

2.5. Régénération corticosurrénaliennent et cellules souches surréналиennes

La régénération possible corticosurrénaliennent suggère l'existence de cellules apparentées à des cellules souches dans le compartiment externe de la surrénale.

Le cortex surrénalien est organisé en lignées radiales de cellules s'étendant de la zone glomérulée à la zone fasciculée. Le cortex surrénalien adulte subit un renouvellement continu: les cellules souches situées près de la jonction entre la zone glomérulée et la zone fasciculée donne naissance à des cellules filles qui migrent de manière centripète puis subissent une apoptose (Bielinska *et al.*, 2003).

Le fait que le cortex définitif soit capable de proliférer et des observations de renouvellement cellulaire centripète au sein même du cortex sont en faveur d'un modèle de repopulation centripète corticosurrénaliennent et suggèrent la possible existence de cellules apparentées à des cellules souches dans le compartiment externe de la glande (Mesiano et Jaffe, 1997 ; Kima et Hammer, 2007). En effet, il est intéressant de remarquer que lors d'énucléation surrénalienne chez des souris, (expérience lors de laquelle on ne laisse que la capsule et les cellules sous capsulaires intactes, le reste étant retiré) le cortex rentre dans un processus dynamique de régénération et dans les huit jours suivant cette énucléation des foyers de nouvelles cellules se forment et prolifèrent à partir de la capsule pour s'étendre vers le centre de la glande. Cette régénération prend environ trente jours après lesquels la glande présenterait une apparence histologique normale, avec une zonation corticale propre et une fonction stéroïdogénique normale pour le cortex surrénalien. Cette expérience suggère que le maintien de la population cellulaire ne serait pas possible individuellement pour chaque zone surrénalienne (Kima et Hammer, 2007).

De même, des transplantations de cellules primaires issues de tissus corticosurrénaliens ont donné lieu à la formation d'un tissu corticosurrénaliennent normal chez l'animal hôte, le tissu résultant de ces transplantations présentant une architecture corticosurrénaliennent normale.

Ces études montreraient que le cortex surrénalien aurait la capacité de se régénérer et posséderait des cellules capables de le coloniser tout au long de la vie de l'organisme. Ces cellules seraient situées dans la zone externe du cortex (Kima et Hammer, 2007).

2.6. Origine de la population de cellules périphériques capables de régénérer la surrénale

Il existe trois hypothèses sur l'origine précise des cellules périphériques régénérant la surrénale (Kima et Hammer, 2007).

- La première hypothèse, soutient que chaque zone de la glande surrénale adulte maintiendrait sa propre population cellulaire via une prolifération cellulaire limitée à chaque zone distincte. Cette théorie est controversée en raison de la prédominance de mitoses et de proliférations cellulaires dans la région subcapsulaire mais aussi par le fait que la grande majorité des apoptoses surviennent au niveau de la limite entre la zone réticulée et la médulla (Kima et Hammer, 2007).

- La seconde hypothèse soutient que la population de cellules repeuplantes serait issue de la capsule mésenchymateuse. Le concept de cellules capsulaires similaires à des fibroblastes, assimilables à un ensemble de cellules indifférenciées repeuplant la glande est soutenu sur la base d'une série d'études cytologiques menées par Zwemer et ses collègues. Ces derniers ont mené une étude de traçage de lignées cellulaires en utilisant un traçage au bleu trypan (« trypan blue pulse chase paradigme ») pour suivre le renouvellement de lignées

de cellules corticosurréaliennes. Des cellules bleues ont été retrouvées dans la ZG après coloration exclusive de cellules capsulaires (Kima et Hammer, 2007).

De plus des études histologiques (Baker, 1952) ont placé l'origine des cellules corticosurréaliennes à proximité des colonnes cellulaires, des cellules émergeant de la capsule.

D'autres preuves histologiques (Bielinska *et al.*, 2003) indiquent que des cellules stéroïdogéniques Sf1 positives se différencieraient dans une zone d'hyperplasie de cellules fusiformes Sf1 négatives de la capsule pour s'étendre dans le parenchyme externe de la zone glomérulée (Beuschlein *et al.*, 2002). Enfin, une dernière observation corroborant cette hypothèse se situe lors de la prolifération du cortex surréalien induite par de l'ACTH, où des cellules prolifératrices marquées par immuno-histochimie PCNA sont observées dans la capsule puis repeuplent de façon centripète la glande (Kima et Hammer, 2007).

