Inflammation, fibrose et cancer du pancréas et pancréatite chronique

Quand on a de l’inflammation dans le pancréas, on arrive à un phénomène qu’on appelle la pancréatite. Si cette inflammation perdure, on arrive à une pancréatite chronique. Cela va donner des anomalies. Des anomalies des canaux du pancréas, ou encore du parenchyme avec la formation de calcifications.

D’un point de vue histologique apparait lors de l’évolution de la fibrose (il y a une destruction des canaux du pancréas et de la fibrose entre les acinis, cellules qui forment le parenchyme pancréatique et constitue 95% du pancréas)

Les causes sont multiples : l’alcool (80% des pancréatites chroniques dans les pays occidentaux) mais aussi d’autres causes qui agissent comme des facteurs associes ou indépendants (génétique auto-immun métabolique) provoquant tous l’inflammation de la glande pancréatique.

DIAPO : Voici un acini, qui fabrique les enzymes permettant la digestion. C’est un système de bouquet qui vont se diriger vers des structures canalaires qui eux même vont se jeter dans un plus gros canal : le canal de Wirsung. C’est un peu la cellule fonctionnelle du pancréas.

Du fait de l’action des différentes toxiques (principalement l’alcool mais aussi d’autre), il va y avoir une activation, une agression de cette cellule acinaire. Par exemple pour l’alcool et ces dérivés, ils vont avoir directement un pouvoir de stress oxydant sur la cellule mais aussi sur d’autre cellules associés comme les cellules étoilées du pancréas (cellules qui ont un rôle primordiale dans l’inflammation, de fibrose voire de cancérogenèse).

Ces cellules étoilées vont être activées du fait de l’alcool mais aussi de ces dérivés et de tous ce qui va être secrétés à cause du stress oxydant par la cellule acinaire

Il peut y avoir une action directe sur les lysosomes, qui vont avoir une action sur l’ensemble des zymogènes et donc la transformation de pro enzymes en zymogènes actifs et permettre la digestion (protéines, lipides, glucides, etc.) et donc agresser la cellule acinaire.

C’est enzyme ne sont normalement pas activées dans la cellule (sinon digestion de la cellule provoquant une pancréatite aigue et une digestion du pancréas). Elles sont activées quand elles sortent de la cellule acinaire. Mais sous le fait de l’alcool, du stress oxydatif elles peuvent être activées dans la cellule.

Comme dit auparavant il n’y a pas que l’alcool, il y a aussi des facteurs génétiques de plus en plus connus, notamment une activation directement des proenzymes en enzymes du fait de certaines mutations qui vont agir directement sur le trypsinogène. Dans l’acini, le trypsinogène va se transformer en trypsine et il va y avoir un retro-contrôle pour ne pas avoir un emballement enzymatique, car normalement la trypsine va transformer des proenzymes en enzymes actifs provoquant la digestion. Donc si emballement de cette cascade, il y a aussi un emballement de l’activation des enzymes et donc digestion dans l’acini. Donc ces retro-contrôles peuvent être mutés dont certains gènes comme SPINK 1 (code l’inhibiteur du trypsinogène sous la forme cationique). Donc quand mutation plus de retro-contrôle et emballement de la cascade.

De même, quand mutation du trypsinogène lui-même, codé par le gène PRSSA, il peut aussi y avoir un emballement de ces cascades. Aussi un défaut de régulation de la sortie de ces enzymes au niveau du pole supérieur de l’acinus quand il y a des mutations du gène CFPR (code pour un canal chlore). (Mutation présente lors de la mucoviscidose)

Donc plein de possibilités génétiques qui vont provoquer une activation de ces enzymes au sein même de la cellule acinaire alors que ca ne devrait pas.

