

La greffe d'îlots pancréatiques en intramusculaire : de l'animal à la clinique

Intramuscular islet autotransplantation: pig to man

A Sterkers [1], F Pattou [2]

1. CHRU, Chirurgie générale et endocrinienne ; Univ Lille 2 / INSERM, Thérapie cellulaire du diabète

2. CHRU, Chirurgie générale et endocrinienne ; Univ Lille 2 / INSERM, Thérapie cellulaire du diabète

Mots clés

- ◆ Greffe d'îlots
- ◆ Modèle de transplantation porcine
- ◆ Îlots pancréatique, translation clinique
- ◆ Pancréatectomie
- ◆ Revascularisation
- ◆ Sécrétion d'insuline
- ◆ Muscle
- ◆ Implantation
- ◆ Greffe autologue

Résumé

Chez les patients diabétiques de type 1, l'allogreffe intraportale d'îlots permet la restauration d'une insulinosécrétion endogène et la normalisation prolongée de l'équilibre glycémique. Lors d'une pancréatectomie totale ou subtotalaire, l'autogreffe intraportale des îlots permet d'éviter le diabète en restaurant une insulinosécrétion endogène. Un autre site de greffe, autorisant la surveillance et l'exérèse éventuelle du greffon, semble cependant indispensable pour envisager l'application de cette stratégie aux lésions tumorales comme la TIPMP ou chez les patients à risque de thrombose porte. Depuis le milieu des années 2000, plusieurs équipes tentent de développer un site alternatif pour l'implantation des îlots. Le muscle offre dans ce contexte de nombreux avantages liés à son simple accès à la greffe et à l'imagerie. Depuis la première tentative en 1980 décrite par Axen chez le rongeur, puis le premier succès clinique par Rafael en 2008, les cas cliniques de greffe intramusculaire se sont étoffés confirmant la faisabilité de la technique. Nous retranscrivons dans cet article, l'état actuel des connaissances sur la greffe intramusculaire d'îlots pancréatiques afin de positionner ce nouveau traitement dans le cadre de la chirurgie pancréatique.

Keywords

- ◆ Islet transplantation
- ◆ Pig model transplantation,
- ◆ Pancreatic islets
- ◆ Preclinical studies
- ◆ Pancreatectomy
- ◆ Revascularization
- ◆ Insulin secretion
- ◆ Muscle
- ◆ Engraftment
- ◆ Autologous transplantation

Abstract

Intraportal islet transplantation can restore glycemic stability in subjects with type 1 diabetes. The morbidity and mortality of a pancreatic state affecting patients after total or subtotal pancreatectomy continues to be a concern. In those indications, the liver appears however to have several drawbacks. Therefore, there is a great interest in determining an alternative site for islets transplantation. Intramuscular islet transplantation (IMIT) offers attractive prospects for its simplicity and an easier access to the graft for non invasive imaging techniques and/or cell removal. Since the first success in a child by Rafael and al., many cases reports confirm the feasibility of this technique. Herein, we try to evaluate the place of IMIT in the field of pancreatic surgery.

Greffe d'îlots

Chez les patients diabétiques de type 1, l'allogreffe intraportale d'îlots permet la restauration d'une insulinosécrétion endogène et la normalisation prolongée de l'équilibre glycémique (1). L'utilisation de protocoles d'immunosuppression dépourvus de corticoïdes a permis une amélioration spectaculaire de ses résultats cliniques, aujourd'hui confirmée par plusieurs équipes dans le monde, dont celle de Lille (2). La greffe intraportale d'îlots permet, dans les centres les plus expérimentés, d'obtenir des résultats identiques à court

terme à ceux de la greffe de pancréas (80 % d'insulino-indépendance à un an). Chez ces patients, la restauration de l'insulinosécrétion permet de normaliser l'hémoglobine glycosylée et d'obtenir un meilleur équilibre glycémique qu'avec l'insulinothérapie intensive, même par infusion continue intrapéritonéale (3). Au total, 27 patients ont déjà pu bénéficier de cette thérapie à Lille depuis 2003 dans le cadre de trois essais thérapeutiques. L'évaluation à long terme des résultats du premier essai (2) ont montré l'influence primordiale de la fonction primaire du greffon sur les résultats au long cours même en situation allogénique.