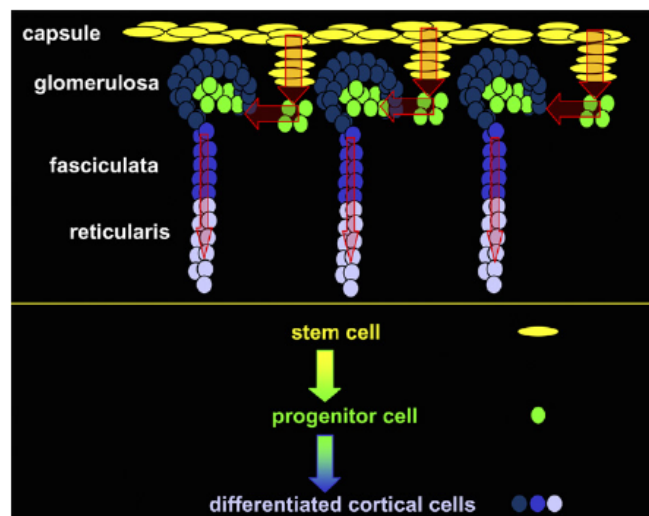
- La troisième hypothèse, compatible avec la seconde, maintient que les cellules indifférenciées sous-capsulaires donnent naissance au reste du cortex surréalien. En plus du fait de constater une prédominance des mitoses au niveau de la région subcapsulaire, des expériences de suivi pulsé, impliquant de la thymidine radioactive ou BrdU ont révélé une prédominance de marquage des cellules subcapsulaires. Il a été constaté que ces cellules étaient de plus en plus centripètes et exclusivement dans la zone interne du cortex. De plus récentes études par marquage moléculaire sont en faveur d'un processus de repopulation centripète (Kima et Hammer, 2007).

Toutes ces données soutiennent un modèle selon lequel les cellules indifférenciées périphériques se différencient en cellules de la zone glomérulée suivies par une différenciation successive en cellules fasciculées et réticulées avant de "mourir" au niveau de la limite corticomédullaire (voir Figure 33).

Figure 30 : Modèle hypothétique de migration et différenciation des cellules corticosurréaliennes

Ce modèle propose une migration centripète de cellules souches et germinales et leur différenciation en cellules corticosurréaliennes compétentes pour la stéroïdogénèse

Tiré de: Kima et Hammer, 2007



2.7. Existence de cellules indifférenciées sous-capsulaire maintenues dans un état indifférencié

Il existe des cellules indifférenciées sous-capsulaires maintenues dans un état indifférencié (voir Figure 34). Il est tentant de penser que des cellules capables de repeupler les zones stéroïdogéniques corticosurréaliennes sont, à la base, indifférenciées et pluripotentes. La présence de telles cellules périphériques est bien documentée dans plusieurs espèces animales, chaque espèce ayant des particularités (Kima et Hammer, 2007).

Des chercheurs ont mis en évidence une population de cellules SF-1 positives situées entre la zone glomérulée et la zone fasciculée chez des rats, cette zone étant un lieu de réplifications cellulaires, les cellules migrant ensuite dans d'autres régions. Ils ont ainsi supposé que cette zone constituait un réservoir de cellules souches dans le cortex surréalien adulte de rats (Mitani *et al.*, 2003).

Une population de cellules sous-capsulaires Sf1 positives mais stéroïdogéniquement négatives est proposée par Kima et Hammer comme constituant les réservoirs de cellules mères.

Ces auteurs ont supposé que ces cellules Sf1 positives restent stéroïdogéniquement inactives sous l'inhibition de la transactivation de Sf1 par le récepteur nucléaire orphelin Dax 1 (Dosage sensitive sex-reversal, locus d'hypoplasie surréaliennne congénitale sur le gène 1 du chromosome X). La protéine Dax 1 fonctionnerait comme une protéine co-régulatrice pour inhiber l'activité transcriptionnelle des autres récepteurs nucléaires, comme Sf1. Il a aussi été reporté comme inhibant la transcription en se liant à l'ADN au niveau des régions « promoteur de gènes stéroïdogéniques » (StAR) (Kima et Hammer, 2007). Dax 1 participerait aussi à la « décision » du devenir de cellules à travers une régulation dynamique des facteurs de transcription Gata4/Gata6 au niveau des surrénales et des gonades (Tremblay et Viger, 2001 ; Jimenez *et al.*, 2003). Après stimulation du cortex surréalien, Dax-1 serait régulé négativement, peut être pour permettre l'expression de gènes stéroïdogéniques.