D’autres facteurs vont jouer. Environnementaux comme par exemple le tabac (facteur de risque du cancer du pancréas et aussi de pancréatite aigue/chronique). Il va jouer un rôle essentiellement sur le stress de l’acini avec une surexpression de certaines protéines comme la PAP (protéine jouant sur l’inflammation) mais également la médiation de certaines interleukines et chimokines qui vont aussi jouer sur l’inflammation (comme le TGFβ qui est très pro-inflammatoire). Aussi surexpression de certains pro collagènes (et donc formation d’une fibrose extensible au niveau du pancréas).

Tout ca agit sur la formation de l’inflammation et de la fibrose du pancréas

Pour résumer, l’alcool joue un facteur favorisant. Mais il peut y avoir beaucoup de personne ne buvant pas présentant des phénomènes inflammatoires pancréatiques, du a des facteurs génétiques, toxiques ou métaboliques. C’est différent acteurs vont agir sur la cellule acinaire mais également activer des cellules étoilées du pancréas. L’activation de ces dernières va être à l’ origine de la création d’une inflammation par un remaniement de toute la MEC periacinaire, et donc favoriser les phénomènes de pancréatite chroniques (et donc l’instauration d’une fibrose). Cette fibrose quand elle est installée, va être à l’ origine d’obstruction des petits canaux du pancréas et d’activation de différentes voies de signalisation qui vont agir dans l’oncogenèse pancréatique.

Les cellules étoilées sont à l’ origine de l’instauration de cette inflammation et de cette pancréatite par la formation de plein de chimokines ou de cytokines pro inflammatoires et notamment du TGFβ.

DIAPO. On voit différent acinis qui forment un bouquet ainsi que le départ des canalicules pancréatiques. Toutes les secrétions des acinis s’écoulent dans ces petits canaux qui vont former un réseau canalaire pour que toute ces secrétions s’écoulent dans le tube digestif et permettre de digérer. Le problème est quand ils ne sont pas déversés dans ces canaux, qu’ils s’activent dans l’acini.

On observe autour de ces cellules acinaires les cellules étoilées. C’est 4 a 8% des cellules du pancréas (donc très peu). Donc situées autour des ilots acinaires (ici les acinis en violet et les étoilées en vert), autour des petits canaux et vont avoir un rôle central entre les interactions entre les cellules acinaires et la MEC.

Les cellules étoilées ont deux formes. Normalement elles sont quiescentes (avec une forme un peu arrondies) et on la particularité de stocker de la vitamine A. Quand il va y avoir une inflammation, une agression de la glande pancréatique, elles vont s’activer et prendre cette forme étoilée avec de longs prolongements cytoplasmiques qui vont se dérouler entre les acinis et vont secréter différentes interleukines jouant sur la prolifération cellulaire, la migration et sur le remodèlement de la MEC.

Lors d’une agression des cellules composant le pancréas (canalaires, glandulaires, endothéliales, etc.), il y a sécrétion de différentes interleukines qui vont activer les cellules étoilées qui elles même vont secréter différentes interleukines et vont s’auto activer et c’est cette auto activation qui va être a l’origine des 4 grandes fonctions des cellules étoilées du pancréas (cellules clés de la fibrose pancréatique) *ca l’air important au bout d’un moment.*

Pour étudier la fonction des cellules étoilées (ce n’est pas si simple car il y en a peu) il y a différentes techniques :

* In situ, on est allé les voir sous microscope optique (comme les anatomopathologistes) ou électronique (à très fort grossissement pour voir leur forme) ou par immunohistochimie (car elles ont la particularité de fabriquer de l’actine muscle lisse)
* Des modèles animaux qui ont été fait de pancréatite chronique et de cancer et on va extraire les cellules étoilées du pancréas de ces modèles murins. Cependant c’est très difficile car elles sont minoritaires (on a donc souvent un mélange hétérogène), qu’il existe aussi des différences entre les espèces (donc difficile d’extrapoler) et que selon le type de pancréas sur lequel on prélève, on aura des cellules quiescentes ou activées.
* Les lignées cellulaires, mais c’est un mauvais reflet de ce qui se passe réellement car on aura que des cellules étoilées, alors que ces dernières jouent leurs rôles grâce a leur interaction qu’elles ont avec les autres cellules
* Les lignées de cellules étoilées mortalisées, mais qui ne gardent pas leur phénotypes