Correspondance :

Pr François Pattou PUPH, Department of General and Endocrine surgery
Hopital HURIEZ - CHRU de Lille, Rue Michel Polonovski, F - 59037 LILLE Cedex, FRANCE
E-mail : fpattou@univ-lille2.fr

Conséquences métaboliques de la résection pancréatique

Parallèlement aux sujets diabétiques de type 1, le traitement de nombreuses pathologies pancréatiques requiert une résection étendue, voire totale du pancréas. Ces interventions comportent malheureusement un risque élevé de diabète postopératoire. Toute résection même partielle du parenchyme pancréatique réduit en effet de façon irréversible la masse de cellules beta fonctionnelle. Au cours d'une étude longitudinale chez des patients atteints de tumeurs pancréatiques bénignes, Menge et al. ont récemment montré que la résection de 50 % du pancréas entraînait une diminution de moitié de la sécrétion d'insuline, associée à une détérioration de la glycémie à jeun et postprandiale (4, 5). Même en l'absence de pathologie pancréatique préexistante, seuls 40 % des donneurs ayant subi une hémipancréatectomie en vue d'une allogreffe intrafamiliale gardent un métabolisme glucidique normal ; 40 % d'entre eux développent une intolérance au glucose et 20 % un diabète. Ce risque est encore nettement accru en cas de surpoids (6, 7). Lorsqu'elle est nécessaire, la résection étendue, voire totale, du pancréas s'accompagne inexorablement d'un diabète très difficile à équilibrer en raison de l'absence de mécanismes de contre-régulation d'une part, de la malabsorption d'autre part (4, 5), et dont la sévérité est au moins équivalente à celle du diabète de type 1 (4, 8).

Isolement d'îlots à partir de pancréas pathologiques

L'isolement des îlots à partir de pancréas pathologiques reste généralement possible même si son rendement est souvent limité. À l'inverse, les conditions de prélèvement du pancréas (donneur vivant) permettent d'obtenir une qualité d'îlots supérieure à celle obtenue à partir de donneurs en état de mort cérébrale (9). Au cours de l'année 2009 et 2010, nous avons confirmé la faisabilité de l'isolement d'îlots provenant de quatre patients atteints d'insulinome ou de TIPMP et opérés. La technique habituelle d'isolement nous a permis d'obtenir un nombre adéquat d'îlots équivalents (IE), respectivement d'environ 100 000 IE. Les tests fonctionnels et de viabilité *in vitro* (insuline intracellulaire, insuline sécrétée, viabilité cellulaire) étaient comparables aux préparations greffées en intrahépatique au CHRU de Lille. Une partie des îlots a également été greffée sous la capsule rénale de souris nude selon la méthode QIVIPA (10). Plus d'un mois après la greffe, un dosage de C peptide humain a confirmé la bonne fonction des greffons.

Autogreffe d'îlots

Pour des raisons anatomiques, le segment de parenchyme réséqué au cours d'une pancréatectomie contient le plus souvent un contingent de tissu non pathologique. En cas de maladies pancréatiques bénignes et non génétiquement déterminées (pancréatite chronique, lésions canalaire, tumeurs neuroendocrines ou kystiques), l'isolement des îlots endocrines sains (quelques millilitres de tissu seulement) à partir de la pièce opératoire, suivi de leur autotransplantation constitue une stratégie séduisante. Cette greffe autologue, généralement réalisée par voie intraportale qui ne nécessite aucune immunosuppression, limite les conséquences délétères de la pancréatectomie en optimisant le contrôle glycémique (11, 12). L'infusion des îlots dans la veine porte comporte cependant un risque non négligeable de thrombose. Elle impose donc un traitement anticoagulant à dose élevée qui augmente significativement le risque hémorragique déjà élevé de la

chirurgie pancréatique. En pratique, cette technique n'est donc que très rarement proposée, même chez les patients devant bénéficier d'une pancréatectomie étendue. Cette indication restant cantonnée aux patients atteints de pancréatite chronique calcifiante. Chez ces patients, une pancréatectomie totale est en effet parfois proposée en cas de douleurs pancréatiques invalidantes. L'autogreffe intraportale d'îlots permet dans ce cas d'obtenir une insulino-indépendance à long terme chez la majorité des patients (13). L'absence de maladie auto-immune et de rejet allogénique permettent en outre de s'affranchir des contraintes de l'immunosuppression au long cours. À ce jour, environ 300 autogreffes ont été rapportées par les centres disposant d'un plateau technique permettant de pratiquer l'isolement et la transplantation d'îlots de Langerhans. Un patient a bénéficié à Lille d'une stratégie similaire au décours d'un traumatisme pancréatique par arme à feu (Pattou communication personnelle). Plus récemment, un second patient a bénéficié d'une autogreffe d'îlots au décours d'un traumatisme pancréatique. Chez ce patient, la présence de lésions traumatiques hépatiques empêchait le traitement anticoagulant à dose élevée après l'infusion intraportale. La greffe a donc été réalisée en intramusculaire (14).

