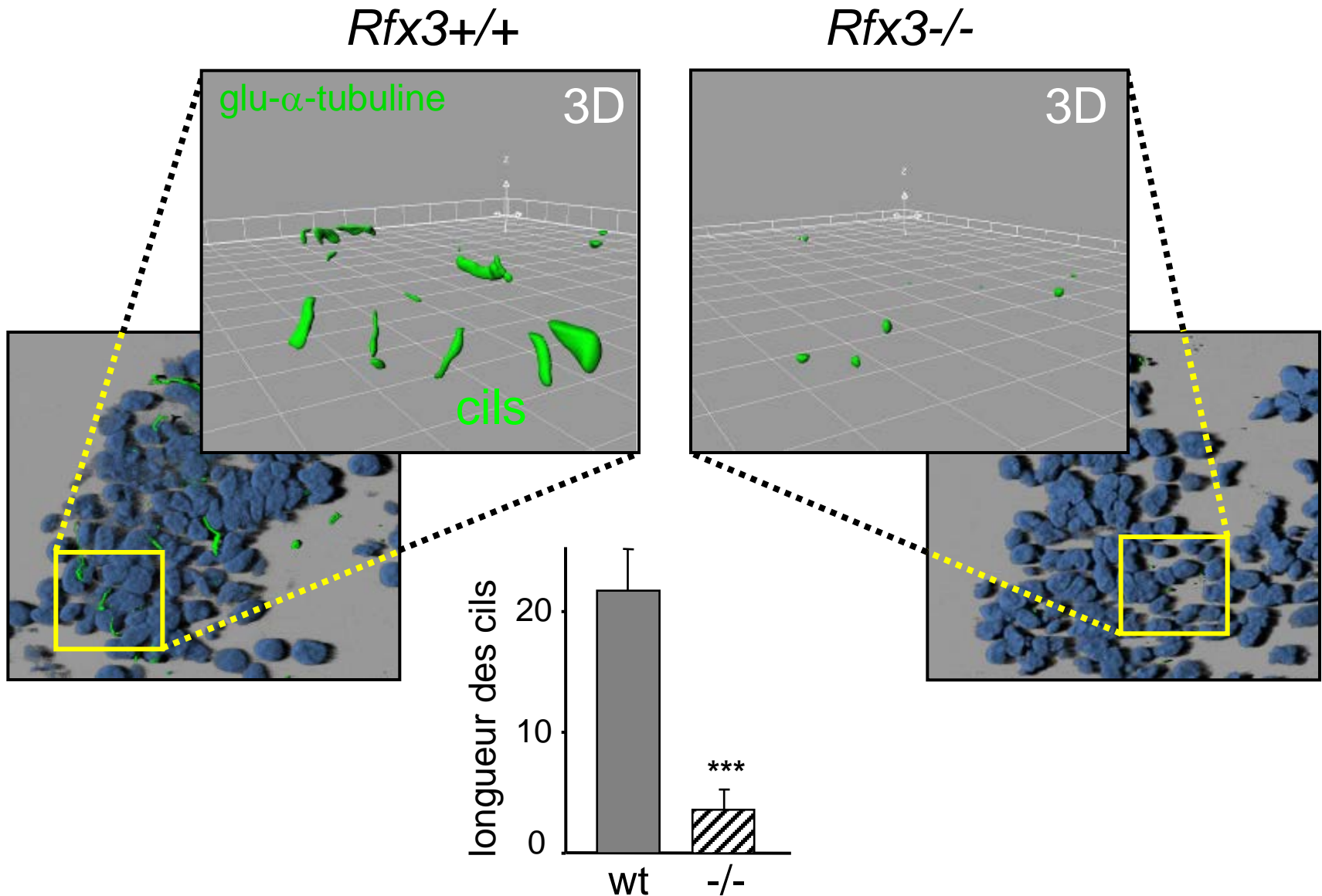


>15 gènes

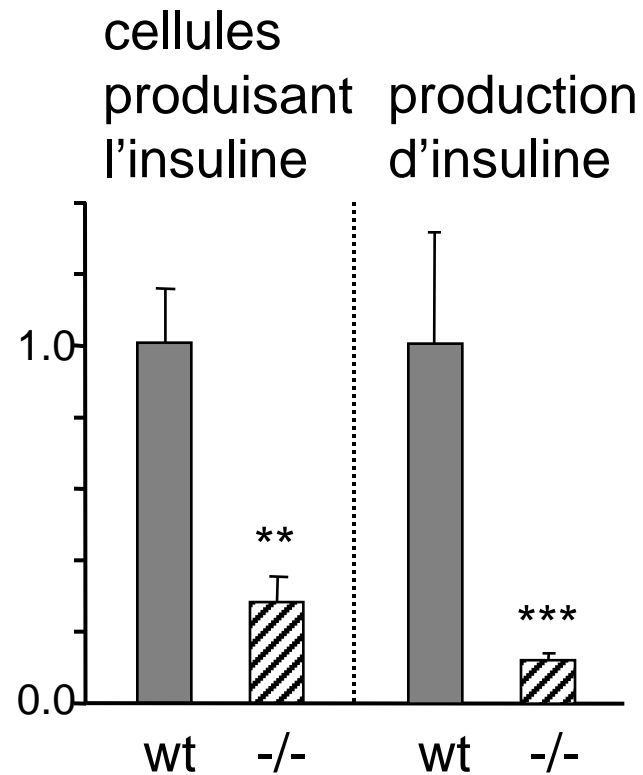
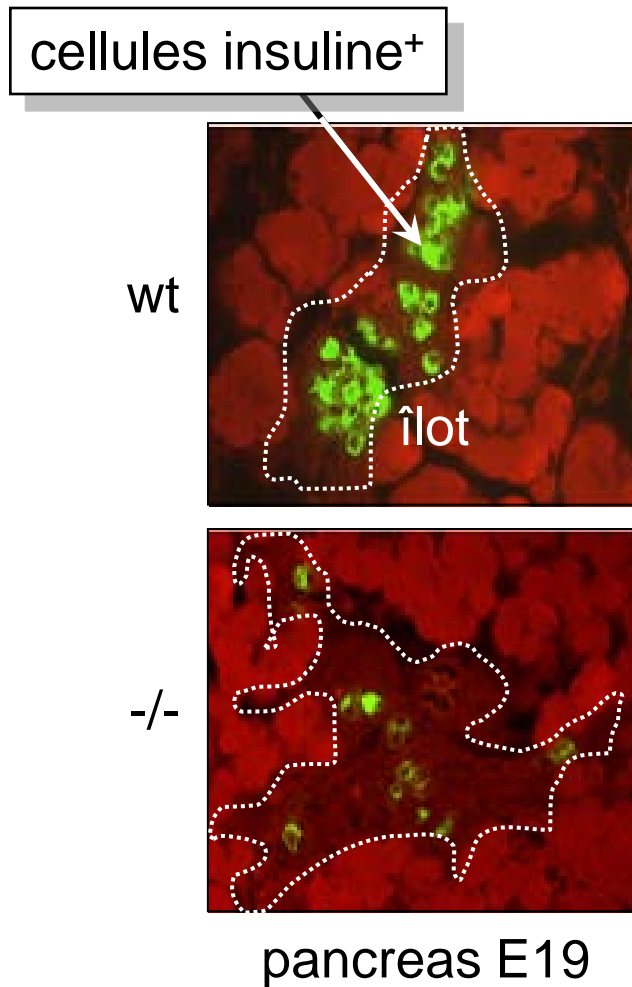
ensemble de gènes nécessaires  
pour la formation de cils



# Cils raccourcis dans les îlots des souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)

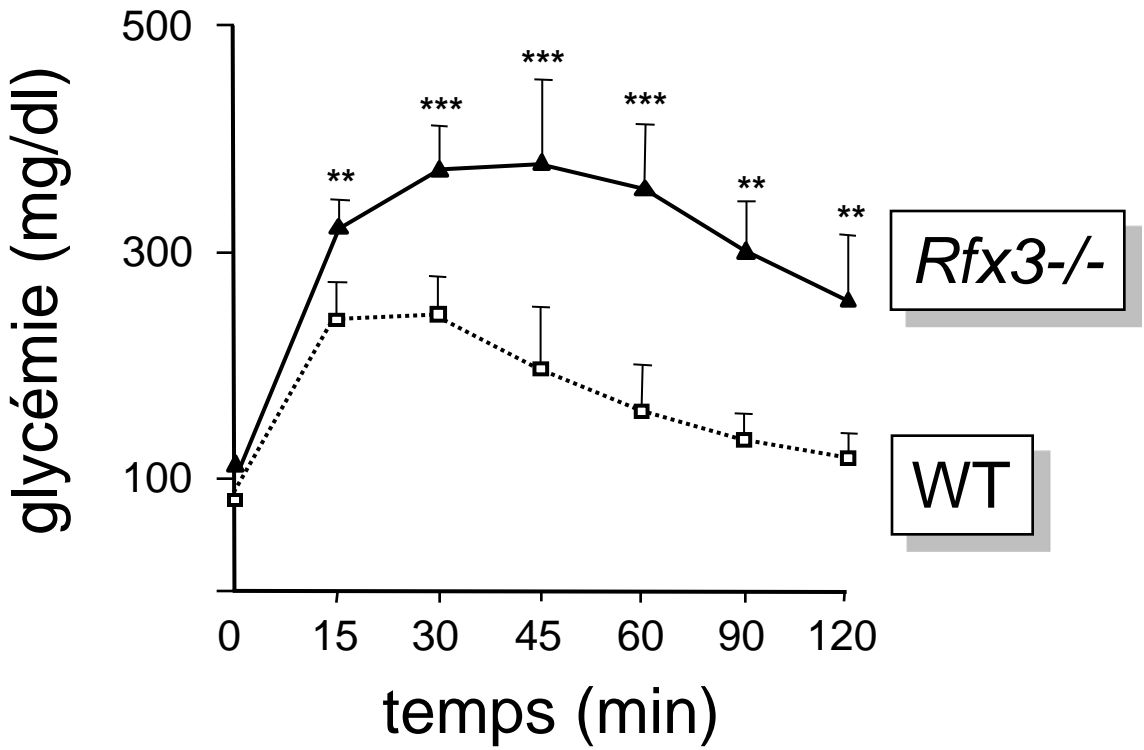


# Réduction dans le nombre de cellules produisant l'insuline dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>

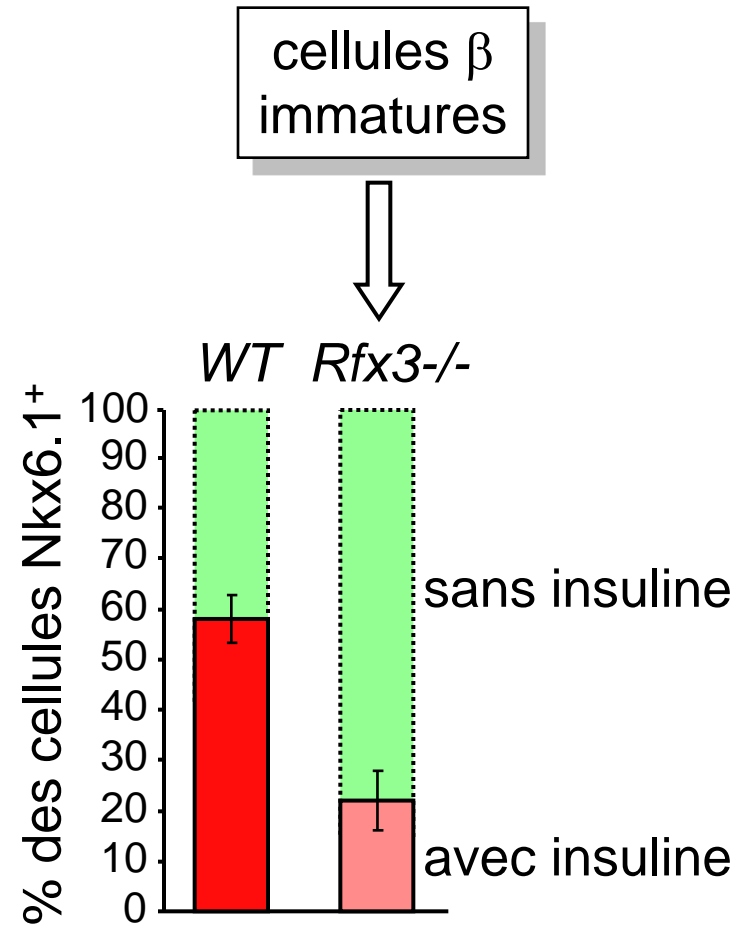
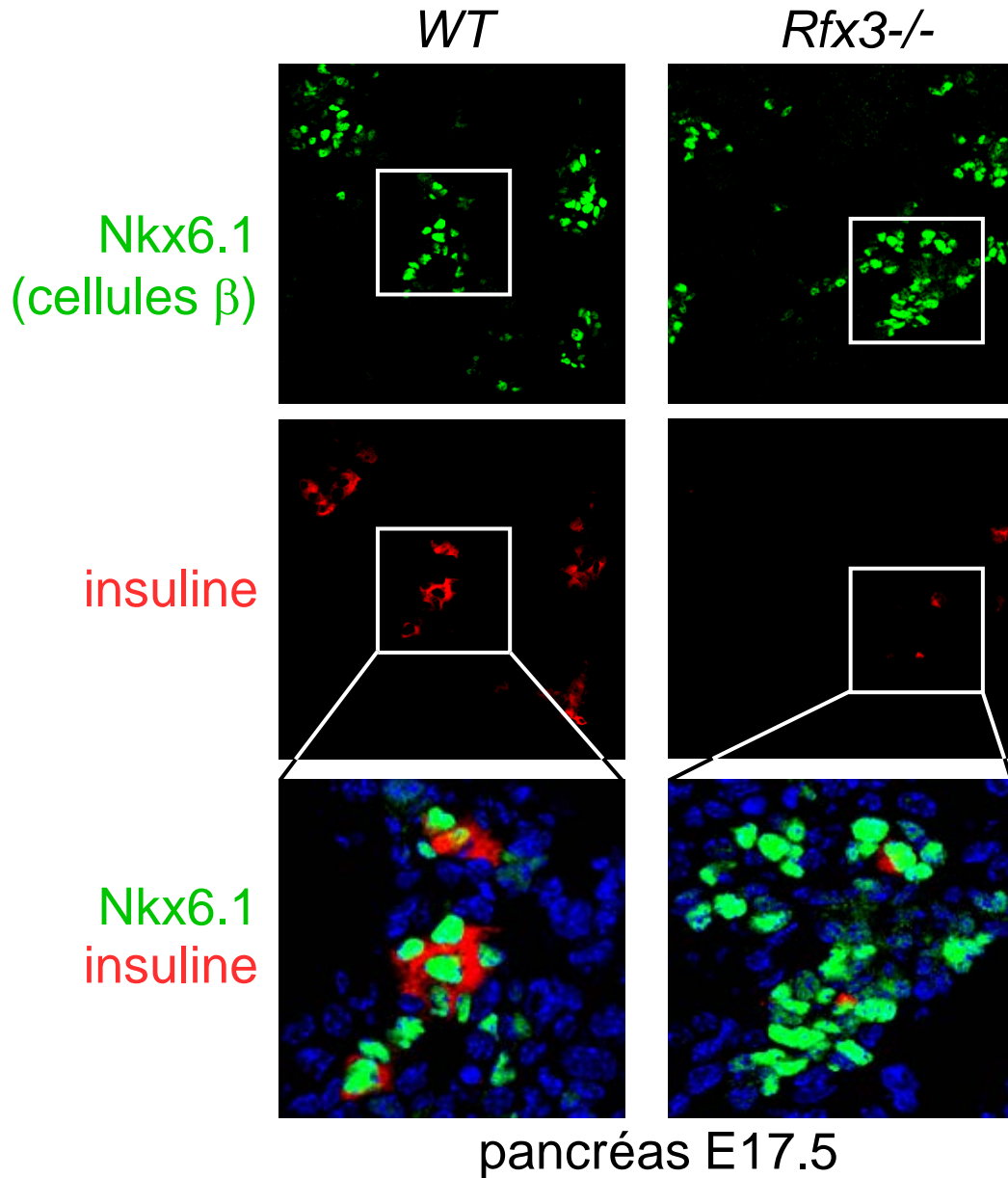