DIAPO : On observe une coupe épaisse de pancréas humain et ainsi analyser l’ensemble des tissus. L’intérêt est de conserver l’ensemble du tissu avec toute l’architecture, les interactions entre les cellules. On ne perd pas la différenciation cellulaire comme on peut observer dans les cultures cellulaires classiques. Elles restent dans leur contexte et leur environnement. (*C’est un peu flou la)*

On voit une pièce de pancréas fraiche. L’aspect blanc est une tumeur pancréatique. On va prendre un bout de pancréas (avec une carotte) et on va faire des coupes. On met ensuite en culture avec différents milieux pour pouvoir étudier le tissu que l’on a récupéré et selon les conditions on induira différents phénomènes (inflammation, hypoxie, etc.).

Voici un système de culture (permet de mettre en culture pendant trois jours les tranches, pas au delà car cela crée des ischémies), on vérifie, comme dans toute culture, la viabilité grâce a l’activité mitochondriale par l’incorporation d’un sel au niveau cellulaire, on fait la culture et ensuite on analyse (*flou la aussi)*

On peut étudier différentes voies. Voir comment se comporte les canaux pancréatiques, est ce qu’il y a de l’hypoxie, de l’apoptose, de la mort cellulaire ? Les cellules étoilées sont elles présentes, activées ? Comment se comporte le tissu, il y a de la différenciation cellulaire, est ce que les acinis restent des acinis ?

On voit des tranches de pancréas à différent temps. Au bout de 24h, on voit apparaitre des vacuoles au centre des bouquets d’acini qui est la formation d’un canal (normalement la lumière du canalicule est virtuelle), comme si les cellules acinaires se transformer en cellules canalaires. Le phénomène s’amplifie au cours de la culture (devient un vrai gruyère). Ces canaux sont donc plus grands que des canaux normaux. Ca devient important, a ce demander ce que ca peut être.

On peut effectuer différents marquages en immunohistochimie. Lorsque que l’on marque spécifiquement les cellules canalaires, on s’aperçoit que les cellules acinaires qui se sont transformées prennent le phénotype canalaire (deviennent positives au CK7) ce qui prouvent bien que les cellules qui se sont transformées sont devenues des cellules canalaires.

Quand on regarde le reste du parenchyme pancréatique au cours du temps, on voit une baisse de la sécrétion de la trypsine par les acinis qui se sont transformées.

Ce n’est pas le cas des cellules endocrines, leur fonction est conservée.

Quand on regarde les phénomènes qui sont lies a cette transformation, quand on utilise des marqueurs spécifique de l’hypoxie (comme IF-1 ou le CA9), on voit que les cellules qui ce sont transformées fixent très fortement au niveau membranaire ou nucléaire ces marqueurs, montrant que les cellules qui ce sont transformées étaient des cellules en souffrance (en présence d’un stress cellulaire important)

Pour autant est ce que c’est cellules sont rentrées en apoptose ? Lorsque que l’on utilise un marqueur spécifique de l’apoptose on se rend compte que non (très peu de marquage). Il y a donc une vraie transformation des cellules acinaires sans apoptose associées

Qu’en est-il des cellules étoilées ? Quand on fait un marquage spécifique de ces cellules activées, on les voit apparaitre au fur et a mesure de la culture avec ces grands bras qui entourent les acinis. On voit bien une activation des cellules étoilées qui est même de plus en plus forte au cours de la culture, ce qui signifie que très précocement (des les premiers jours de culture, dans un milieu qui est forcement stressant pour eux) il y a une activation de ces cellules.