Greffe intramusculaire

Plusieurs travaux ont montré que le site intrahépatique n'était pas optimal pour la fonction des îlots (15-18). Parmi les différentes alternatives envisageables, le site intramusculaire semble particulièrement attractif. Son intérêt est suggéré par les résultats positifs à long terme obtenus après l'autotransplantation de glandes parathyroïdes dans le muscle brachioradial (19). L'implantation de cellules parathyroïdiennes au niveau de ce site intramusculaire permet le suivi (20) et l'explantation de la totalité du greffon en cas de récurrence (21, 22). Ce site a déjà été envisagé pour la greffe d'îlots, et son important potentiel angiogénique a été récemment confirmé. Chez la souris, la densité des vaisseaux et le flux sanguin des îlots transplantés dans le muscle sont comparables à ceux du pancréas intact et supérieur au site intrahépatique (23). Cette différence nette en termes d'angiogénèse semble liée à la capacité de l'endothélium musculaire à proliférer pendant l'activité musculaire (24). D'autre part, l'étirement mécanique et l'augmentation de la tension au niveau de la paroi des vaisseaux pendant l'exercice contribuent aussi à augmenter le flux capillaire (25).

La faisabilité de la greffe intramusculaire d'îlots a été rapportée pour la première fois en 1978 par l'équipe de Hardy, traitant ainsi des rats Lewis rendus diabétiques après injection de streptozotocine (26). Des résultats similaires ont été rapportés dans des modèles syngéniques de souris (27, 28) et, récemment, chez l'enfant (29). Néanmoins, ces résultats ont été peu reproduits chez l'Homme et chez le grand Mammifère (30, 31). Notre équipe a débuté l'exploration de sites de greffe alternatifs au site intrahépatique classique (32), dans le cadre d'un projet collaboratif européen (FP7 - Betacell Therapy). Une étude pré clinique nous a permis de mettre au point chez le miniporc une technique de greffe d'îlots non invasive par injection sous l'aponévrose musculaire de la cuisse. Après pancréatectomie partielle les îlots étaient isolés puis autogreffés dans le muscle gracil au cours de la même journée. La survie et la revascularisation des îlots ont été confirmées par immunohistochimie. Leur fonction *in vivo* a été évaluée après totalisation de la pancréatectomie (33). Fort de ces résultats encourageants, une première patiente a pu bénéficier de cette technique dans le cadre d'une greffe compassionnelle, pour le traitement d'un insulinome. La localisation juxta canalaire de la tumeur imposant la réalisation d'une large pancréatectomie isthmocorporéocaudale, le parenchyme sain a été adressé au laboratoire en vue de l'isolement et mise en culture des îlots. Après confirmation de l'ab-

sence de réponse significative insulinaire après injection de glucose, 48 h après la pancréatectomie, les îlots ont été retransplantés dans le muscle brachioradial gauche, selon la technique mise au point au cours de nos études précliniques. Un an plus tard, la patiente conserve une HbA1c normale, des glycémies à jeun et post prandiale normales ainsi qu'une glycémie normale 2 heures après un test d'hyperglycémie provoqué par voie orale, en l'absence de tout traitement insulinaire ou d'antidiabétiques oraux. La fonction des îlots greffés a été confirmée par la mesure simultanée du taux d'insuline dans les deux bras après stimulation par l'arginine. Les résultats que nous avons obtenus confirment la sécrétion ectopique d'insuline dans le muscle ainsi que la visualisation, pour la première fois, des cellules bêta normales *in vivo* par la réalisation d'une scintigraphie à l'aide d'analogues marqués des Récepteur du GLP-1 (34).

Ces résultats ont été récemment confirmés par les résultats de quatre autres patients pris en charge dans notre service ou dans les CHRU d'Amiens (Pr Desailoud) ou de Rouen (Pr Scotte) ayant bénéficié de la même technique après une pancréatectomie corporeocaudale (Sterkers, communication personnelle).

Conclusion

Une résection étendue du pancréas s'accompagne d'un diabète difficile à équilibrer. L'autogreffe d'îlots permet dans ce cas de restaurer une insulinosécrétion endogène. Néanmoins, la difficulté d'accès du site intrahépatique limite les indications d'autogreffe. La faisabilité de la greffe intramusculaire d'îlots pancréatiques, plus accessible au suivi et à l'explantation du greffon, est maintenant démontrée en préclinique et lors de publication de plusieurs cas cliniques. Son efficacité et son innocuité doivent être maintenant confirmées par une étude prospective de phase II.