Dans de récentes études, il a été montré que Sf1 et Nr3c1 (récepteurs de glucocorticoïdes, GR) activaient de façon synergique le promoteur de Dax1 en réponse à une stimulation par des glucocorticoïdes, tandis que Sf1 et GR se dissociaient du promoteur de Dax1 en réponse à une stimulation par de l'ACTH (Kima et Hammer, 2007).

Il a donc été proposé une hypothèse selon laquelle *Dax 1* maintiendrait le statut indifférencié et la capacité proliférative des cellules souches sous-capsulaires corticosurréaliennne. Trois observations soutiennent cette hypothèse :

- L'expression de Dax 1 est restreinte à la région sous-capsulaire corticosurréaliennne chez les mâles;
- Dax1 inhibe la transcription des gènes stéroïdogéniques médiée par SF1 dans des cellules en culture ;
- Il a été récemment montré que Dax1 facilitait le maintien de l'état indifférencié des cellules souches embryonnaires.

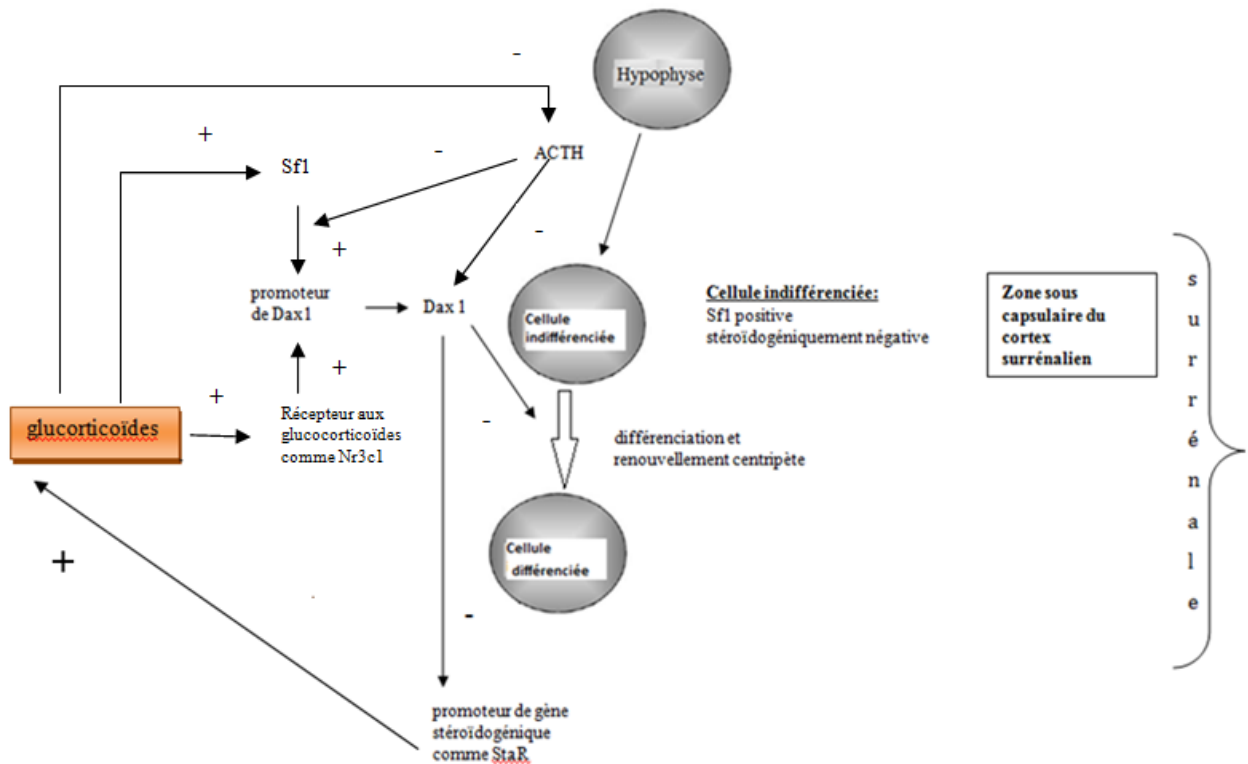
Comme il était connu que l'expression de Dax1 est observée au niveau des cortex différenciés de surrénales de femelles, Kima et Hammer ont émis l'hypothèse que Dax 1 pourrait avoir un rôle supplémentaire chez les femelles, comme le maintien de la zone X/zone fœtale (Kima et Hammer, 2007).