Qu’en est-il de leur prolifération ? Quand on fait un double marquage entre un marqueur de prolifération (par exemple le KI 67) associes a un deuxième marquage pour l’actine muscle lisse, on voit que ce sont les cellules étoilées qui prolifèrent de plus en plus au cours de la culture. Il y a donc une transformation, une activation et une prolifération de ces cellules en peu de temps des qu’il y a un phénomène inflammatoire dans le pancréas.

Les autres marqueurs de l’inflammation (comme le TGFβ) sont également très exprimés après trois jours de culture, notamment par les cellules transformées.

Qu’est ce que ca veut dire ? On voit des phases très précoces d’inflammation, de stress oxydatif, de stress cellulaire, il a une activation de ces cellules étoilées.

Ces cellules vont avoir un rôle majeur au niveau des phénomènes inflammatoires, vont probablement jouer sur la transformation des cellules acinaires en cellules canalaires : la METAPLASIE DUCTO ACINAIRE

Donc différents facteurs (toxiques, métaboliques, etc.) vont avoir un rôle d’agression sur le pancréas, avec un stress oxydatif cellulaire et donc d’activation des cellules étoilées. Ces dernières vont être à l’origine de la pérennisation de ces phénomènes inflammatoires et la formation d’une pancréatite chronique et d’une fibrose pancréatique par le biais de sécrétion de certaines cytokines pro inflammatoire, de chimokines. Cette fibrose va être à l’origine d’activation de différentes voies et donc dans un second temps de l’apparition d’une métaplasie ducto acinaire, probablement de l’apparition de lésions précancéreuses du pancréas et dans un dernier temps du cancer du pancréas.

La métaplasie ducto acinaire : transformation d’une cellule acinaire en une cellule canalaire (changement complet de phénotype) via le stress pancréatique, la secretion de différentes interleukines et la transformation en cellule canalaire.

Quand on prend des souris qu’on a pu muter et provoquant un phénomène de pancréatite chronique, on voit tout a fait l’apparition de cette métaplasie au fur et a mesure des phénomènes inflammatoires

Les lésions précancéreuses : comme les panINs (pancréatite intra épithéliale néoplasie) qui est une prolifération canalaire a l’origine du cancer du pancréas.

Les cellules étoilées vont également avoir un rôle direct sur les cellules cancéreuses. Elles sont à l’origine de la métaplasie, la mise en place des lésions précancéreuses et également un rôle quand le cancer est déjà en place car elles vont favoriser la transformation de la MEC et également elles vont avoir un lien important sur la mobilité des autres cellules mais également la migration et la prolifération. Les cellules étoilées stimulent les cellules cancéreuses en les aidant à proliférer notamment via le TGFβ mais aussi en jouant sur les phénomènes d’hypoxie parce que les cellules étoilées remodèlent en formant de la fibrose la MEC, ce qui provoque de l’hypoxie. Cette hypoxie va stimuler l’angiogénèse (pour une restimulation mais qui favorise la migration des cellules cancéreuses). C’est un cercle vicieux.

Les cellules étoilées remodèlent la matrice, provoquent de l’hypoxie qui stimule les cellules cancéreuses. Et également les cellules étoilées jouent directement sur l’angiogénèse en fabriquant le VGF, le PDGF (facteurs favorisant l’angiogénèse).

L’hypoxie, qui est une condition tumorale et peritumorale constante (car c’est une prolifération anarchique, les vaisseaux ne sont pas bien formés), va créer toute les conditions pour favoriser l’angiogénèse, la stimulation des cellules étoilées et l’agressivité de la tumeur sous jacente (du fait du microenvironnement tres hypoxique).

Des les phases précoces de cancérisation (même au stade de lésions précancéreuses), il y a déjà des défauts de diffusion de l’oxygène et donc d’oxygénation des tissus.