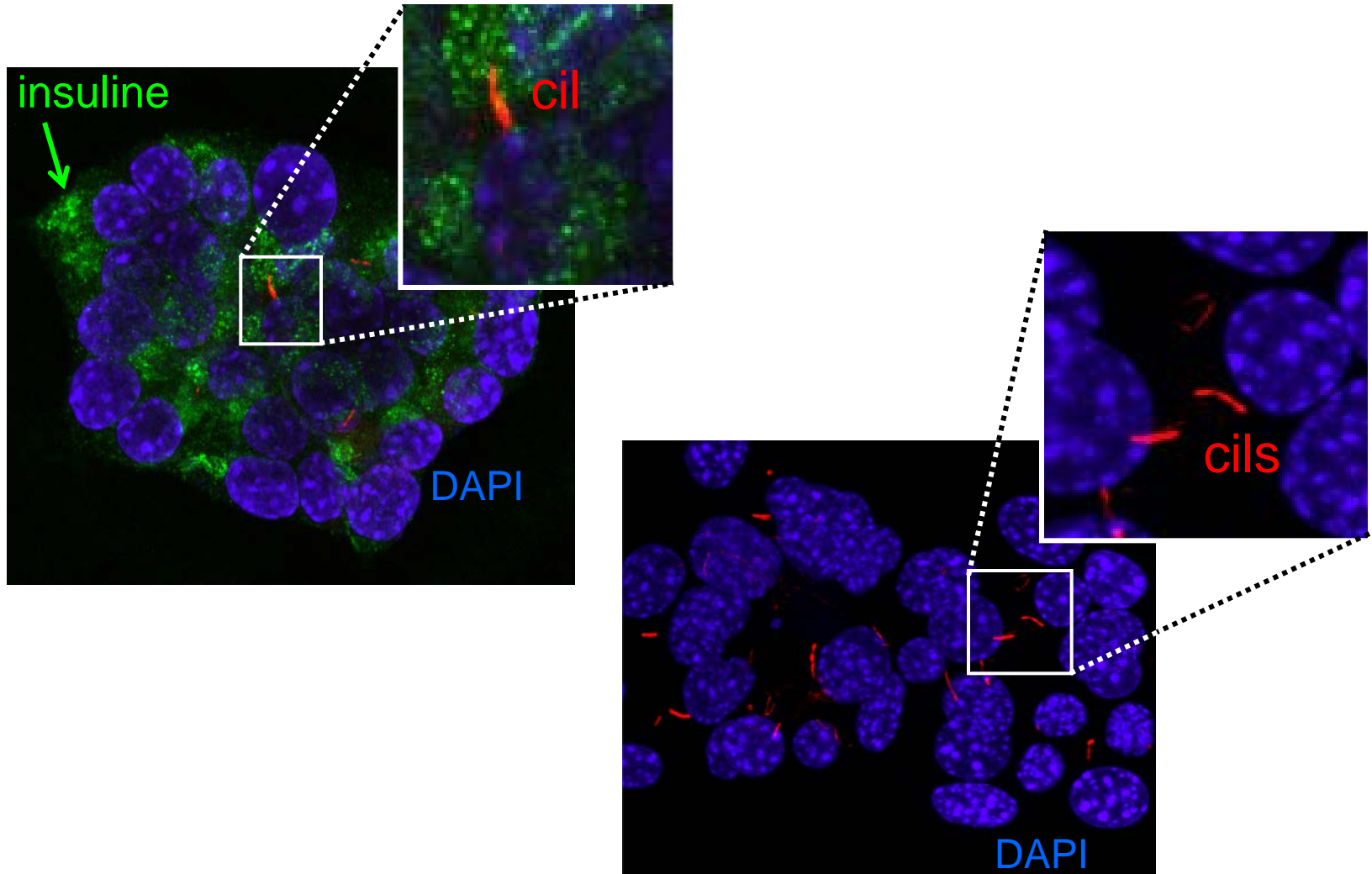
# Intolérance au glucose dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>



# Cellules $\beta$ immatures dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>

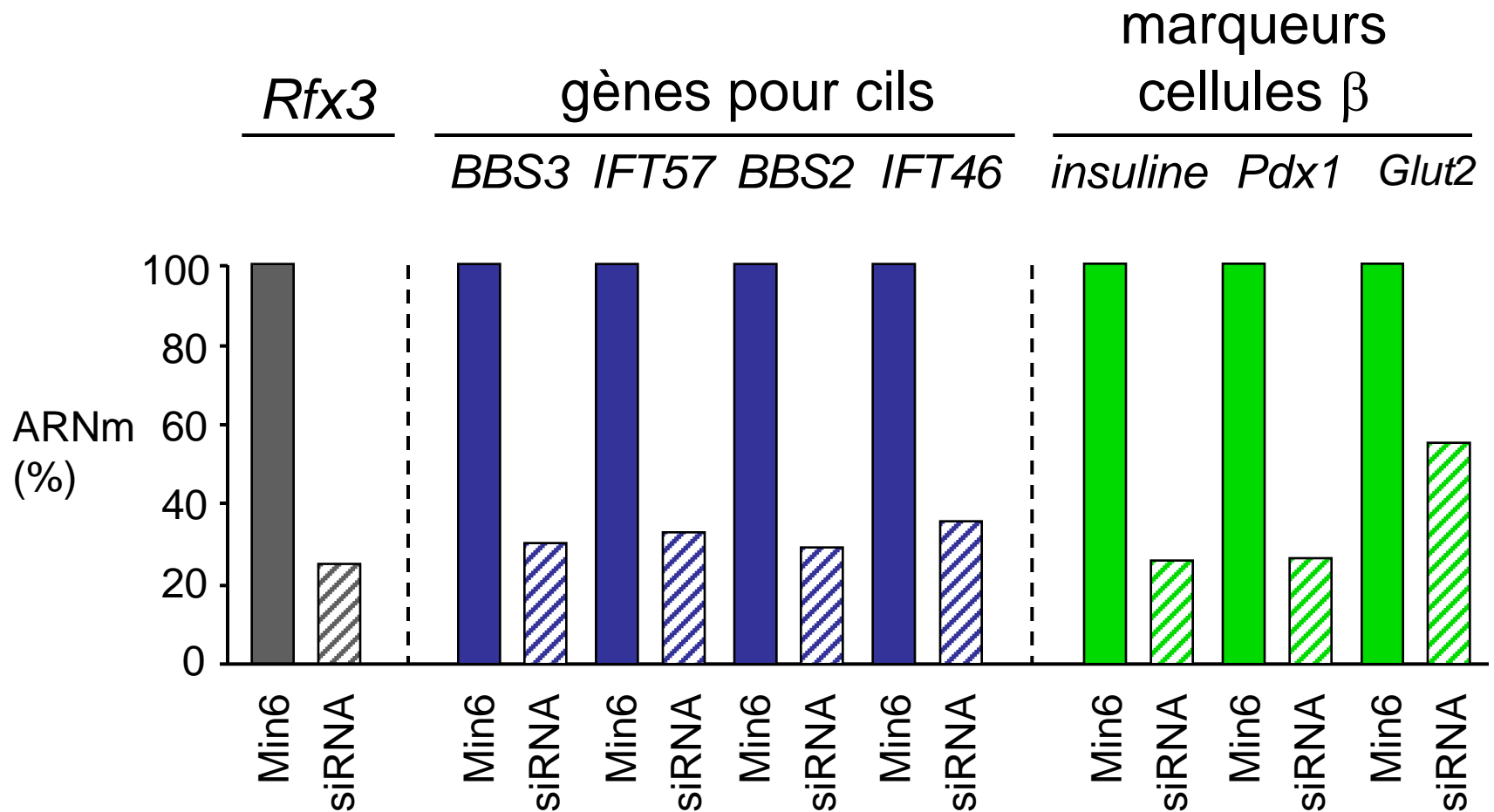


# Cils sur les cellules $\beta$ Min6

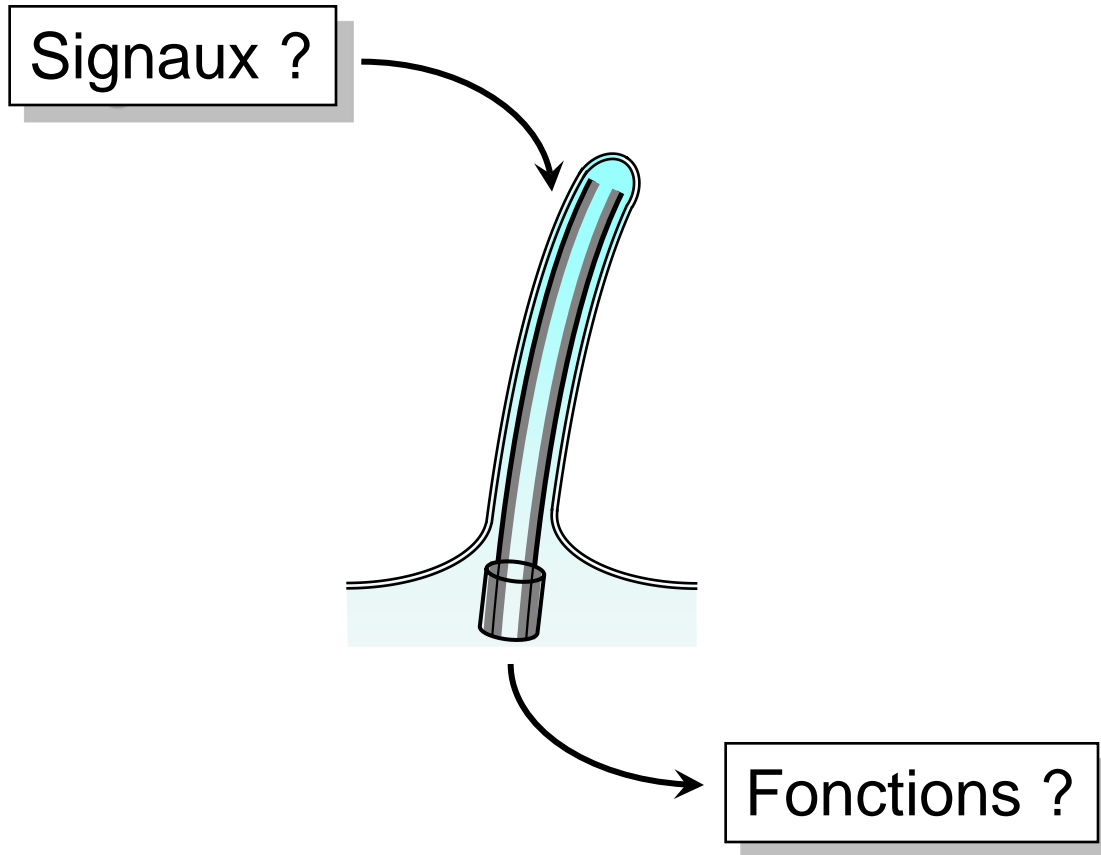


(cils marqués avec Ac contre  $\alpha$ -tubuline acétylé)

# Conséquences de l'inhibition de RFX3 dans les cellules $\beta$ Min6



# Rôle des cils dans la fonction des cellules $\beta$



**Aouatef Ait-Lounis**

Emmanuèle Barras

Faculté de Médecine

Université de Genève

---

**Bénédicte Durand**

Dominique Baas

Carine Benadiba

Université Claude Bernard

Lyon

**Paolo Meda**

Anne Charollais

Delphine Liegeois

Faculté de Médecine

Université de Genève

**Philippe Halban**

Fabienne Jaques

Faculté de Médecine,

Université de Genève

**Pedro Herrera**

Claire Bonal

Faculté de Médecine

Université de Genève

---

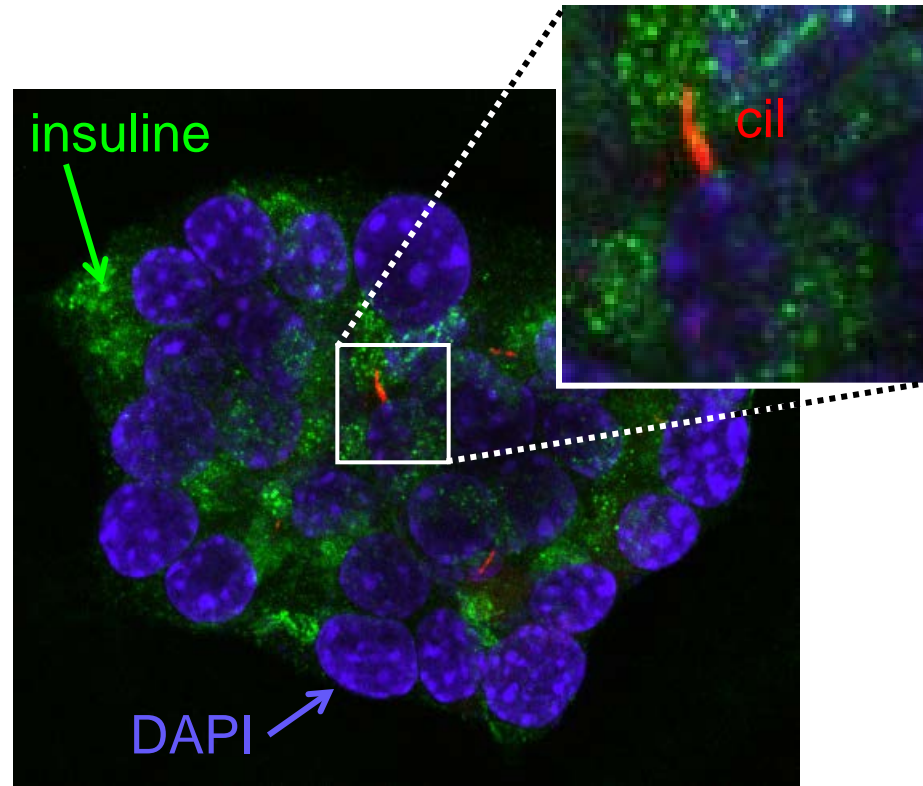
**Fondation Romande pour la Recherche sur le Diabète**

**The Jules Thorne Foundation**

**European Foundation for the Study of Diabetes (EFSD)**



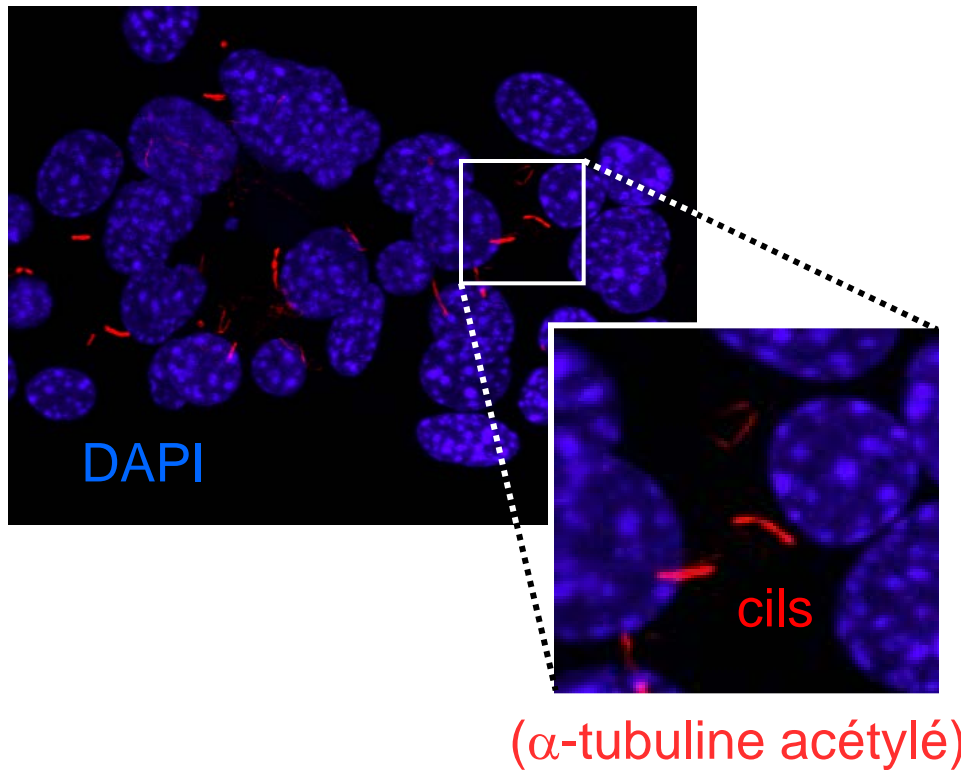
# Cils sur les cellules $\beta$ Min6



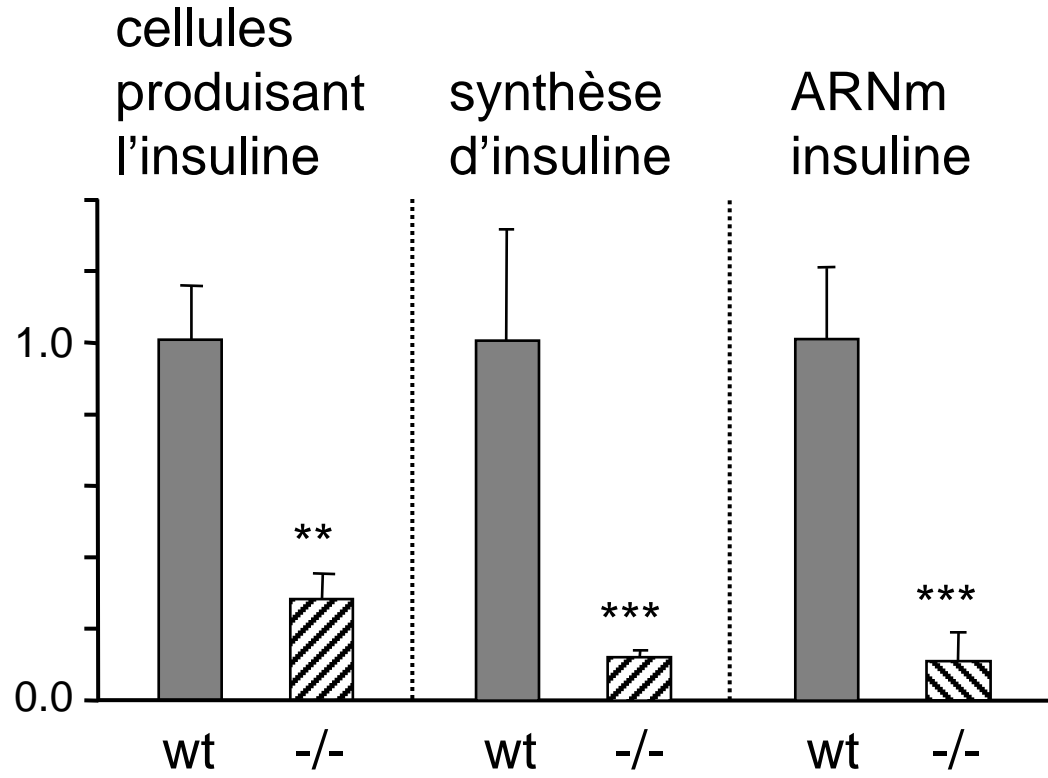
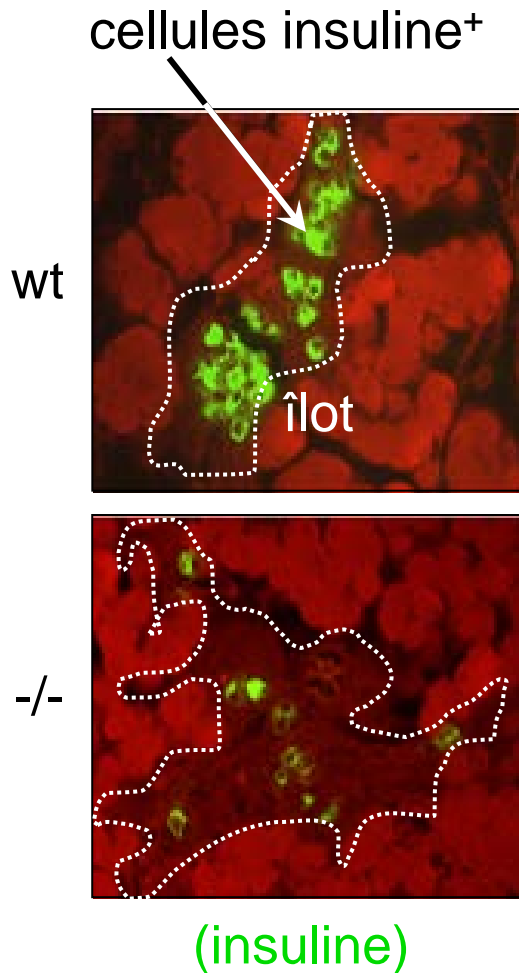
( $\alpha$ -tubuline acétylé)