Pour ces différentes raisons, un modèle a été présenté, selon lequel des cellules sous-capsulaires seraient maintenues dans un état indifférencié par un rétrocontrôle endocrine intra-surréalien effectué par des glucocorticoïdes. Une stimulation par de l'ACTH résulterait en une inhibition de l'expression de Dax1, ce qui induirait la différenciation et un renouvellement centripète des cellules souches dans les compartiments du cortex surréalien

(Kima et Hammer, 2007). En effet, le travail de Kima et Hammer a montré que les souris déficientes en gène Dax 1 (Dax 1 null mice) produisaient une quantité augmentée de stéroïdes aux dépens d'une perte de prolifération cellulaire sous-capsulaire. Ces observations expliquent en partie la variabilité dans le temps des manifestations d'insuffisance surrénalienne chez les patients ayant une mutation de DAX1 (hypoplasie surrénalienne liée à l'X) (Kima et Hammer, 2007).

La Figure 34 ci-dessous schématise les mécanismes supposés de maintien de l'état indifférencié des cellules présentes au niveau sous-capsulaire du cortex surrénalien. On peut y voir que les glucocorticoïdes participent au maintien de l'état indifférencié de ces cellules sous-capsulaires tandis que l'ACTH induirait la différenciation et un renouvellement centripète des cellules souches dans les compartiments du cortex surrénalien.

Figure 31 : Schéma global résumant les mécanismes du maintien de l'état indifférencié des cellules indifférenciées présentes au niveau sous-capsulaire du cortex surrénalien



Kima et Hammer proposent le modèle suivant : le destin corticosurrénalien de la capsule serait réprimé par *Pod1/capsuline/tcf21* sous l'inhibition directe de Sf1. Lors de la présence d'un signal motogénique (qui stimule la capacité migratoire nonorientée) ou lors de signaux extrinsèques, la cellule capsulaire subirait une division asymétrique, ce qui aurait pour résultat la production d'une autre cellule capsulaire et une cellule souche sous-capsulaire. Ces cellules sous-capsulaires deviendraient Sf1 positives, mais seraient limitées dans leur activité stéroïdogénique à cause de l'expression de Dax1, Sf1 dépendante.

Ces cellules prolifèrent continuellement, comme cela a été mis en évidence par PCNA et BrDU, en maintenant l'homéostasie corticosurrénalienne. En réponse à l'ACTH, Dax1 est réprimé, les cellules migrent de façon centripète à partir de la zone subcapsulaire. Les cellules

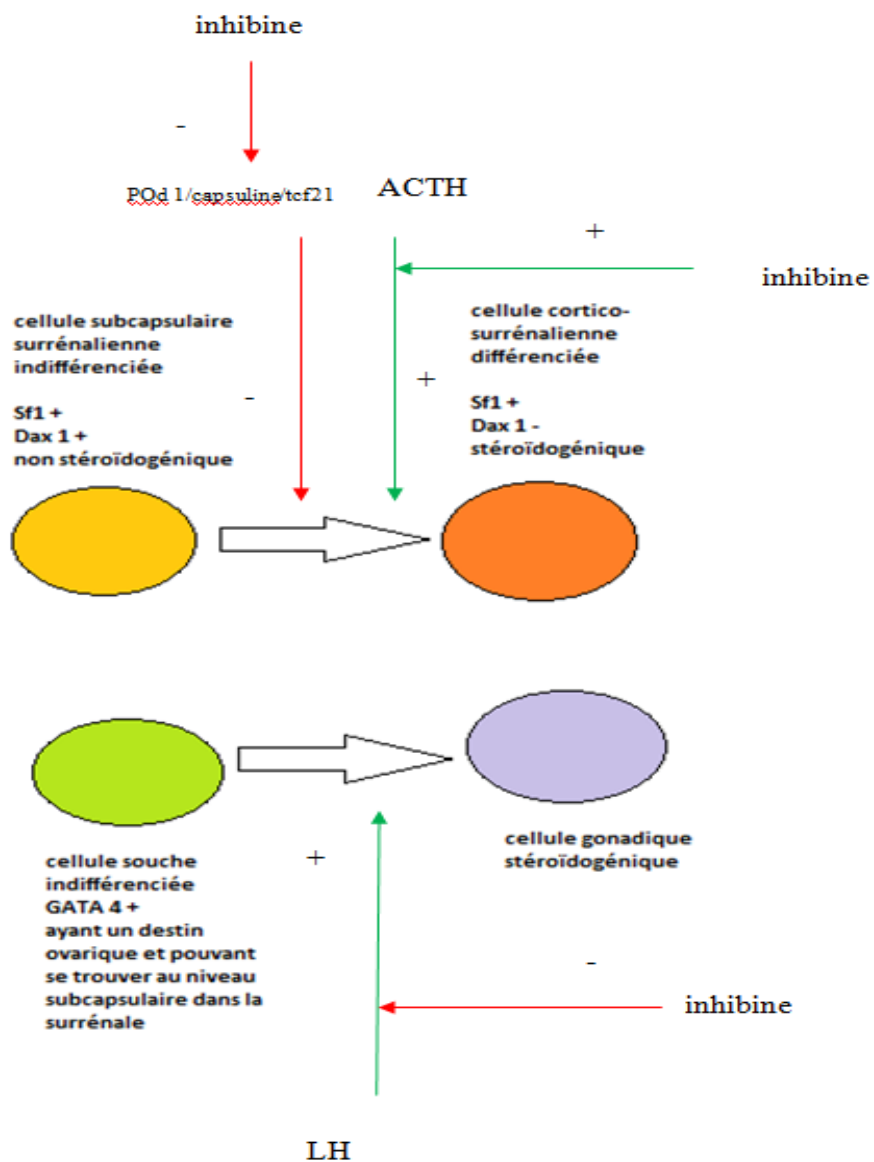
commencent à exprimer leur activité stéroïdogénique et fonctionnent comme des cellules corticosurréaliennes différenciées.