DIAPO : On voit que la pancréatite chronique avec une fibrose installée va favoriser l’angiogénèse, la stimulation des cellules étoilées (qui elles même vont favoriser également l’angiogénèse) mais l’activation de ces dernières favorisent aussi l’hypoxie parce que ca remodèle la MEC. C’est donc un cercle vicieux qui ne fait que s’amplifier.

Le rôle des cellules étoilées est donc duale car d’un cote elles stimulent l’angiogénèse et de l’autre elles l’inhibent (car stimulent la fibrose et le remodelage de la MEC)

Si on repart du début, on remarque que les cellules étoilées vont favoriser l’inflammation, la formation de la fibrose, l’hypoxie, la formation de lésions précancéreuses, la métaplasie ducto acinaire et au final la cancérisation.

On sait que la pancréatite, en soit chronique, est un facteur de risque du cancer du pancréas (16 fois plus de risque de la population d’avoir un cancer pour un patient atteint d’une pancréatite chronique alcoolique, ce qui nous fait un risque de 4% a 20 ans d’évolution)

On sait également que tous les mécanismes de l’inflammation sont des facteurs de risque du cancer du pancréas. Quand par exemple on a une obésité, un syndrome dysmetabolique (qui est de plus en plus fréquent), cela crée une insulino résistance et il y a un facteur de risque du cancer du pancréas relatif qui est de 2.

Le tabac aussi un facteur de risque (sur risque qui est de 2). Majoré dans le temps (plus l’on fume, plus le risque augmente). Cela passe par des médiateurs pro inflammatoires (vu plus haut).

Quand on regarde au cours de la pancréatite génétique, le facteur de risque de cancer du pancréas chez ces patients est énorme (87 fois plus que la population générale). Est d’autant plus si vous fumez (exponentielle a partir de 50 60 ans si vous fumez)

Tout ca pour dire que quand on a cette inflammation qui s’installe, on va être sujet a la formation de lésions précancéreuses.

3 types de lésions précancéreuses (Dont 2 principales et une rare)

* PanIN (pancréatite intra épithéliale neoplasia) *prononcés panine*
* Tumeur intracanalaire papillaire et mucineuse du pancréas (TIPMP)

De ce que l’on dit, les cancers du pancréas se développent à partir des lésions canalaires (cellules qui bordent les petits canaux du pancréas). Mais peut être que certaines cellules canalaires viennent d’acinis (vu plus haut). Ca serait les cellules acinaires transformées en cellules canalaires par la métaplasie ducto acinaire qui seraient à l’ origine des cancers du pancréas (C’est tres débattu et c’est qui est en train d’émerger)

Les cellules acinaires en bouquet forment un tubuctule, il va y avoir un réseau de petits canaux bordes par un épithélium canalaire. Ces cellules épithéliales vont se transformer pour former de la dysplasie de plus en plus sévère et après l’envahissement de la membrane basale on passe au carcinome invasif (au cancer a proprement dire, l’adénocarcinome du pancréas).

On pense que ces transformations sont séquentielles (ca passe par les étapes intermédiaires). Cela se fait par plein d’anomalies génétiques qui vont s’accumuler, ce qui va provoquer un emballement et donner de la dysplasie.

DIAPO : Quand on prend des modèles de souris avec des pancréatites chroniques chez qui on a induit le gène p53 (oncogène), dans ce cas chez ce phénotype de souris on voit apparaitre au niveau de l’épithélium canalaire un peu de dysplasie, mais aussi au sein même du parenchyme pancréatique de la métaplasie ducto acinaire. Quand on effectue un marquage, on observe que ces cellules ont pris un phénotype canalaire.

Les cellules étoilées du pancréas sont activées (vu grâce a un marquage spécifique de l’actine muscle lisse)

Les panINs sont des lésions canalaires. On en a peut être dans notre pancréas mais c’est de la panIN I alors quand dans les pancréatites chroniques les panINs sont extrêmes fréquentes. Dans les pancréatites alcooliques, on trouve dans 60% des cas de la panIN I (c’est énorme). Chez quelqu’un qui a un cancer du pancréas on va trouver dans plus de 80% des cas de la panIN et généralement du haut grade.