# Cils sur les cellules $\beta$ Min6

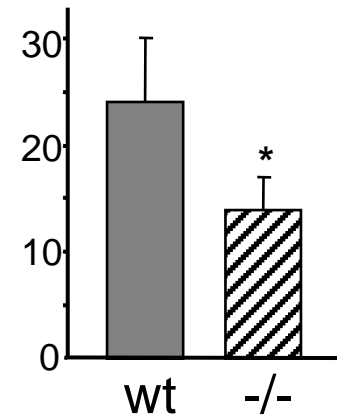
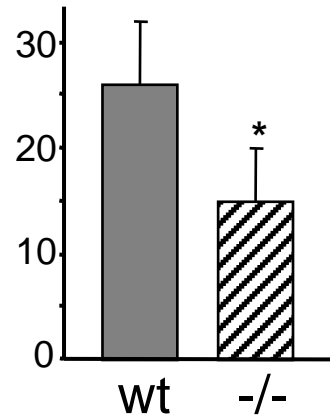


# Réduction dans le nombre de cellules produisant l'insuline dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)

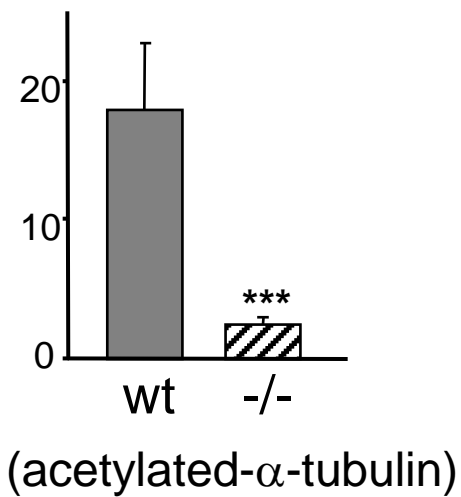
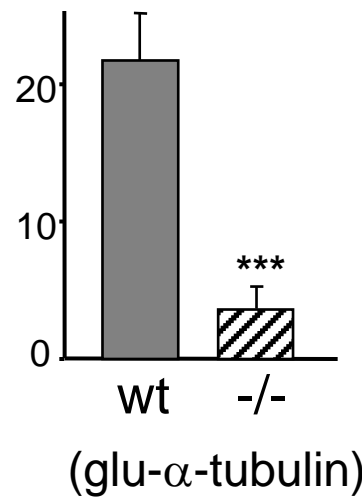


# Réductions dans le nombre et la longueur des cils dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)

nombre de cils  
(% cellules des îlots)



longueur des cils  
(intensité fluorescence)



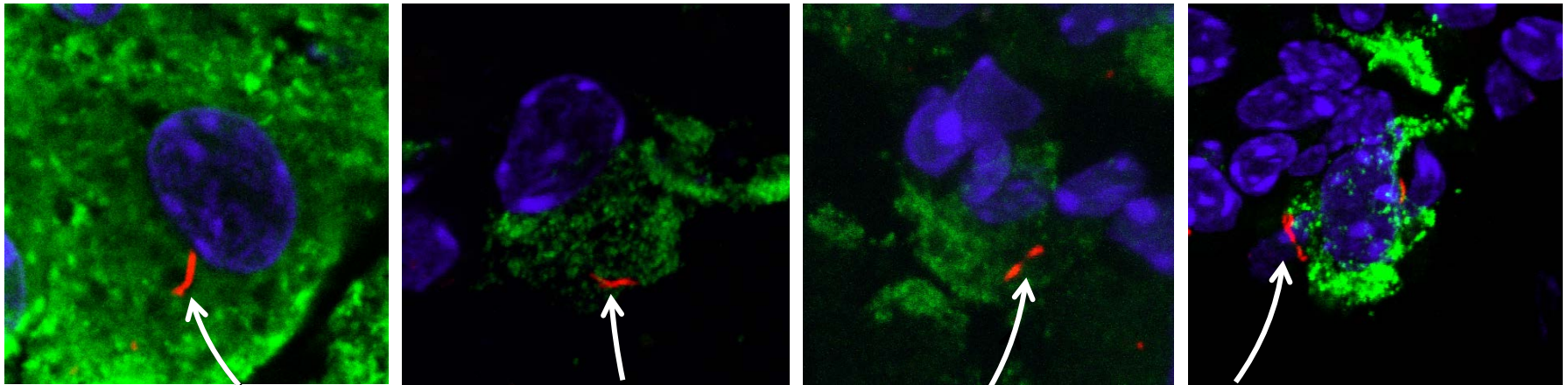
# Cils sur les cellules endocrines du pancréas (E19)

cellules  $\beta$   
(insuline)

cellules  $\alpha$   
(glucagon)

cellules  $\delta$   
(somatostatine)

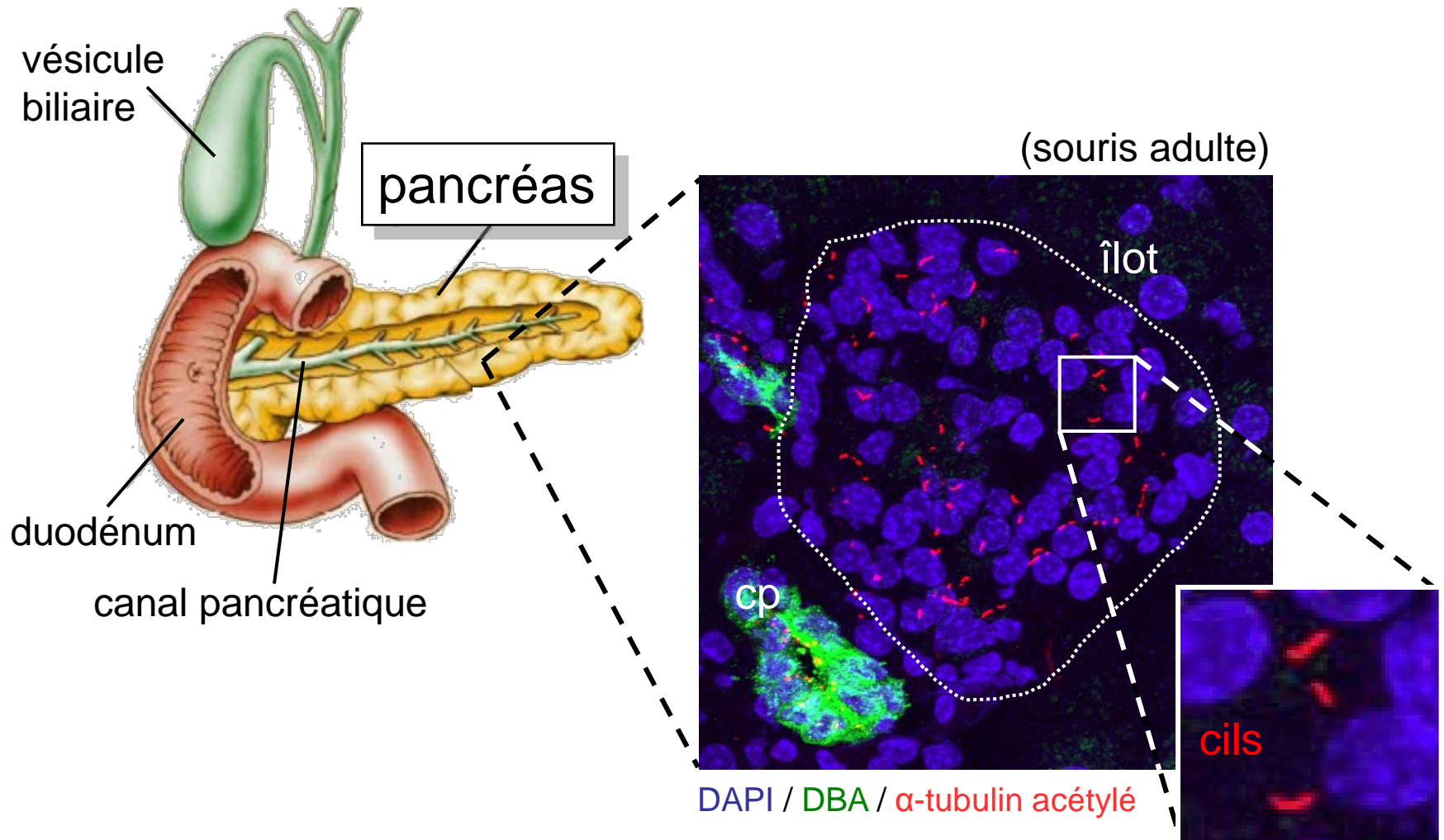
cellules PP



cils

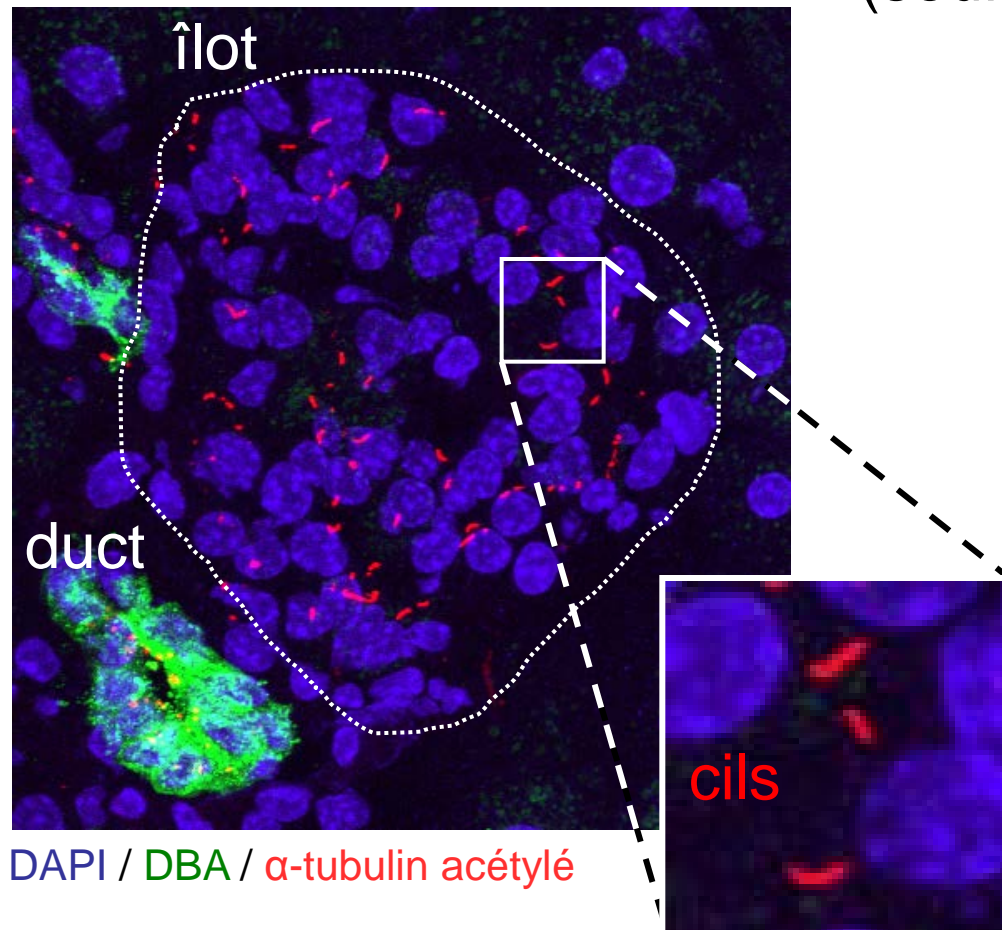
( $\alpha$ -tubuline acétylé)

# Cils primaires dans les îlots du pancréas

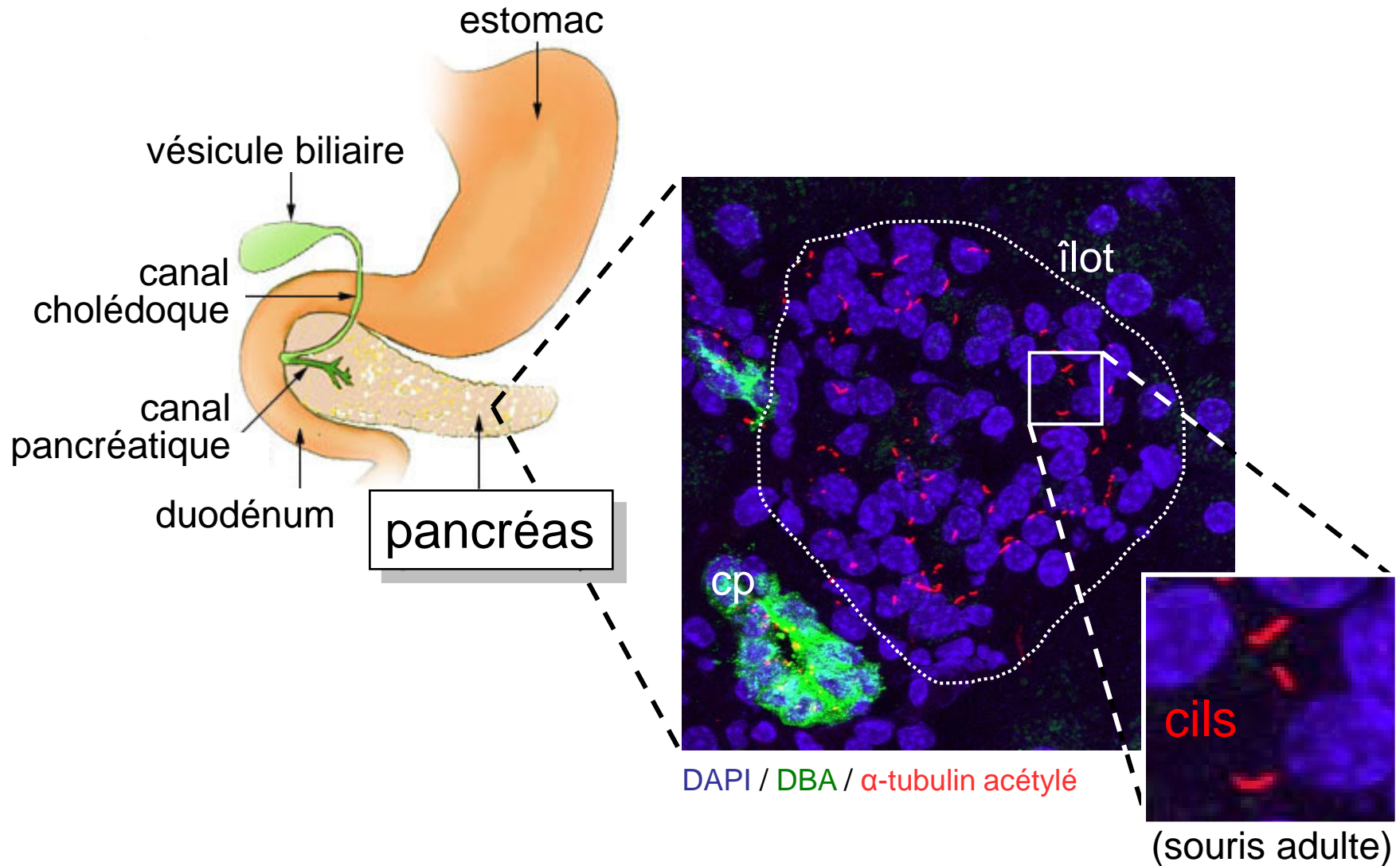


# Cils primaires dans les îlots du pancréas

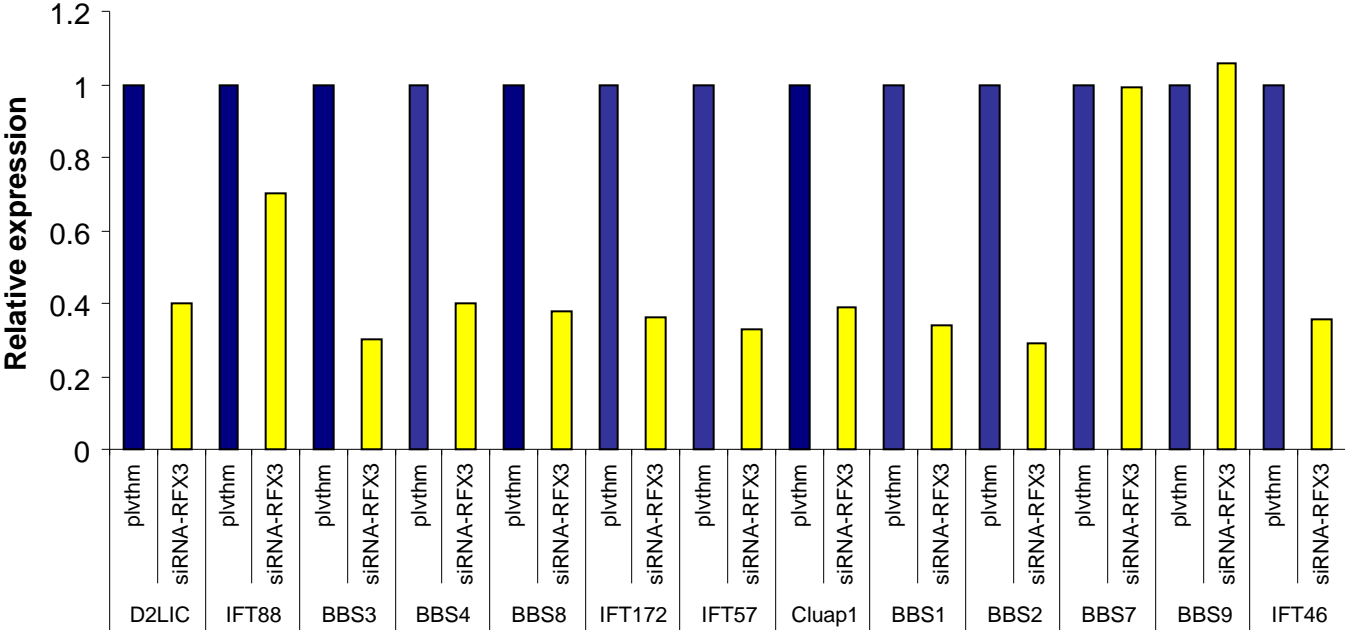
(souris adulte)