Les auteurs n'ont pas d'implication commerciale qui peut induire un conflit d'intérêt en lien avec la soumission de cet article.

Discussion en séance

Questions de J Baulieux

1. Le modèle expérimental proposé ne risque-t-il pas d'exposer à un défaut de croissance des îlots par un phénomène potentiel de *bio-feed-back* ?

2. Le risque de bons résultats obtenus avec cette méthode de greffe des îlots pancréatiques ne risque-t-il pas d'exposer à des excès dans les exérèses pancréatiques ?

Réponses

1. Aucune donnée de la littérature ne laisse supposée qu'un pancréas résiduel influence de manière négative l'implantation des îlots pancréatiques. À l'inverse, Bensalem et al. ont récemment démontré qu'une hyperglycémie sérique pouvait induire une hypoxie des cellules beta (Bensellam M PloS One 2012), laissant suggérer un effet préjudiciable de la pancréatectomie totale d'emblée dans ce modèle de greffe autologue. Par ailleurs, quatre miniporcs ont été d'emblée totalement pancréatectomisés sans qu'une différence significative de fonction du greffon ne soit observée avec les sept animaux hemipancreatectomisés secondairement totalisés.

2. La technique est encore trop jeune pour modifier les pratiques. À notre sens, les indications de pancréatectomie doivent pour l'instant rester identiques. Cette technique a pour but d'épargner le tissu endocrinien sain. En cas de bons résultats confirmés au cours de prochaines études de phase II, ce posera alors la question de l'étendu de résection de pancréatectomie.

Références

- Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 1318-30.
- Vantyghem MC, Kerr-Conte J, Arnalsteen L, Sergent G, Defrance F, et al. Primary graft function, metabolic control, and graft survival after islet transplantation. *Diabetes Care* 2009 ; 32 : 1473-8.
- Vantyghem MC, Marcelli-Tourvieille S, Fermon C, Duhamel A, Raverdy V, et al. Intraperitoneal insulin infusion versus islet transplantation: comparative study in patients with type 1 diabetes. *Transplantation* 2009 ; 87 : 66-71.
- Slezak LA, Andersen DK. Pancreatic resection: effects on glucose metabolism. *World J Surg* 2001 ; 25 : 452-60.
- Menge BA, Schrader H, Breuer TG, Dabrowski Y, Uhl W, et al. Metabolic consequences of a 50% partial pancreatectomy in humans. *Diabetologia* 2009 ; 52 : 306-17.
- Robertson RP, Lanz KJ, Sutherland DE, Seaquist ER. Relationship between diabetes and obesity 9 to 18 years after hemipancreatectomy and transplantation in donors and recipients. *Transplantation* 2002 ; 73 : 736-41.
- Kumar AF, Gruessner RW, Seaquist ER. Risk of glucose intolerance and diabetes in hemipancreatectomized donors selected for normal preoperative glucose metabolism. *Diabetes Care* 2002 ; 31 : 1639-43.
- Kalil AN, Lichtenfels E, Fornari A, Rhoden E, Giovenardi R. Management of cystic neoplasms of the pancreas. *Hepatogastroenterology* 2002 ; 49 : 1432-5.
- Matsumoto S, Tanaka K. Pancreatic islet cell transplantation using non-heart-beating donors (NHBDS). *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005 ; 12 : 227-30.
- Caiazzo R, Gmyr V, Kremer B, Hubert T, Soudan B, et al. Quantitative *in vivo* islet potency assay in normoglycemic nude mice correlates with primary graft function after clinical transplantation. *Transplantation* 2008 ; 86 : 360-3.
- Jindal RM, Ricordi C, Shriver CD. Autologous pancreatic islet transplantation for severe trauma. *N Engl J Med* 2010 ; 362 : 1550.
- Berney T, Mathe Z, Bucher P, Demuylder-Mischler S, Andres A, et al. Islet autotransplantation for the prevention of surgical diabetes after extended pancreatectomy for the resection of benign tumors of the pancreas. *Transplant Proc* 2004 ; 36 : 1123-4.
- Blondet JJ, Carlson AM, Kobayashi T, Jie T, Bellin M, et al. The role of total pancreatectomy and islet autotransplantation for chronic pancreatitis. *Surg Clin North Am* 2007 ; 87 : 1477-501.
- Dardenne S, Sterkers A, Leroy C, Da Mata L, Zerbib P, et al. Laparoscopic spleen-preserving distal pancreatectomy followed by intramuscular autologous islet transplantation for traumatic pancreatic transection in a young adult. *JOP* 2012 ; 13 : 285-8.
- Lau J, Mattsson G, Carlsson C, Nyqvist D, Kohler M, et al. Implantation site-dependent dysfunction of transplanted pancreatic islets. *Diabetes* 2007 ; 56 : 1544-550.
- Lau J, Kampf C, Mattsson G, Nyqvist D, Kohler M, et al. Beneficial role of pancreatic microenvironment for angiogenesis in transplanted pancreatic islets. *Cell Transplant* 2009 ; 18 : 23-30.
- Moberg L, Johansson H, Lukinius A, Berne C, Foss A, et al. Production of tissue factor by pancreatic islet cells as a trigger of detrimental thrombotic reactions in clinical islet transplantation. *Lancet* 2002 ; 360 : 2039-45.
- Poitout V, Briaud I, Kelpke C, Hagman D. Gluco-lipototoxicity of the pancreatic beta cell. *Ann Endocrinol (Paris)* 2004 ; 65 : 37-41.
- Tominaga Y, Uchida K, Haba T, Katayama A, Sato T, et al. More than 1,000 cases of total parathyroidectomy with forearm autograft for renal hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis* 2001 ; 38 : S168-71.
- Schlosser K, Sitter H, Rothmund M, Zielke A. Assessing the site of recurrence in patients with secondary hyperparathyroidism by a simplified Casanova autograftectomy test. *World J Surg* 2004 ; 28 : 583-8.
- Matsuoka S, Tominaga Y, Sato T, Uno N, Goto N, et al. QuicK-IntraOperative Bio-Intact PTH assay at parathyroidectomy for secondary hyperparathyroidism. *World J Surg* 2007 ; 31 : 824-31.
- Matsuoka S, Tominaga Y, Sato T, Uno N, Goto N, et al. Recurrent renal hyperparathyroidism caused by parathyromatosis. *World J Surg* 2007 ; 31 : 299-305.
- Christoffersson G, Henriksnas J, Johansson L, Rolny C, Ahlstrom H, et al. Clinical and experimental pancreatic islet transplantation to striated muscle: establishment of a vascular system similar to that in native islets. *Diabetes* 2010 ; 59 : 2569-78.
- Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with