DIAPO : Quand on regarde chez les gens qui ont eu une pancréatite héréditaire et qu’on veut voir s’ils ont de la panIN, on trouve énormément de panIN (dans 75% des cas) mais pas que I et II, également beaucoup de III.

Quand on regarde les différents marqueurs de prolifération comme KI 67 ou encore le p53 a la recherche de certaines mutations qui sont à l’origine des lésions précancéreuses, on voit que c’est fortement positif. Donc il y a une prolifération cellulaire.

On voit un patient qui s’est fait opérer à l’âge de 5 ans. A 5ans, son pancréas était tres inflammatoire. On voit un infiltrat inflammatoire et même la formation d’abcès. Mais l’épithélium des canaux était normal et pas de dysplasie. 16 ans plus tard, on constate que son pancréas est complètement détruit avec une fibrose extensible, il y a quasiment plus d’acinis et il y a sur l’épithélium de la dysplasie de grade modéré. Le genre de patient à avoir a 30 ans un cancer du pancréas. On voit également une prolifération tumorale intracanalaire (marqueur KI 67).

Ici c’est un patient chez qui on à découvert de la panIN III. 1 an plus tard, elle a développé un cancer du pancréas.

Les TIPMP sont aussi des lésions intracanalaire (se développent à partir de l’épithélium canalaire). On la particularité qu’on arrive a en faire le diagnostic (a l’IRM par exemple). Les canaux pancréatiques vont se dilater car ces petites tumeurs secrètent une sorte de mucus qui va boucher les canaux

Il y a différents types. Elles peuvent prendre différents phénotypes (pas que canalaire, mais aussi gastrique, intestinale, et.).

Il est tres vraisemblable que ces lésions dérivent du même phénomène (la métaplasie ducto acinaire), une partie des lésions est de la panIN, l’autre des TIPMP, aboutissant tout les deux au cancer du pancréas (la aussi c’est débattu)

Pour prendre en charge les patients, il faut tout d’abord dépister ces lésions précancéreuses. C’est tres complique de faire le diagnostic. Par exemple les panIN sont des lésions microscopiques, ca ne se voit pas sur un scanner, une IRM. Il faut une pièce opératoire sauf qu’on ne va pas dépister tout le monde en les opérant.

Pour les panIN (on sait qu’il y a une accumulation d’altérations génétiques à l’origine de cette transformation), on peut essayer de faire des analyses moléculaires dans du liquide pancréatique qu’on va ponctionner et rechercher ces altérations génétiques (pas simple). Au final pas d’outil pour aller détecter la présence de panIN

Pour les TIPMP (il faut savoir que quand on a une TIPMP du canal principal 50% de cancer à 5 an, une TIPMP des petits canaux 3 à 18%), il nous faudrait un outil pour dépister les patients sans les opérer

On peut analyser le liquide de ponction de ces kystes pour savoir si c’est prédictif ou non du grade de dysplasie. Au final quand on utilise certains marqueurs, on voit qu’au final ce n’est pas tres prédictif du grade de dysplasie, ca nous aide pas pour savoir si il faut opérer les patients

Il y a eu plein d’étude notamment sur le génome ou on va séquencer les cellulomes (elle a l’air de dire ca) des TIPMP avec une mise en évidence de mutation comme pour les panIN, la présence de certaines mutations spécifiques, notamment dans la dysplasie de haut grade comme GNAS (qui est un gène codant pour une sous protéine mutes de protéine G) qu’on retrouve dans plus de 50% des TIPMP de haut grade

Beaucoup de travaux sur le transcriptome et notamment sur l’analyse des micros ARN mais pas encore d’outils diagnostic spécifiques

Enfin on peut essayer d’analyser le protéome, les protéines synthétisées par les TIPMP et essayer de les recueillir (souvent dans le liquide des TIPMP) et rechercher les protéines d’intérêt.