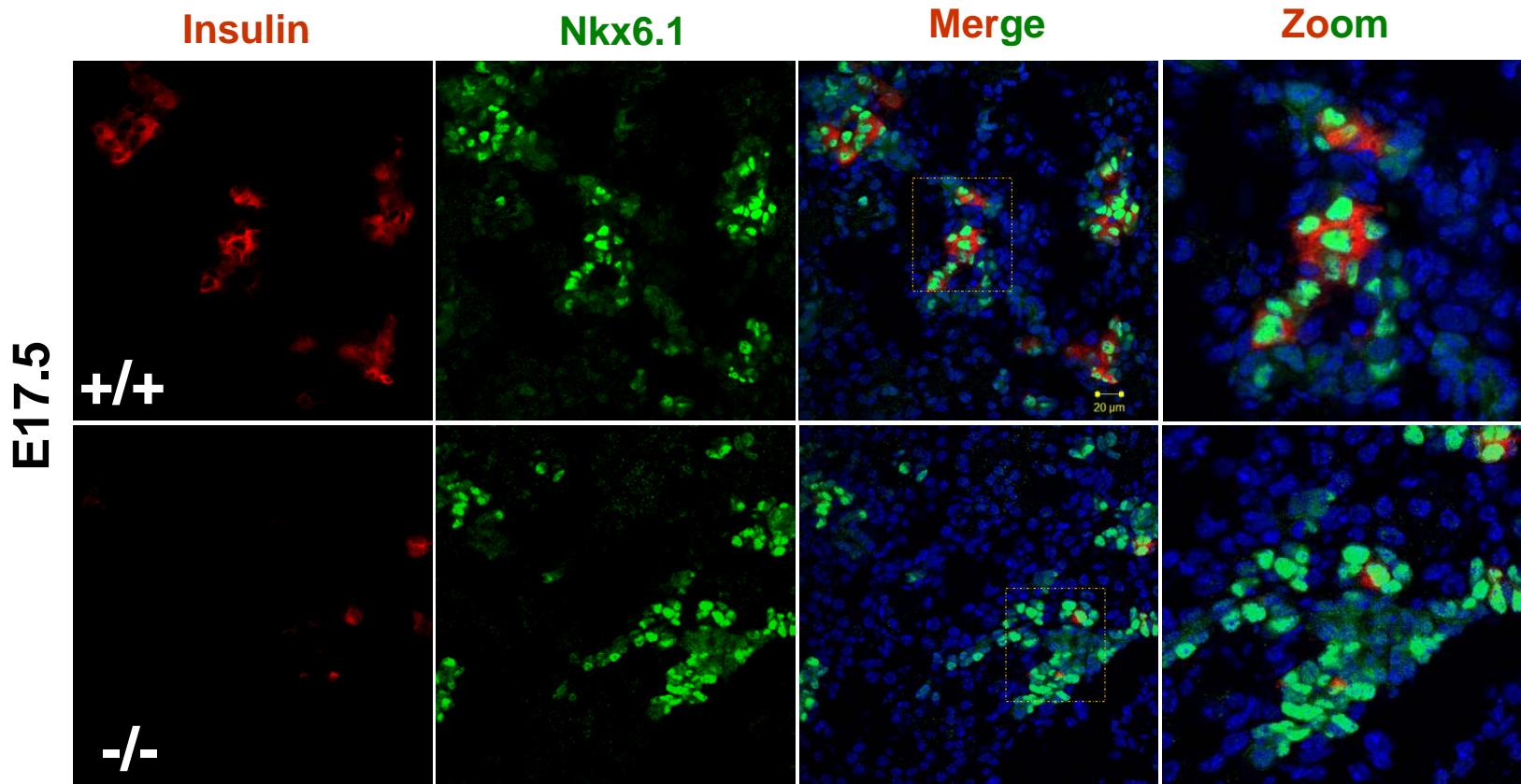
# Cils primaires dans les îlots du pancréas



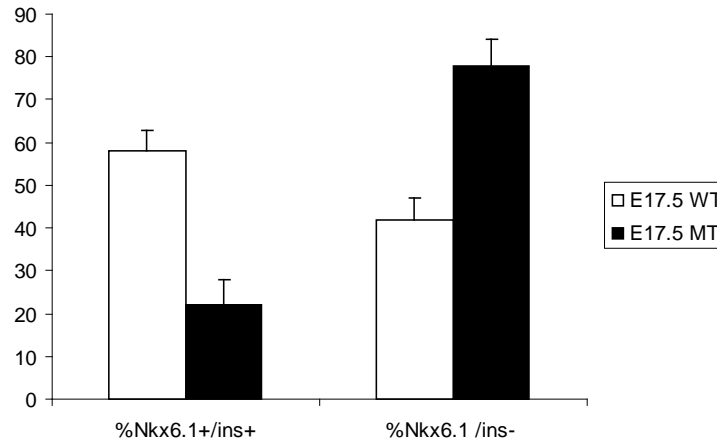
# RFX3 Targets in Min6b1





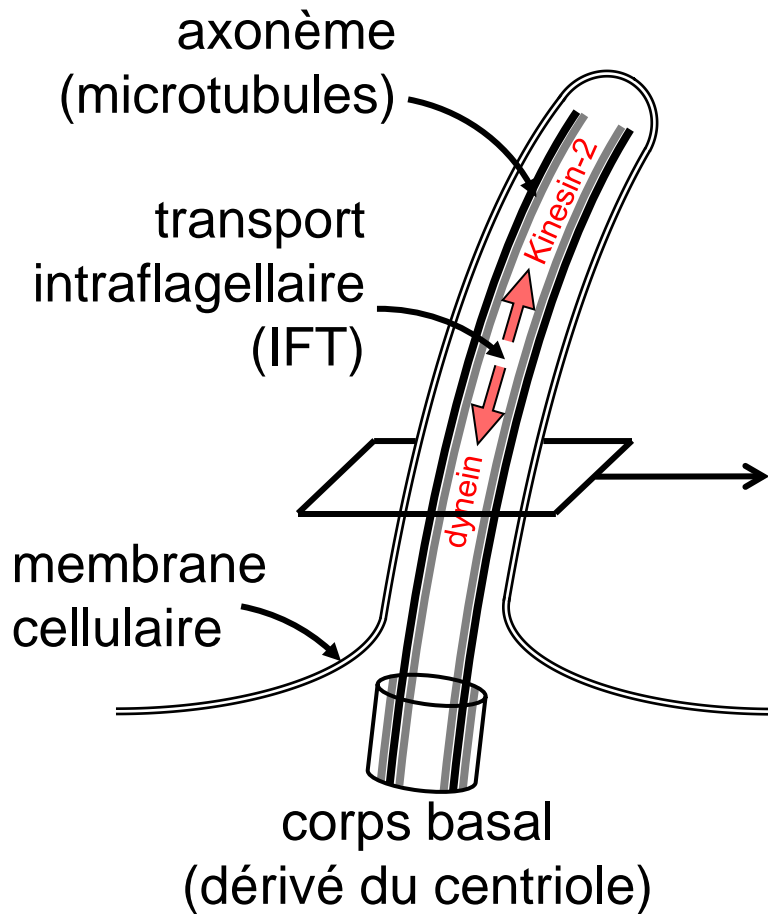


$$\%Nkx6.1+Ins+ = \frac{\text{Number } Nkx6.1+ins+ \times 100}{\text{All } Nkx6.1+cell}$$



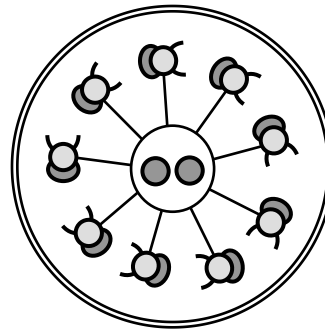
The result are from 3 independante sections from 3 different pancreases

# Cils chez les vertébrés



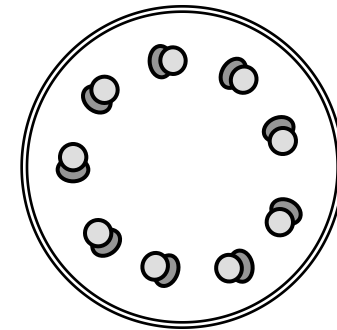
arrangement des microtubules

9+2



cils motiles  
flagelles

9+0



cils primaires  
• immotiles  
• nodaux (motiles)

# Fonctions sensorielles des cils primaires

Chémorécepteurs → GPCR, ↑ cAMP  
(olfaction)

Photorécepteurs → GPCR, ↑ cGMP  
(vision, rétine)

Mécanorécepteurs → Canaux  $\text{Ca}^{2+}$ , ↑  $\text{Ca}^{2+}$   
(tubules rénaux) → Activation de STAT6

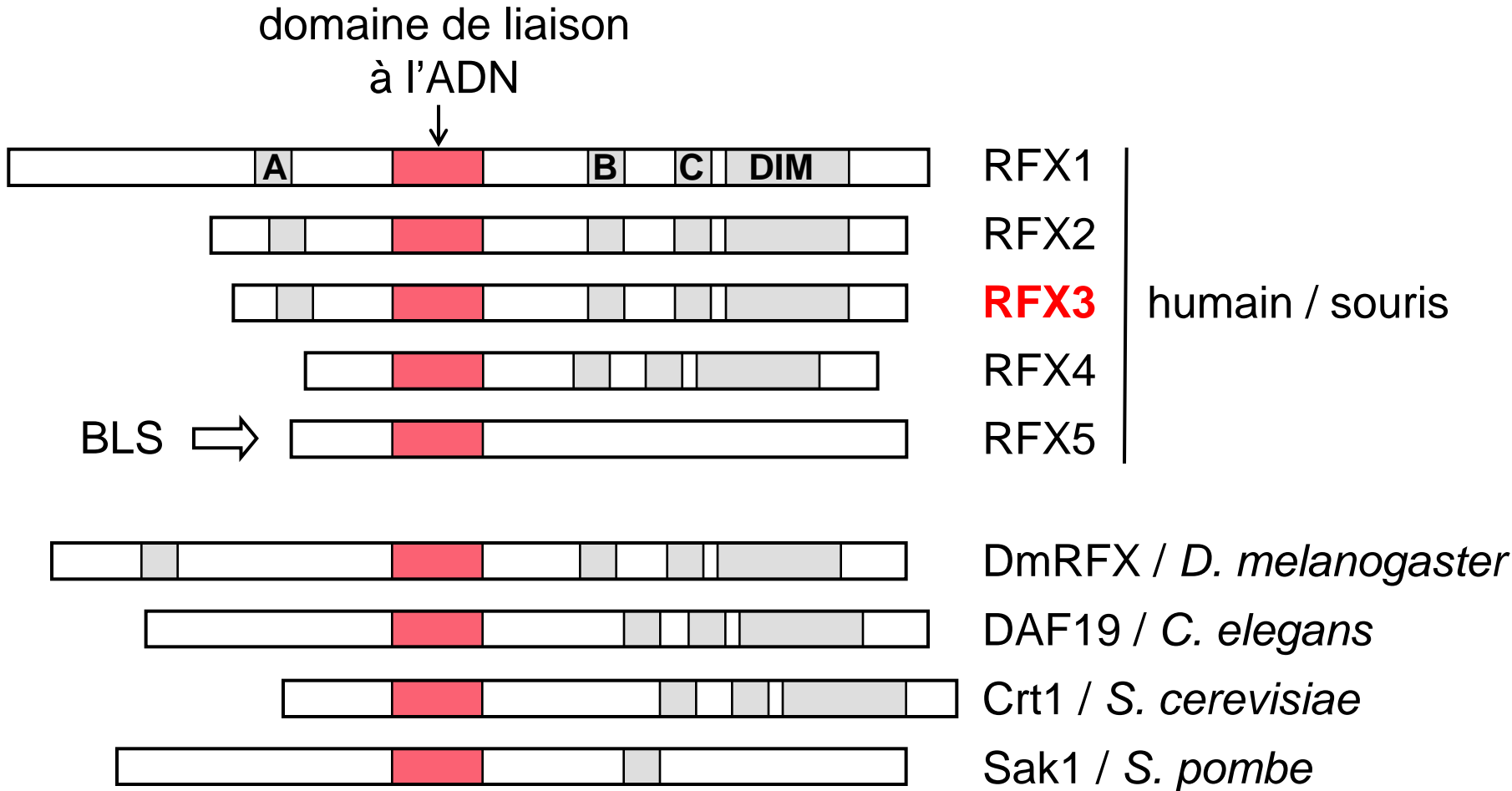
Communication → Signalisation Hedgehog (tube neural)  
intercellulaire → Signalisation Wnt (tubules rénaux)

# Le syndrome des lymphocytes nus (BLS) un déficit immunitaire héréditaire

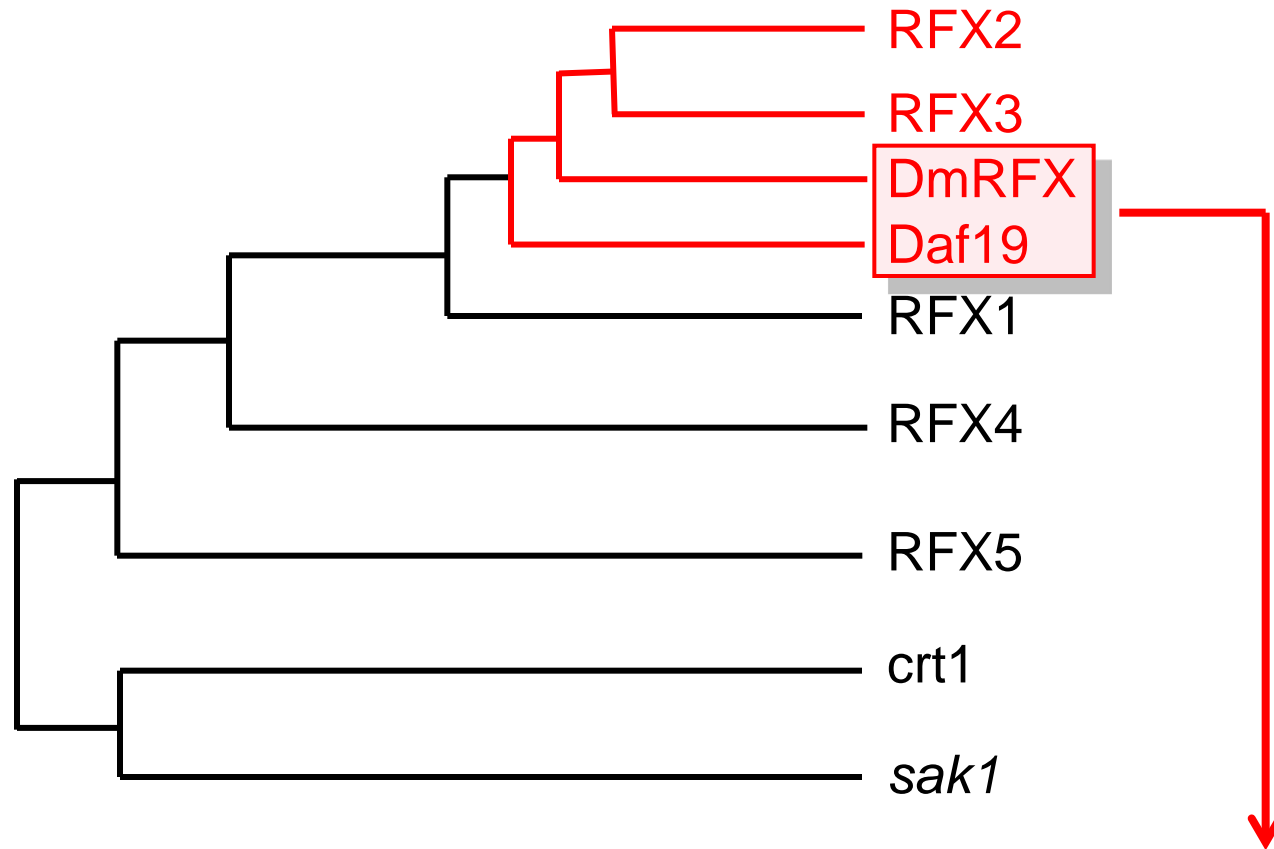


- maladie de la régulation génique
- absence de l'expression des molécules CMH classe II
- du à des mutations dans des facteurs de transcription