- exercise training? *J Appl Physiol* 2004 ; 97 :1119-28.
25. Brown MD, Hudlicka O. Modulation of physiological angiogenesis in skeletal muscle by mechanical forces: involvement of VEGF and metalloproteinases. *Angiogenesis* 2003 ; 6 : 1-14.
 26. Weber CJ, Hardy MA, Pi-Sunyer F, Zimmerman E, Reemtsma K. Tissue culture preservation and intramuscular transplantation of pancreatic islets. *Surgery* 1978 ; 84 : 166-74.
 27. Axen KV, Pi-Sunyer FX. Long-term reversal of streptozotocin-induced diabetes in rats by intramuscular islet implantation. *Transplantation* 1981 ; 31 : 439-41.
 28. Juang JH, Hsu BR, Kuo CH. Islet transplantation at subcutaneous and intramuscular sites. *Transplant Proc* 2005 ; 37 : 3479-81.
 29. Rafael E, Tibell A, Ryden M, Lundgren T, Savendahl L, et al. Intramuscular autotransplantation of pancreatic islets in a 7-year-old child: a 2-year follow-up. *Am J Transplant* 2008 ; 8 : 458-62.
 30. al-Abdullah IH, Anil Kumar MS, Kelly-Sullivan D, Abouna GM. Site for unpurified islet transplantation is an important parameter for determination of the outcome of graft survival and function. *Cell Transplant* 1995 ; 4 : 297.
 31. Stegall MD, Lafferty KJ, Kam I, Gill RG. Evidence of recurrent autoimmunity in human allogeneic islet transplantation. *Transplantation* 1996 ; 61 : 1272.
 32. Caiazzo R, Gmyr V, Hubert T, Delalleau N, Lamberts R, et al. Evaluation of alternative sites for islet transplantation in the minipig: interest and limits of the gastric submucosa. *Transplant Proc* 2007 ; 39 : 2620-3.
 33. Sterkers A, Hubert T, Gmyr V, Torres F, Baud G, et al. Islet survival and function following intramuscular autotransplantation in the minipig. *AJT* (in press).
 34. Pattou F, Kerr-Conte J, Wild D. GLP-1-receptor scanning for imaging of human beta cells transplanted in muscle. *N Engl J Med* 2010 ; 363 : 1289-90.