Les problèmes, notamment au cours de l’inflammation du pancréas, rechercher des facteurs prédictifs de lésions précancéreuses et du niveau de dysplasie de ces lésions sont tres compliques, d’autant plus si le pancréas sous jacent est inflammatoire et qu’il y a une pancréatite chronique.

DIAPO : Approche proteomique sur les TIPMP. Pourquoi le proteomique et pas les autres ? C’est un choix par ce qu’on dit que le protéome c’est le reflet de ce qui se passe dans la cellule et surtout on prend toute les modifications des protéines (comme les méthylations)

On a fait une première étude sur l’analyse du mucus des TIPMP. On s’est demande s’il y avait des profils protéiques particuliers d’expression de ces tumeurs en fonction du grade de dysplasie.

On peut faire des approches de proteomique, notamment de spectrométrie de masse et on va regarder les profils d’expressions. On constate des profils particuliers en fonction du grade de dysplasie.

Y’a d’autre système : l’imagerie MAZI (c’est de la spectrométrie de masse) on va faire des analyses proteomique en fonction de la masse des protéines. C’est de la proteomique in situ (cad couple avec l’imagerie). Tres intéressant pour les TIPMP car c’est petits, hétérogènes, c’est des kystes avec des parois fines. C’est donc tres important de pouvoir cibler exactement l’analyse cellulaire. On prend des coupes de tissu de TIPMP congelées a -80, qu’on place sur une lame et on va préparer ces coupes (les mettre dans certain bain pour essayer d’éliminer tout les lipides etc.) et on va appliquer dessus une matrice qui va nous aider à faire l’analyse proteomique par le spectromètre.

Par un logiciel, on sélectionne l’addon que l’on veut. Ici on voit les TIPMP et un épithélium qui est tres abondant, tres dysplasique, mais ce qui est encore plus important c’est le stroma (la MEC) et on ne veut pas de ce dernier (on veut analyser la spécificité de l’épithélium), d’où l’intérêt de faire de l’imagerie et de la spectrométrie que pour analyser la zone que l’on aura sélectionnée (tres intéressant pour les tumeurs hétérogènes)

Comment ca se passe ? La spectrométrie, on a une source laser qui va taper sur la lame préparée. Le détecteur va analyser les protéines en fonction de leur masse et va nous donner un spectre de masse différentiel (comme s il vous dit j’ai tant de protéines a ce poids la). A partir de ce spectre, il peut vous reconstituer l’image que vous aviez au début (sur votre coupe, a ce niveau la, j’ai tant de protéines de tel masse etc.)

Apres avoir identifié des masses qui nous intéressent, il faut les identifier (quelle est la protéine ?). On va reextraire de l’épithélium de TIPMP, on va le micro disséquer, on va purifier nos échantillons. Il y a plein de techniques de purification. A chaque fois il faut vérifier qu’on a toujours notre protéine d’intérêt et on essaye d’avancer pour que l’échantillon soit le plus pur possible. Apres on va identifier les protéines. Soit on prend notre échantillon avec notre protéine, on fait « digérer » par de la trypsine et une fois avec notre digest on le repasse dans un spectromètre de masse relie a une banque de données. Soit on prend notre échantillon où il y a la protéine qui nous intéresse, on la repasse dans le spectromètre, on la « casse » en plusieurs petits morceaux dans des chambres de collision et en fonction de ce que l’on récupère, l’analyse des micros fragments (en fonction de la ou ca a été coupes) nous permet d’essayer d’identifier notre protéine d’intérêt.

Ensuite il y a toujours des phases de validation (western blot, analyse immunohistochimique sur tissu micro-array [association de plein de tissus, on fait plein d’anticorps dessus pour valider la protéine]

DIAPO : Si on reprend notre TIPMP après on peut essayer de retrouver la protéine d’intérêt sur des ponctions de liquide de TIPMP.