# La famille des facteurs de transcription RFX

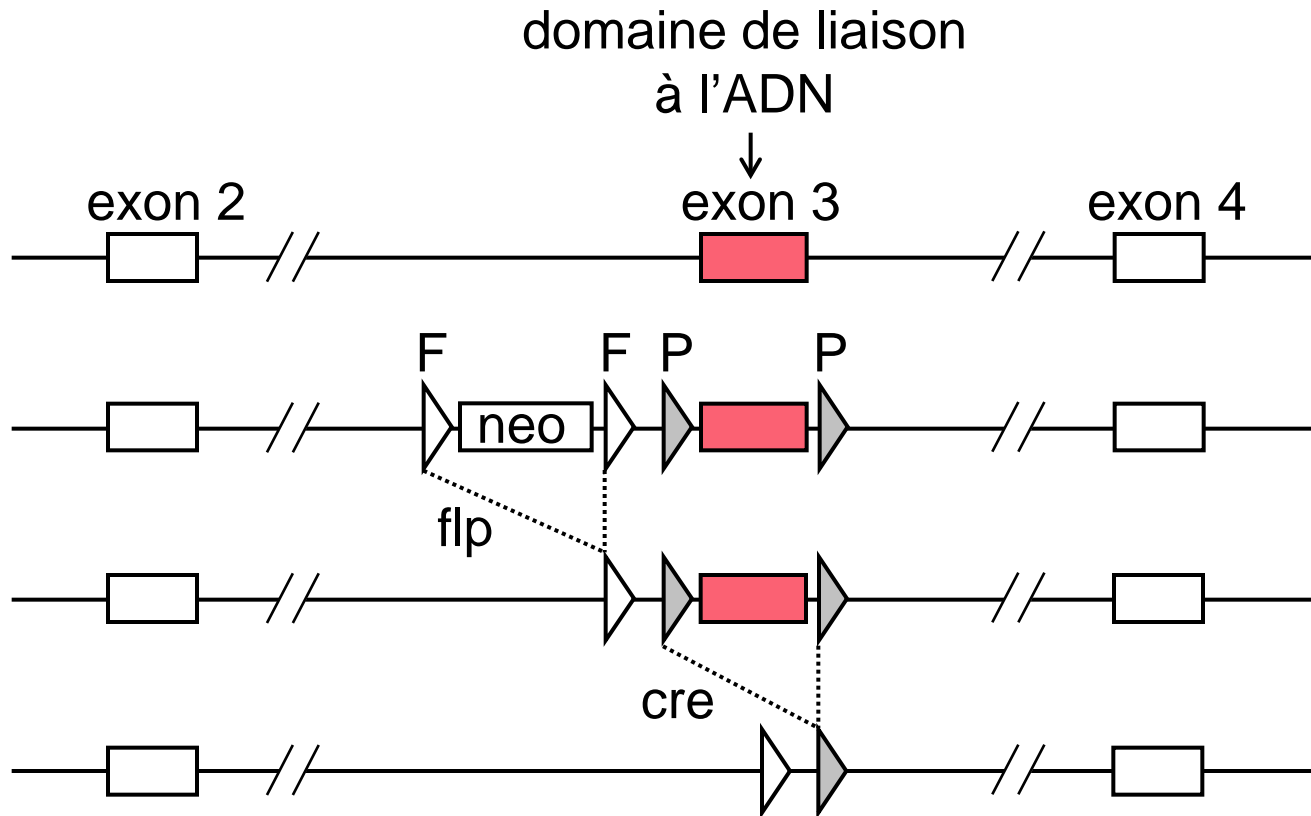


# Arbre phylogénétique de la famille RFX



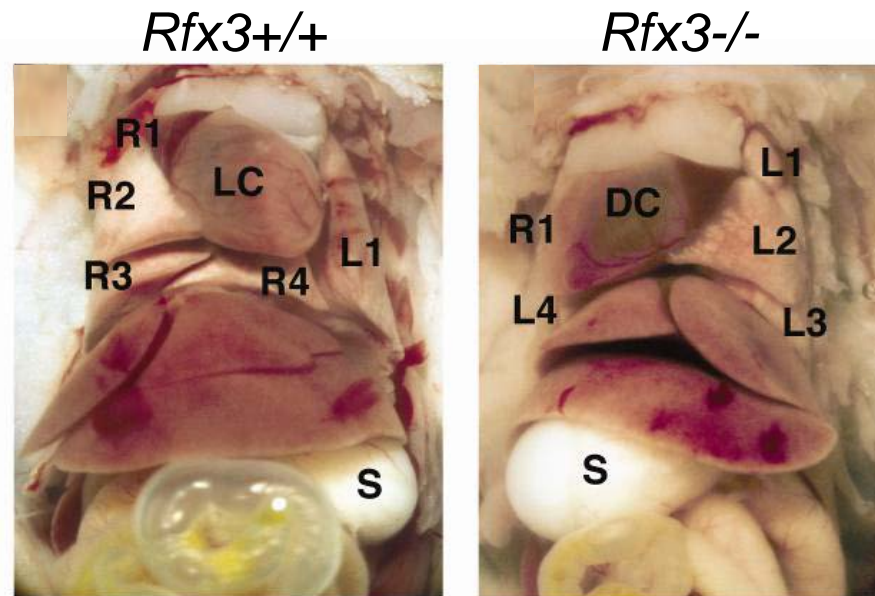
développement de cils primaires sur des neurones sensoriels dans *C. elegans* et *D. melanogaster*

# Inactivation par recombinaison homologue du gène RFX3



# Phénotype des souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> défauts d'asymétrie droite/gauche

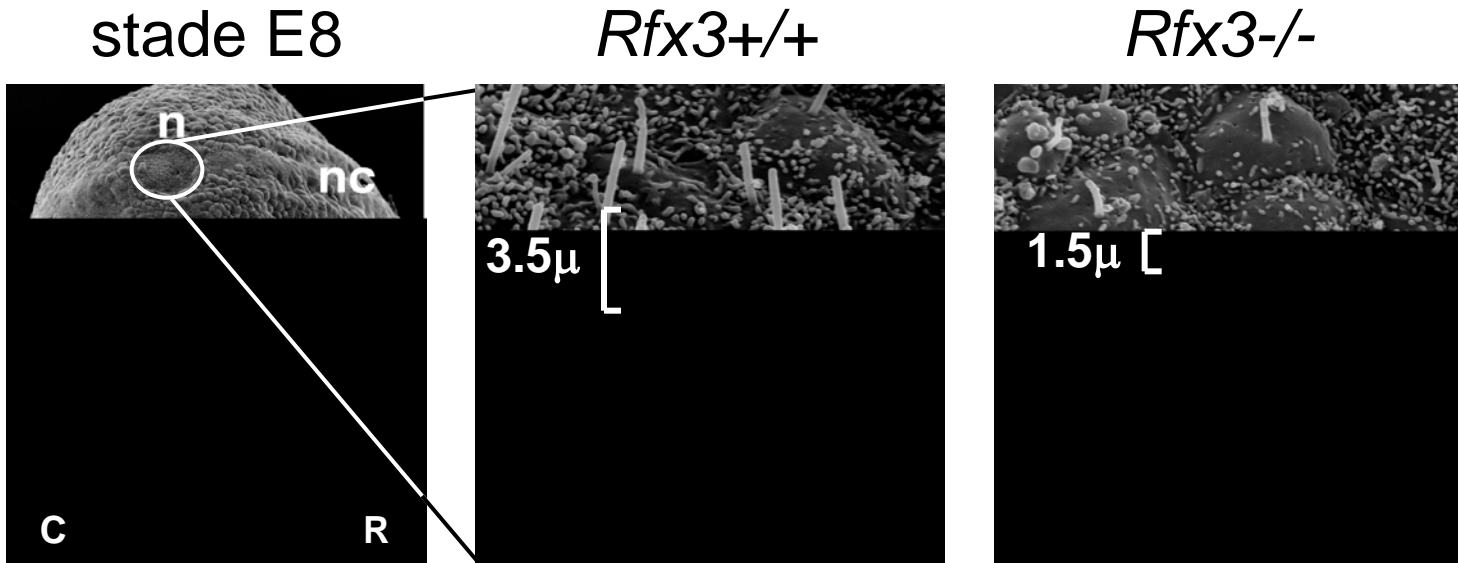
- létalité embryonnaire dans 80% des mutants du à des défauts d'asymétrie droite/gauche
- *Situs Inversus* dans 6% des adultes survivants



Bonnafe *et al.* 2004



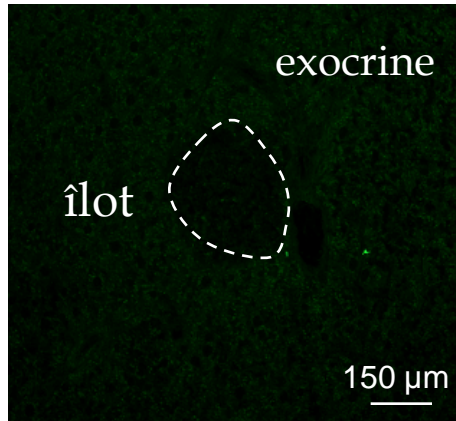
# Phénotype des souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> défaut de développement des cils nodaux



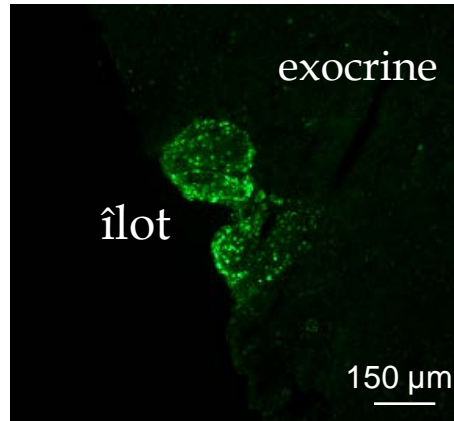
Bonnafe *et al.* 2004

# Expression de RFX3 dans les îlots du pancréas

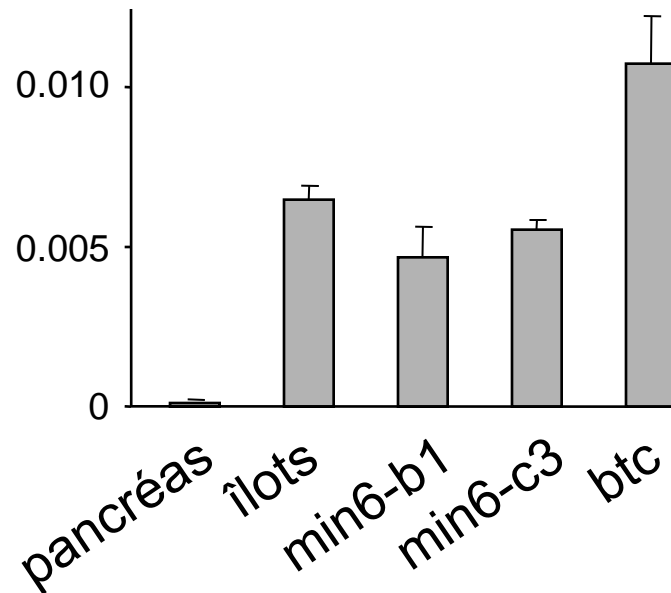
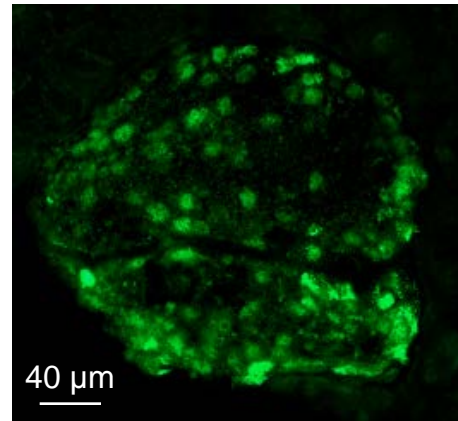
*Rfx3*<sup>-/-</sup>



*Rfx3*<sup>+/+</sup>



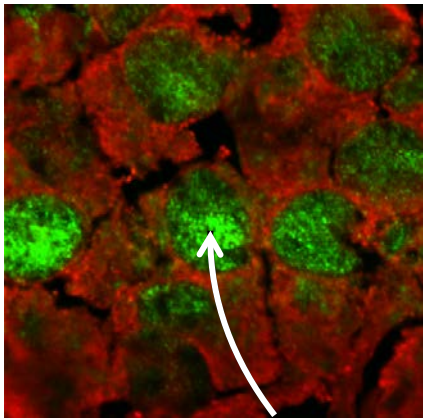
*Rfx3*<sup>+/+</sup>



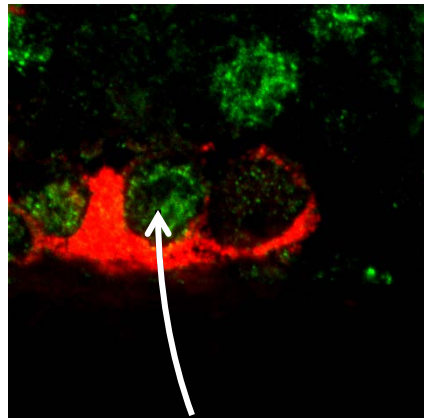
ARNm *Rfx3*

# Expression de RFX3: cellules endocrines du pancréas

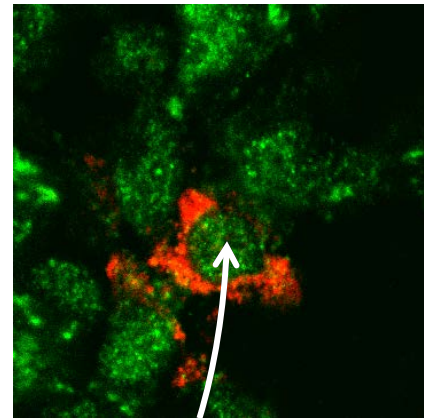
cellules  $\beta$   
(insuline)



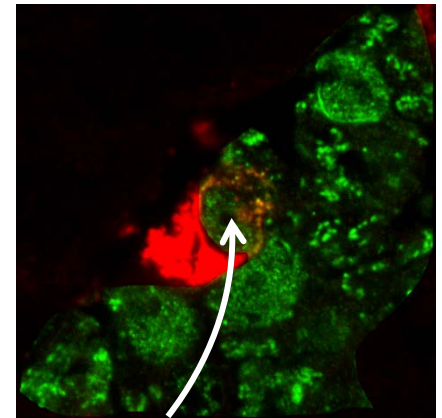
cellules  $\alpha$   
(glucagon)



cellules  $\delta$   
(somatostatine)