C’est ce qu’on a fait. Ici, on voit des spectres obtenu après analyse de plusieurs cas (soit de TIPMP de haut grade ou de bas grade), on observe des différences d’expression

Au final on arrive a trouver des pics qui sont exprimes de manière différentiel soit dans de la dysplasie de haut grade soit dans de la dysplasie de bas grade et en fonction de cela, on sait qu’on aura des masses protéiques différentes. Apres il faut identifier a quoi ca correspond. Mais ce n’est jamais la masse exacte de la protéine, on a que un bout de la protéine. Donc tres difficile d’aller identifier la protéine.

Apres avoir cassé et purifier les petits fragments, on identifie a quoi elles correspondent grâce aux banques de données.

Et après il faut valider ce que l’on trouve. On va utiliser un anticorps contre la protéine trouvée et on va le tester sur plein de bout de TIPMP qu’on a mis dans des tissus micros array (plaque ou il y a plein de bouts de TIPMP, on passe l’anticorps dessus et on regarde si c’est exprimée et si c’est exprimée en fonction du haut ou bas grade). Ici pour l’anticorps antiubiquitine, c’était surexprimé dans le haut grade.

On va valider ce résultat sur le liquide au sein des kystes des TIPMP. C’est également surexprimé. Ca va devenir un marqueur.

DIAPO : Il y a d’autres protéines comme le fragment de la thymosine beta 4. On voit des coupes et ce qui est entoure en vert c’est un canal pancréatique en dysplasie de bas grade. Ce qui est entoure en rose c’est l’épithélium en dysplasie de haut grade. Je peux demander a l’ordinateur de mon spectromètre de masse de m’afficher une certaine masse (ici 4747 Da), il va afficher tout les bout de protéines qui ont cette masse sur la coupe qu’on a analysé. Ici la majorité de cette masse protéique apparait dans le cercle rose, pour dire que c’est hautement spécifique de la dysplasie de haut grade. On s’affranchit de la partie du stroma et de la dysplasie de bas grade car elle n’est pas exprimée.

On a également valide ce résultat sur des tissus micros array. On voit que ca s’exprime tres fortement au niveau cytoplasmique et même nucléaire de la dysplasie de haut grade.

L’ubiquitine est une sorte de régulation de ce qui se passe dans la cellule. S’il y a un dérèglement de ce système, il peut y avoir une accumulation de certaines protéines que l’on aimerait voir disparaitre (notamment les pros oncogènes), ce qui peut favoriser de tumeurs.

Parallèlement la thymosine beta4 joue un rôle sur le cytosquelette et donc de la mobilité cellulaire. Donc en fonction de mutations, de l’absence ou non de thymosine beta 4, il peut y avoir des fonctions tres larges comme la réparation tissulaire, des actions anti inflammatoires pro angiogenistes. On a vu que dans certains cancers, ca favorise la mobilité des cellules cancéreuses et donc leur prolifération.

Les problèmes, c’est que l’on a tres peu d’outils pour savoir si il y a des lésions précancéreuses, si l’inflammation et déjà arrive a un stade précancéreux

Ce qu’il faut retenir : Au niveau pancréatique, l’inflammation (qui peut provenir de différents facteurs toxiques environnementaux génétiques) va avoir comme action l’apparition d’une fibrose. Cette fibrose et cette inflammation vont induire dans un premier temps la métaplasie ducto acinaire, la formation de lésions précancéreuses et au final le cancer.

On pense que tres vraisemblablement c’est la cellule acinaire transformée et non une cellule canalaire qui est à l’ origine du cancer du pancréas (c’est tres débattu)

Les cellules étoilées vont jouer là dessus. Ces cellules ont un rôle majeur sur l’inflammation mais aussi sur la fibrose, l’apparition des lésions précancéreuses et également quand le cancer est installe et sur tout les phénomènes hypoxiques qui sont liés à l’inflammation, à la fibrose et au cancer.