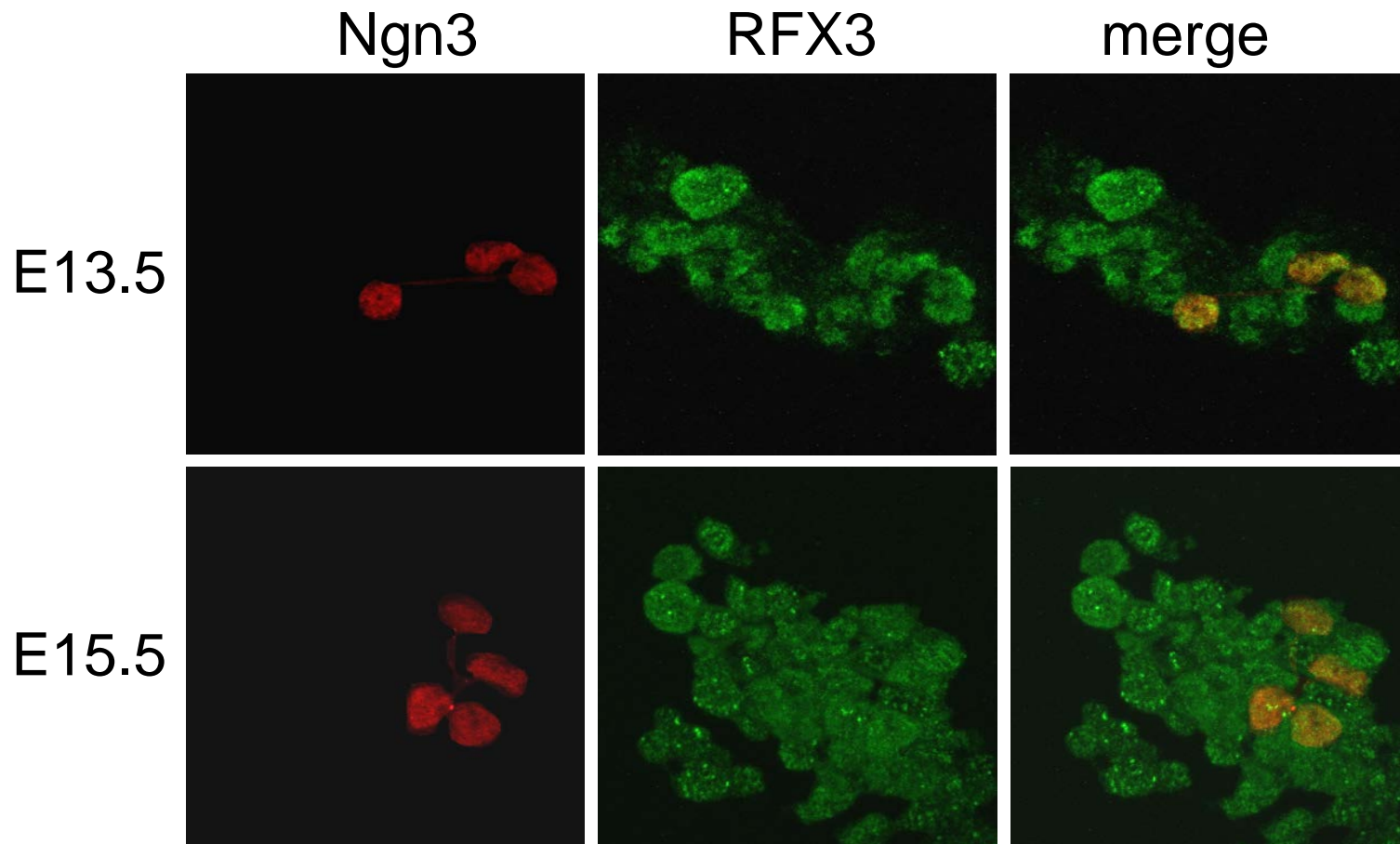


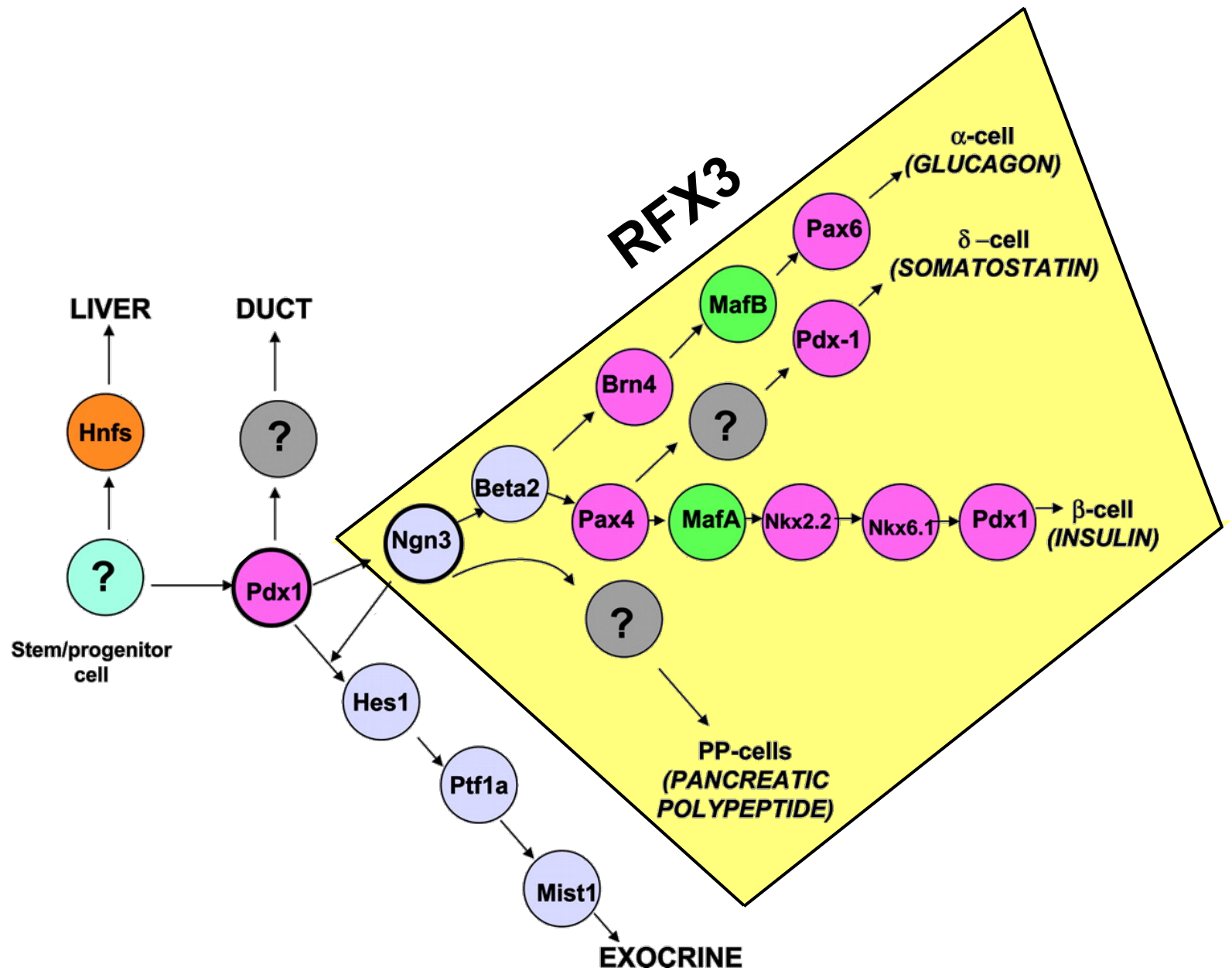
cellules PP



RFX3

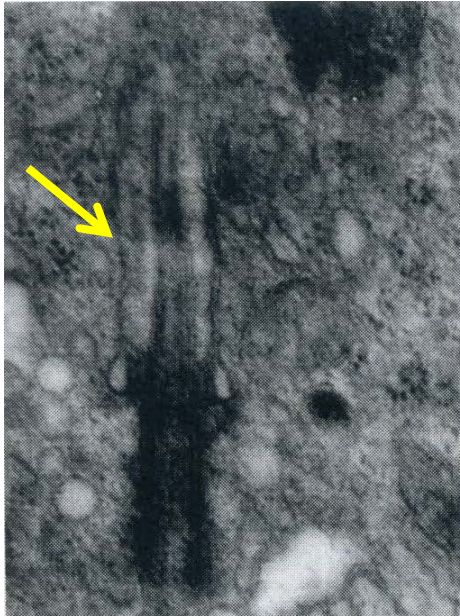
# Expression de RFX3: cellules progénitrices du pancréas endocrine



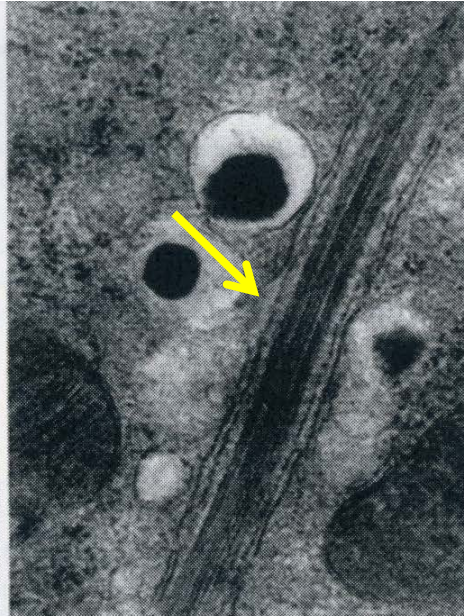


# Cils sur les cellules endocrines du pancréas (souris)

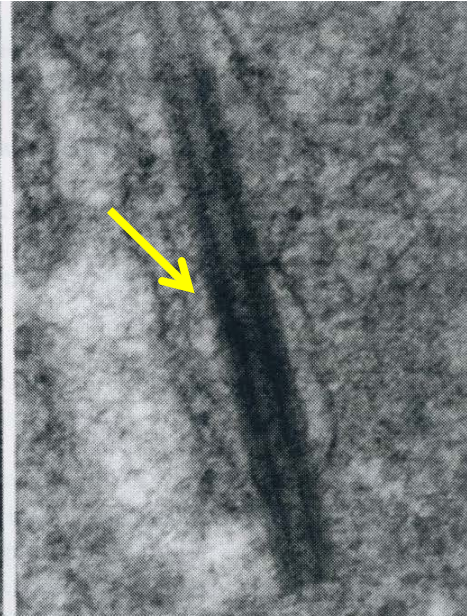
cellule  $\alpha$



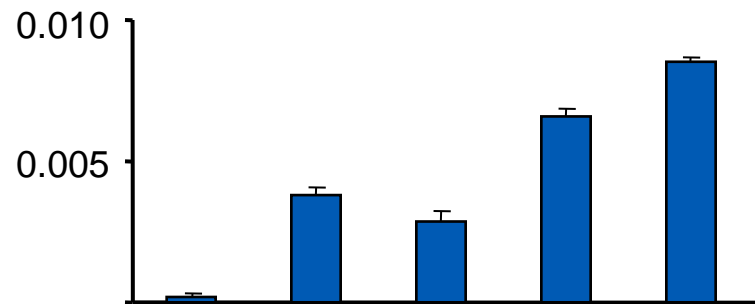
cellule  $\beta$



cellule  $\delta$

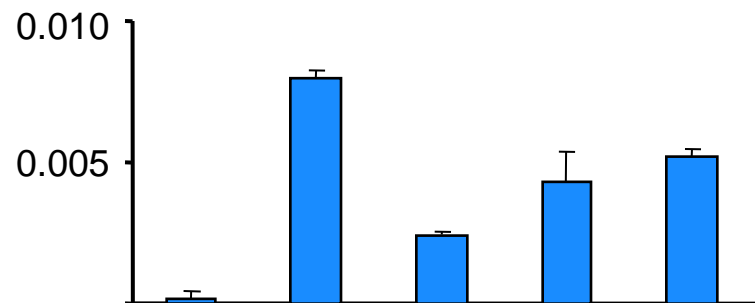


Aughsteen, 2001

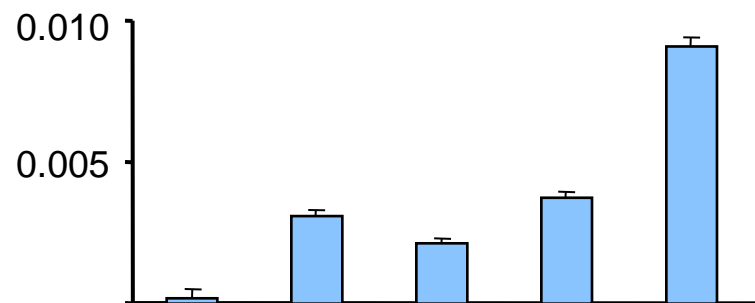


*Dync2lic* ARNm

Gènes impliqués  
dans le transport  
intra flagellaire (IFT)



*lft88* mRNA



*Kif1a* mRNA

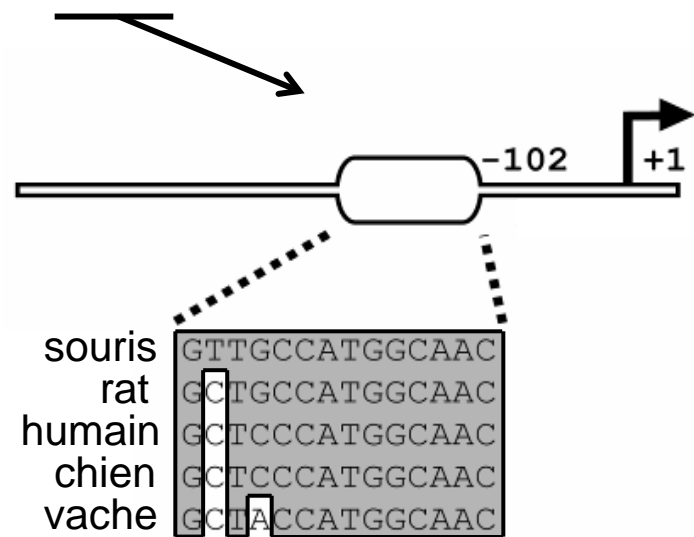
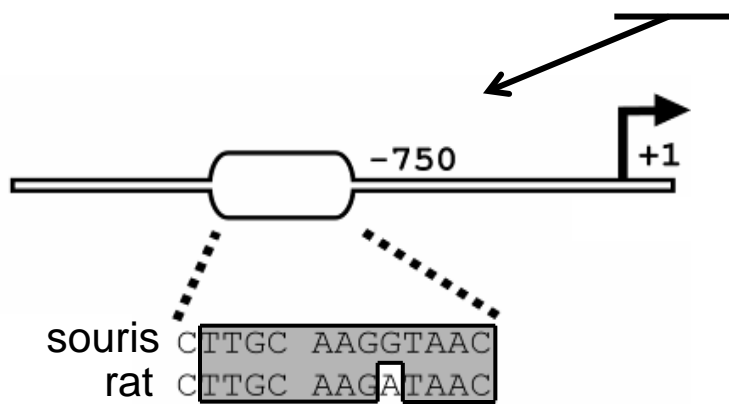
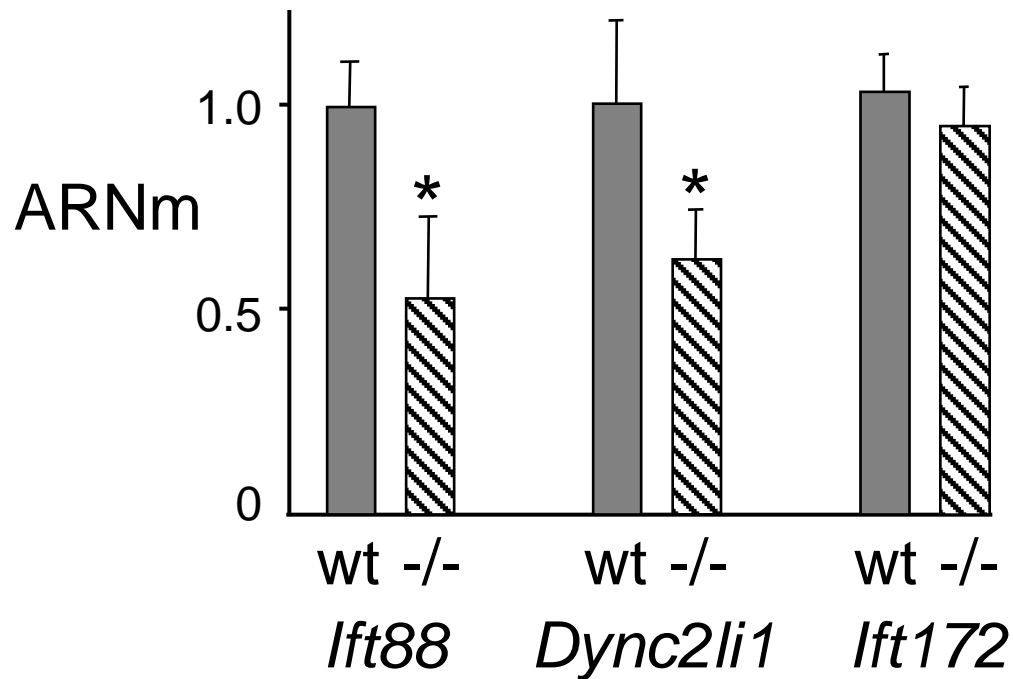
pancréas

îlots

min6-b1

min6-c3

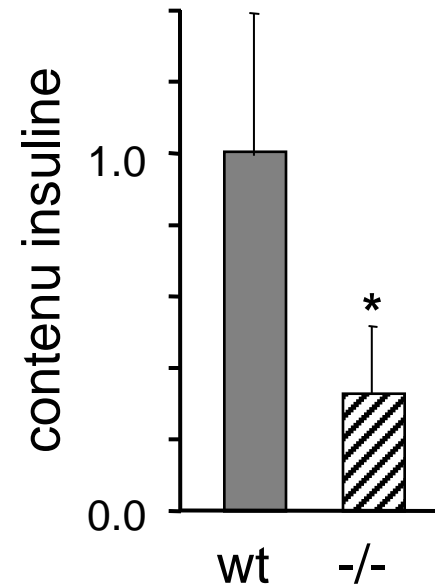
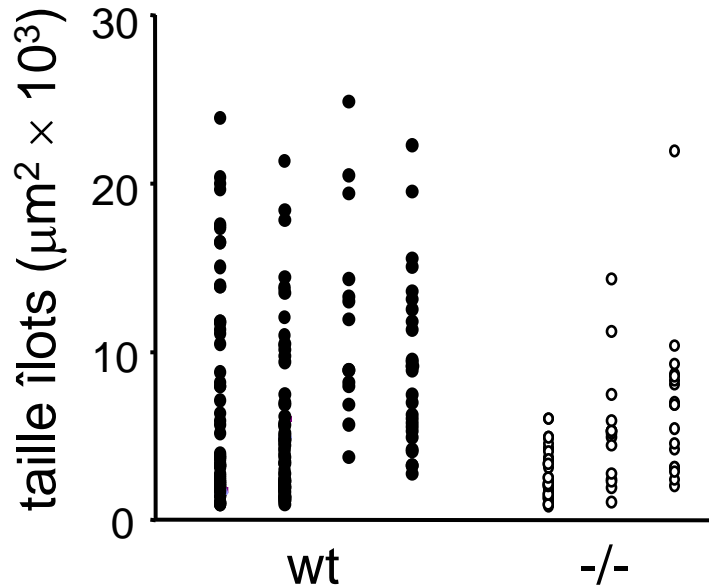
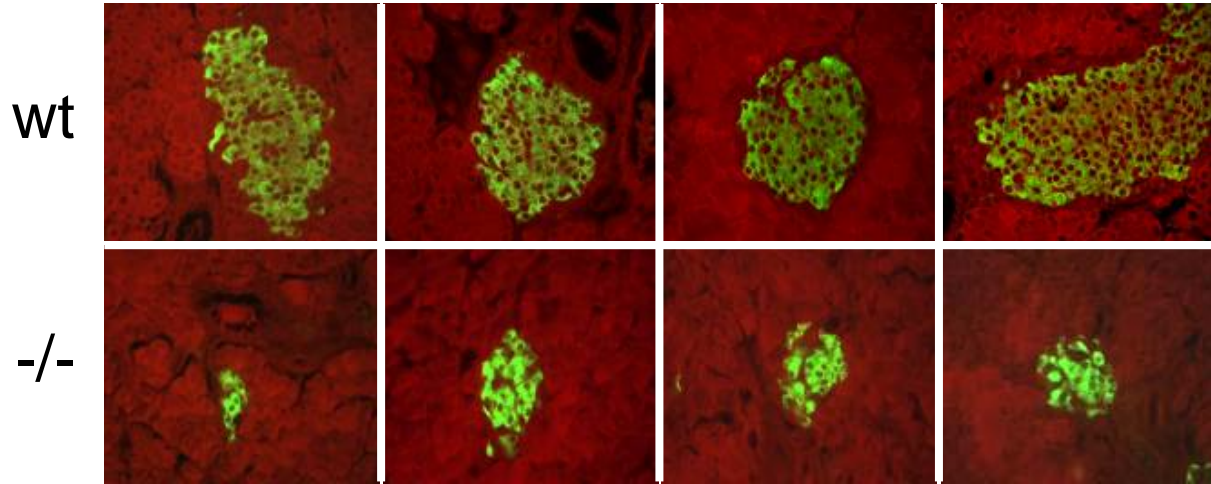
btc



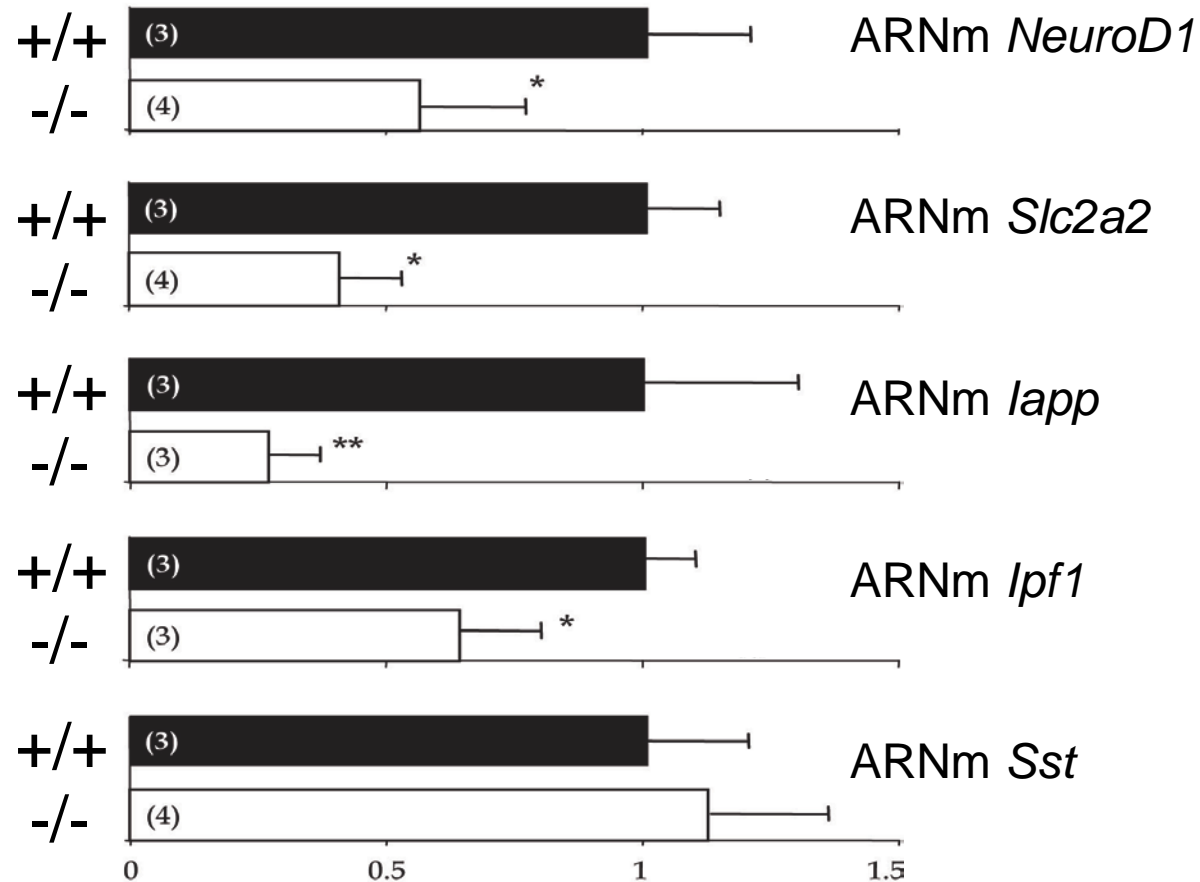


# Réduction de la taille des îlots dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>

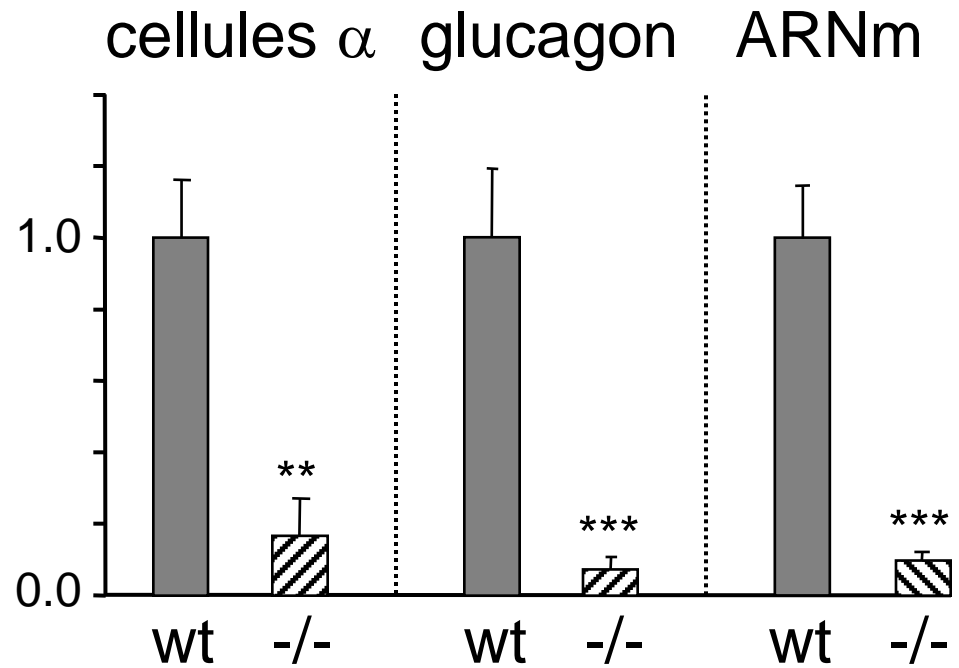
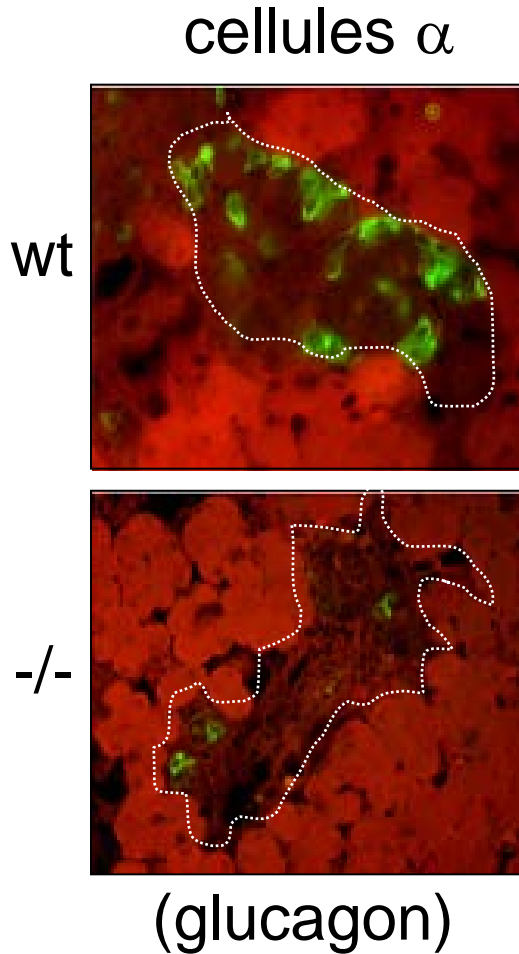
(insuline)



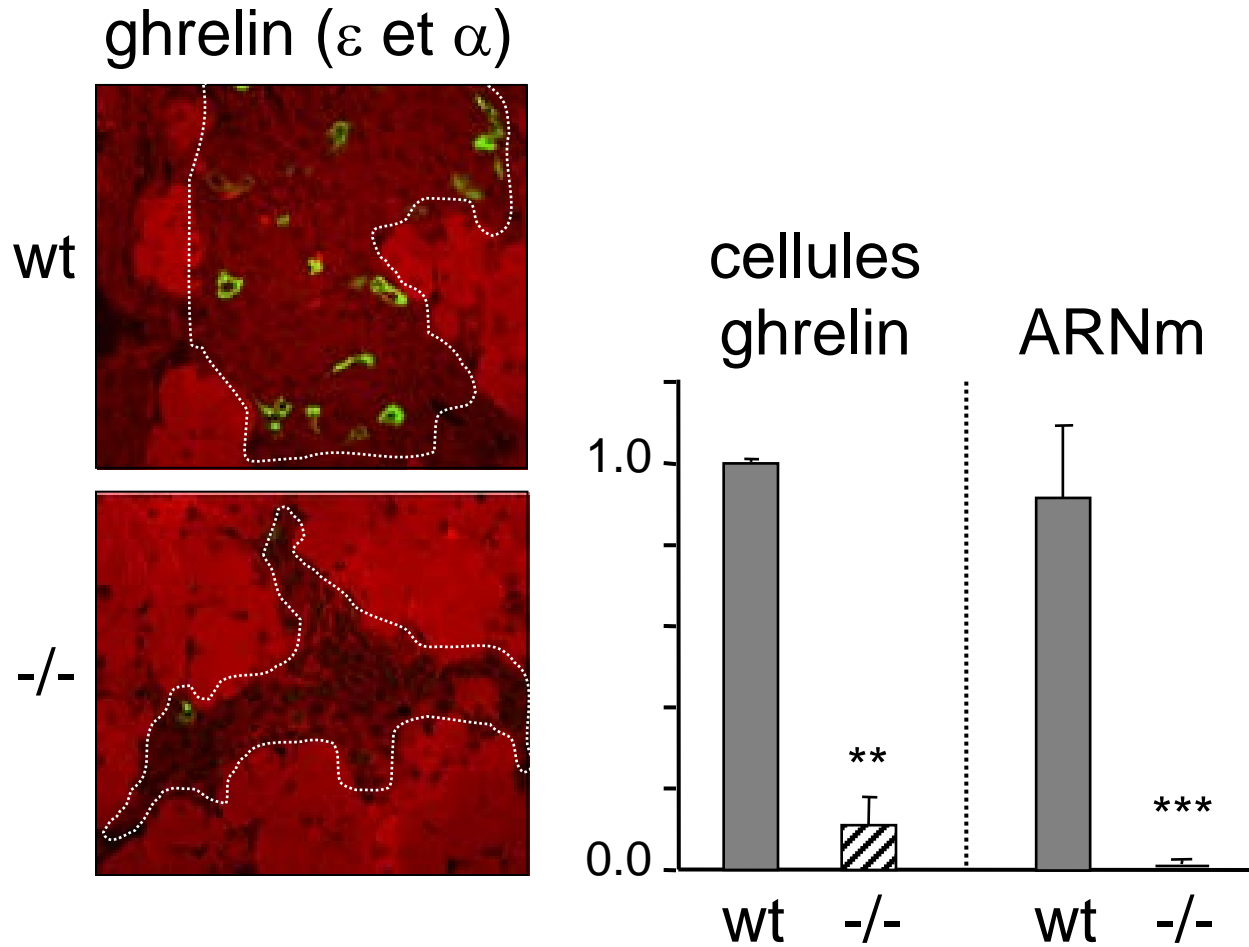
# Réduction de l'expression de marqueurs de cellules $\beta$ dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)



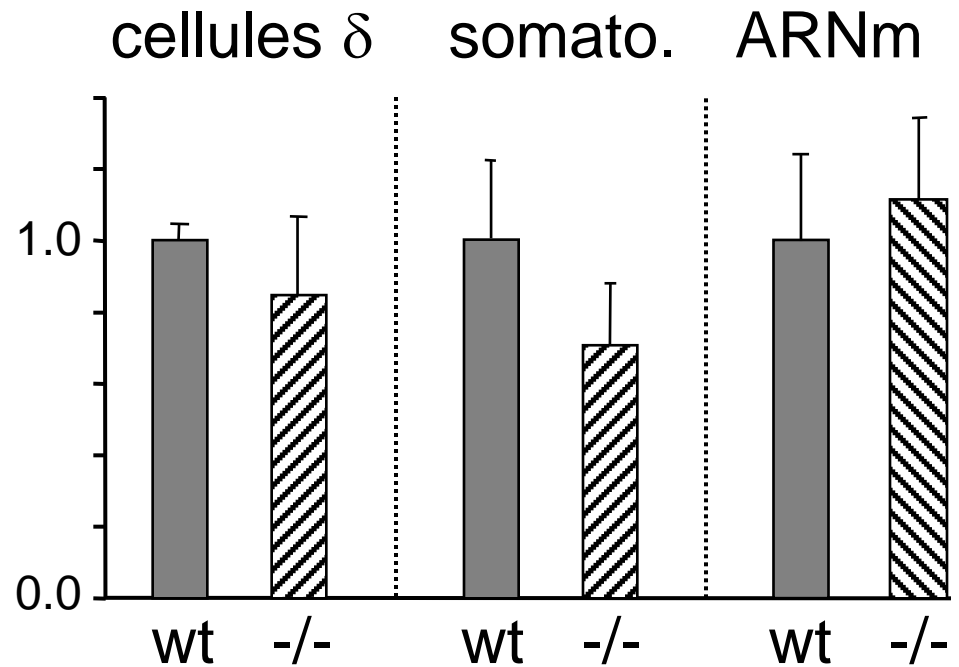
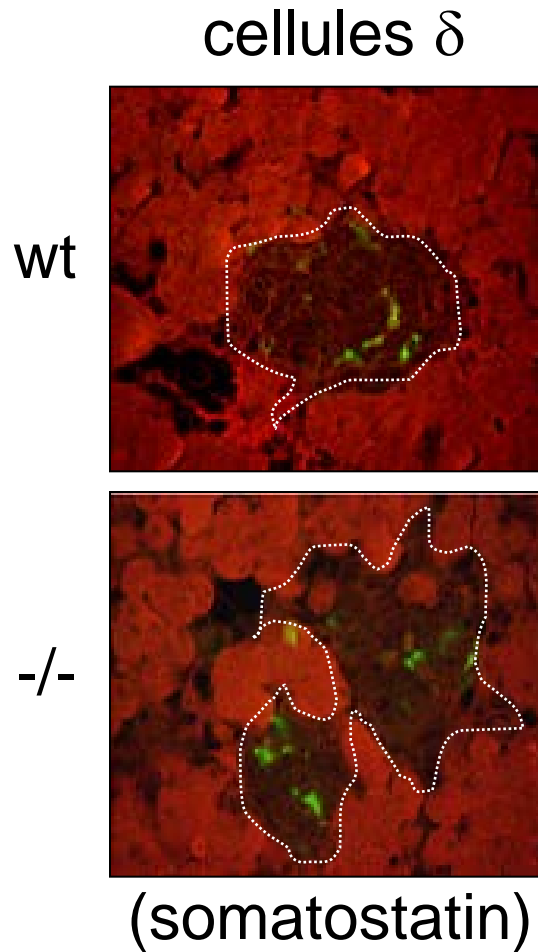
# Réduction dans le nombre de cellules $\alpha$ dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)



# Réduction dans le nombre de cellules ghrelin-positives dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)

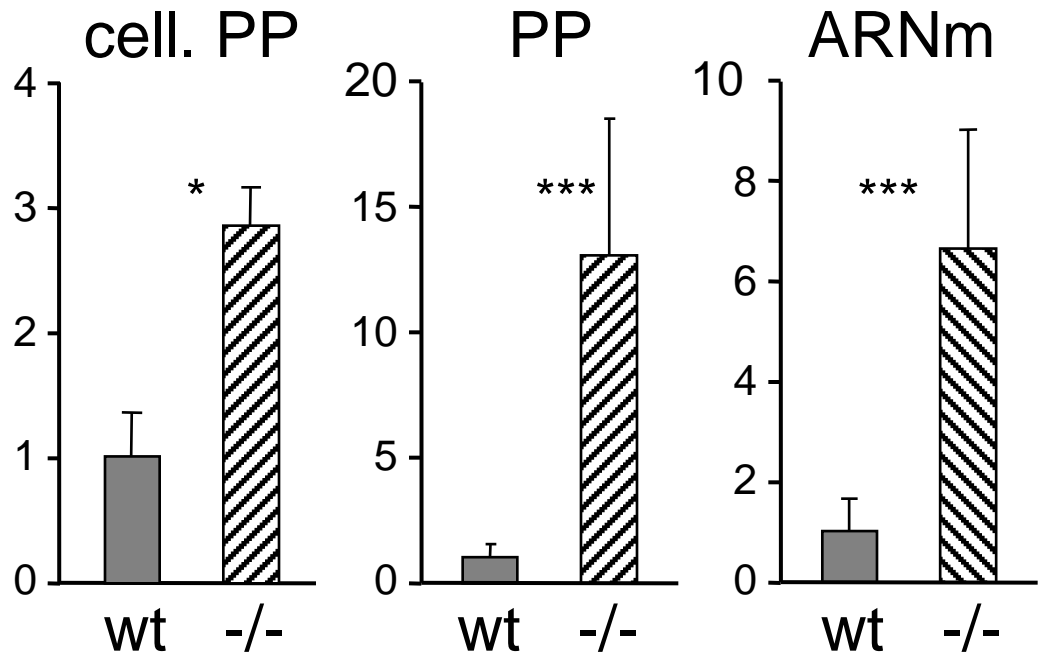
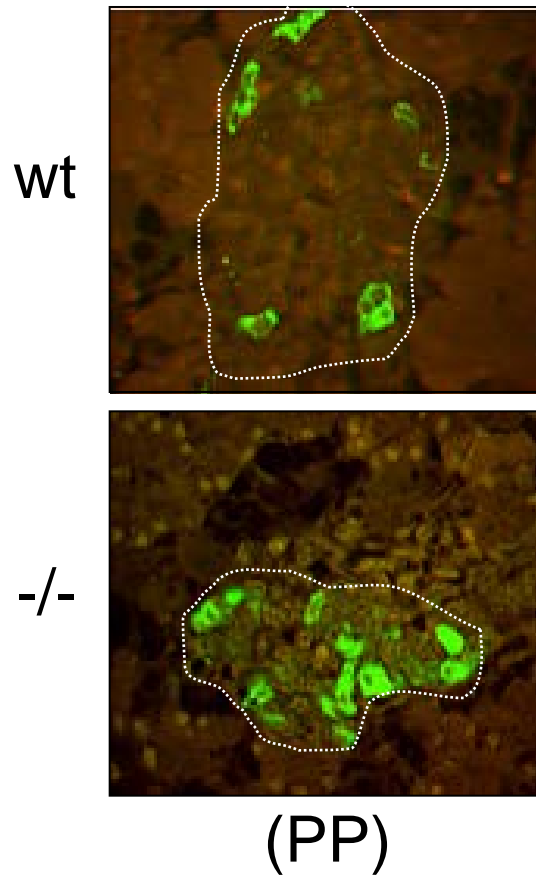


# Aucun changement dans le nombre de cellules $\delta$ dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)

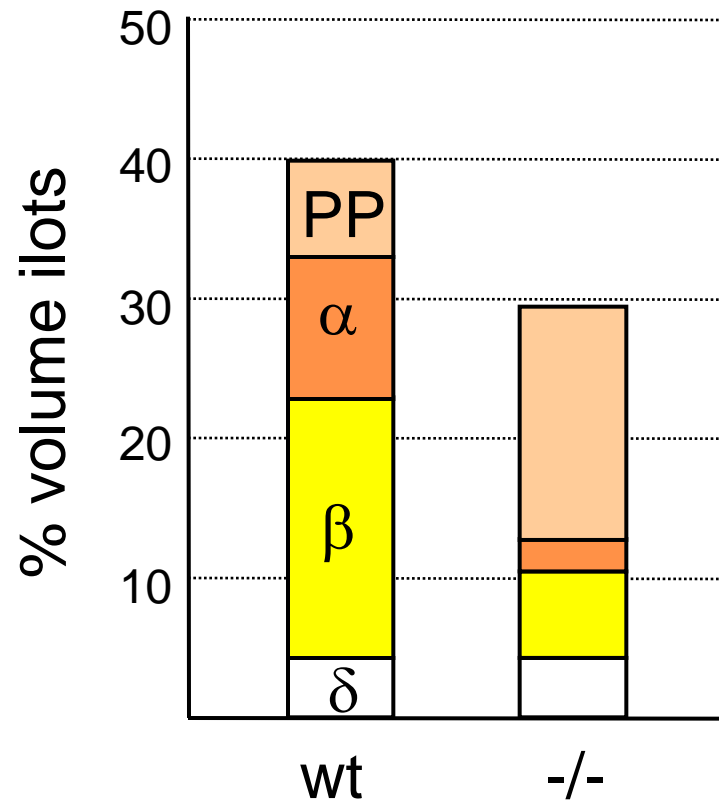


# Augmentation dans le nombre de cellules PP dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)

cellules PP



# Composition cellulaire altérée dans les îlots des souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)



# Conclusions:

- deux phénotypes dans le pancréas des souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>
- le développement des cils primaires sur les cellules endocrines est défectueux dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>
- le développement des cellules endocrines est fortement altéré dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup>
- trois modèles à investiguer:

1. RFX3  $\longrightarrow$  cils  $\longrightarrow$  développement

2. RFX3  $\begin{cases} \nearrow$  cils  $\longrightarrow$  fonction ?  
 $\searrow$  développement

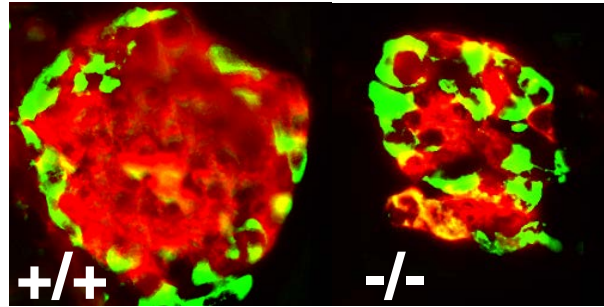
3. RFX3  $\longrightarrow$  ?  $\begin{cases} \nearrow$  cils  $\longrightarrow$  fonction ?  
 $\searrow$  développement



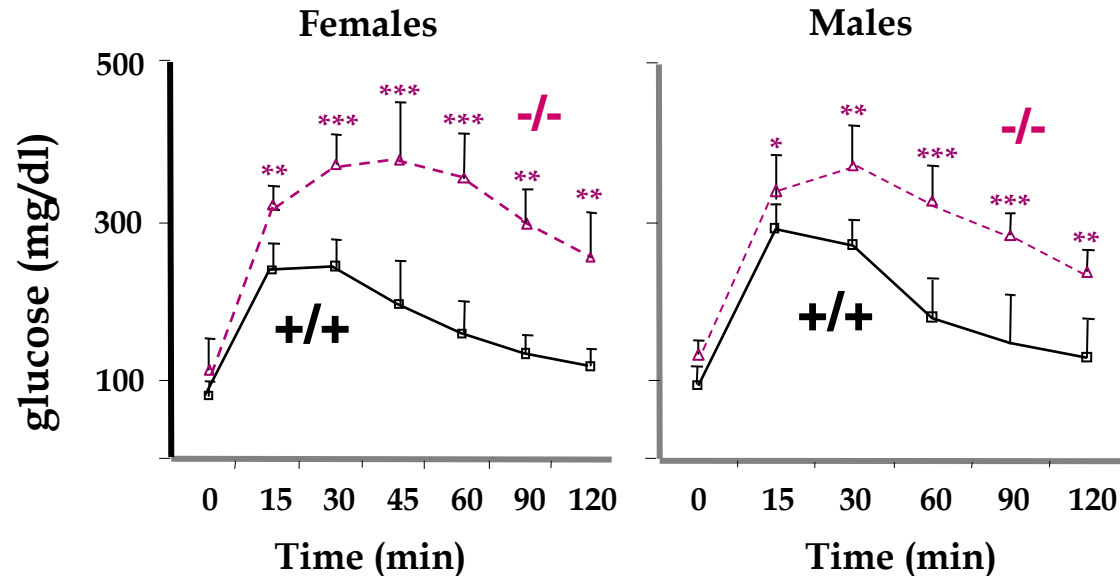
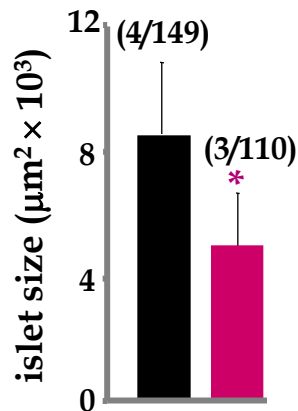
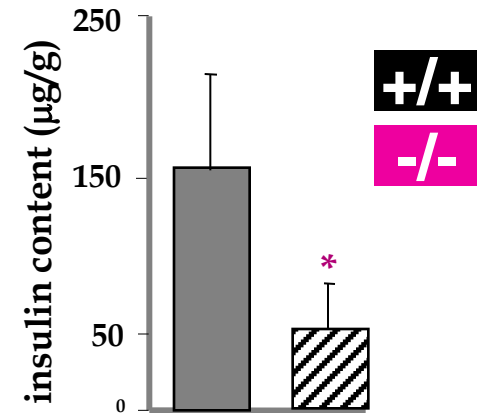


# Adult Rfx3<sup>-/-</sup> mice exhibit impaired glucose tolerance, reduced insulin production and small disorganized islets

Insulin/Glucagon staining

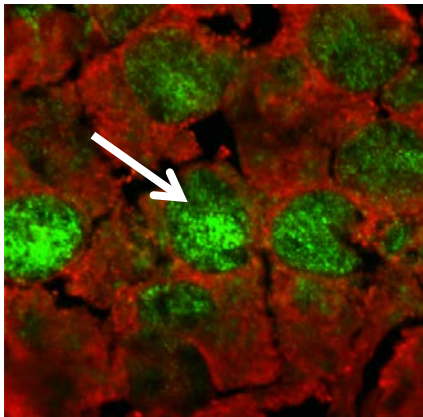


islets

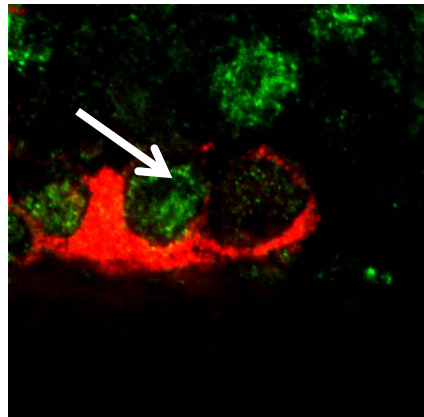


# Expression de RFX3: cellules endocriniennes du pancréas

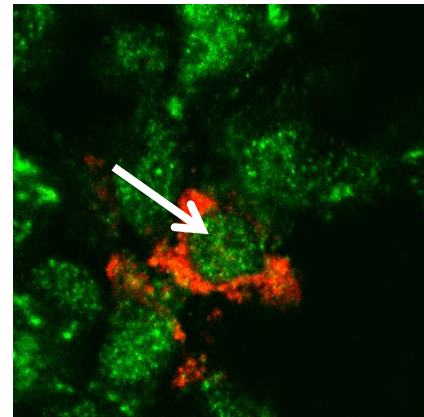
cellules  $\beta$   
(insuline)



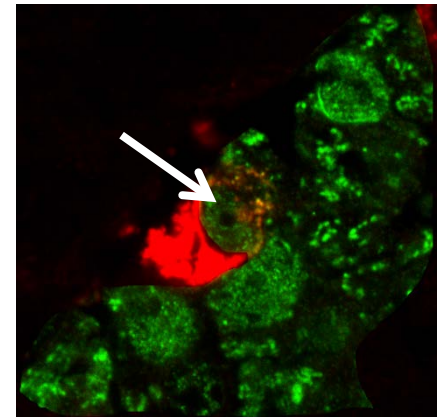
cellules  $\alpha$   
(glucagon)



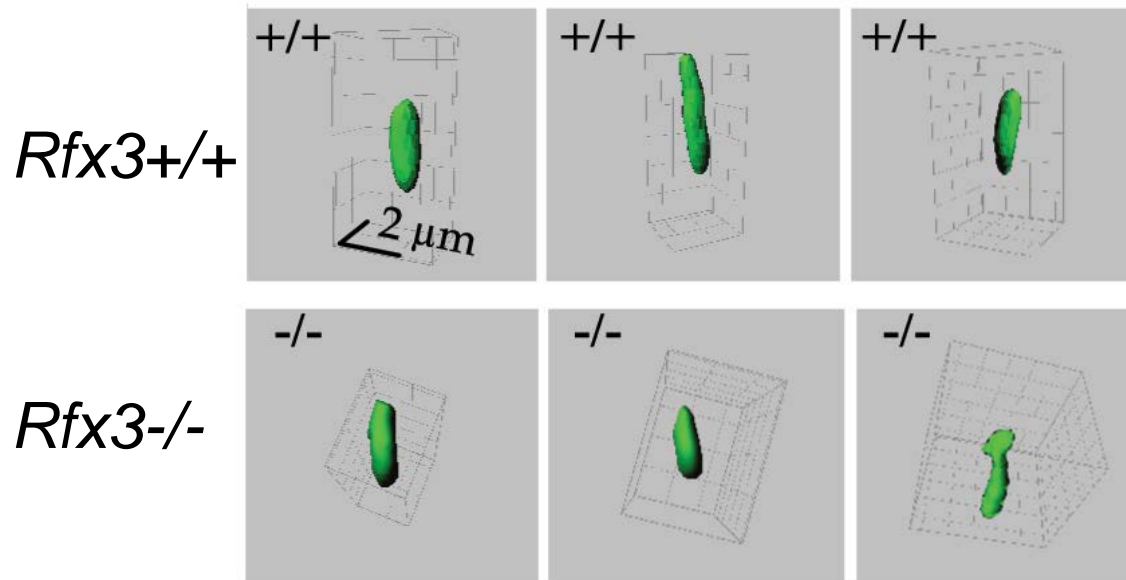
cellules  $\delta$   
(somatostatine)

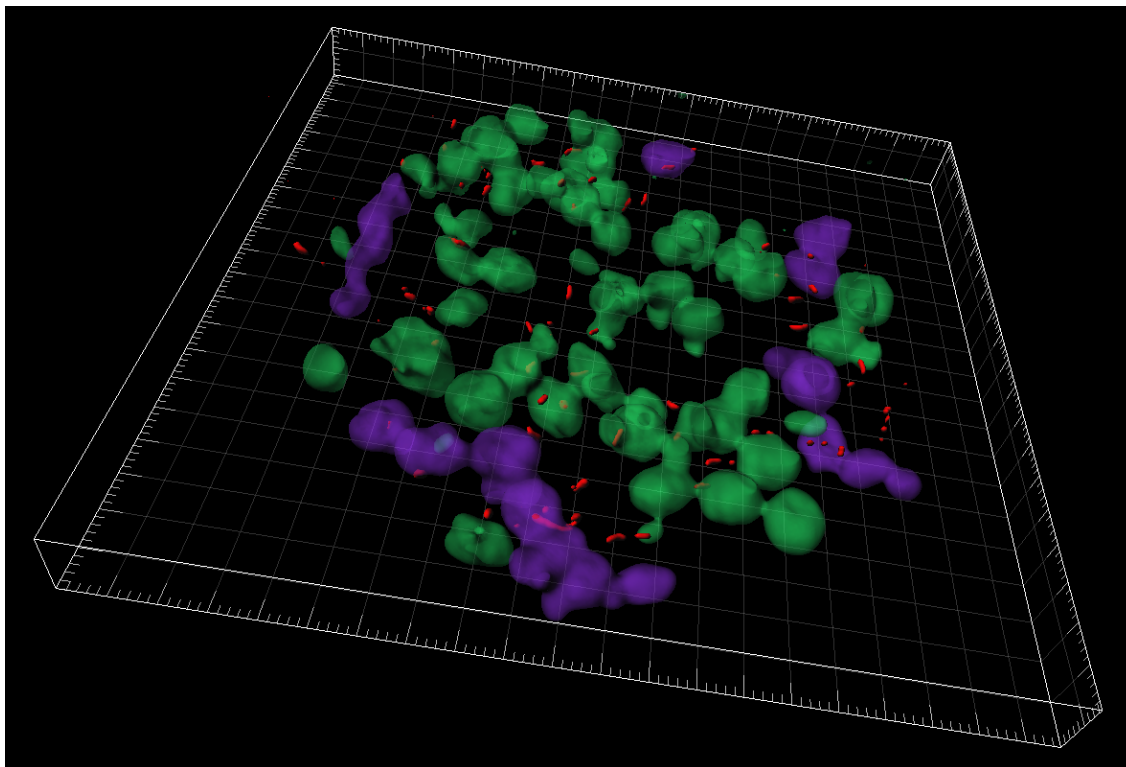


cellules PP



Les cils dans les canaux exocrines ne sont pas affectés dans les souris *Rfx3*<sup>-/-</sup> (E19)





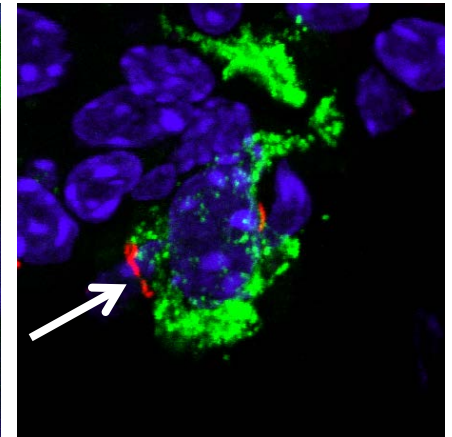
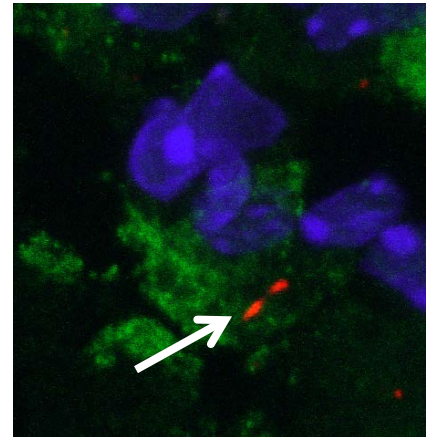
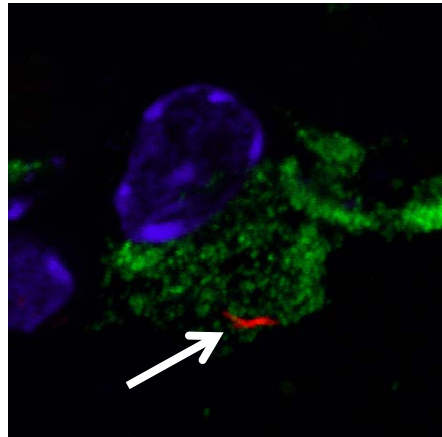
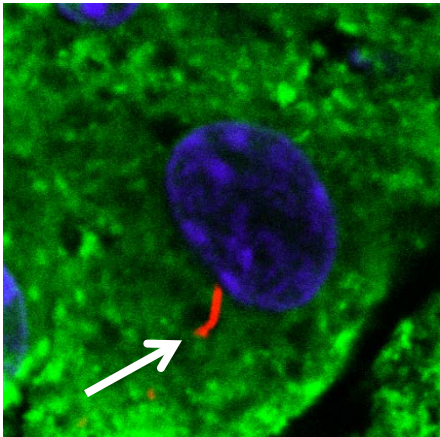
# Cils sur les cellules endocriniennes du pancréas (E19)

cellules  $\beta$   
(insuline)

cellules  $\alpha$   
(glucagon)

cellules  $\delta$   
(somatostatine)

cellules PP



(Cils marqués avec Ac contre  $\alpha$ -tubuline acétylé)