La spécificité de cette différenciation dans le cortex surréalien est en partie maintenue par les actions de l'inhibine qui inhibe l'expansion des cellules souches GATA 4 positives sensibles à LH ayant un destin ovarique. Ces évènements sont résumés dans la Figure 35.

Figure 32 : Évènements moléculaires contribuant au maintien de l'état indifférencié de cellules germinales corticosurréaliennes et rôle de l'inhibine

Les cellules germinales corticosurréaliennes sont SF1 positives et Dax 1 positives.
L'inhibine joue un rôle de gardien de la différenciation corticosurréaliennne spécifique

Selon Kima et Hammer, 2007



3. Différenciation de cellules germinales corticosurréaliennes sous-capsulaires pluripotentes en cellules produisant des corticoïdes ou en cellules semblables à des cellules gonadiques

Chez tous les mammifères, le cortex surréalien est un organe dynamique dans lequel les cellules stéroïdogéniques sont en constant renouvellement (Bielinska *et al.*, 2009).

Les cellules de chaque zone du cortex surréalien sont théoriquement issues du même lot de cellules souches/ germinales de la région sous-capsulaire. Ces cellules germinales se divisent et donnent naissance à des cellules souches qui se différencient, migrent de manière centripète, gagnent des zones avec des caractéristiques spécifiques et remplacent les cellules sénescents (voir Figure 36 et Figure 37) (Bielinska *et al.*, 2009 ; Kima et Hammer, 2007).

Il en résulte que le cortex surréalien est structuré en rangées radiales de cellules clonales qui s'étendent de la zone glomérulée à la zone réticulée (Bielinska *et al.*, 2009 ; Morley *et al.*, 1996). Ce modèle de migration cellulaire est soutenu par des preuves expérimentales bien qu'il existe des théories alternatives, comme l'existence de cellules souches indifférenciées se situant dans chaque zone, ayant été proposées pour expliquer le constant renouvellement et la spécification zonale du cortex surréalien (Bielinska *et al.*, 2009 ; Kempna et Fluck, 2008)

Les hormones endocrines et les facteurs paracrines traditionnellement associés avec la fonction des cellules gonadiques stéroïdogéniques, comme l'hormone lutéinisante (LH) et des membres de la super-famille des « transforming growth factor β » (TGF β) (comme le TGF β , l'activine, l'inhibine) interviennent aussi dans la différenciation, la prolifération et la fonction des cellules du cortex surréalien, aussi bien dans les stades physiologiques que patho-physiologiques (Bielinska *et al.*, 2009 ; Beuschlein *et al.*, 2003 ; Beuschlein *et al.*, 2004)

Les caractéristiques moléculaires des cellules souches subcapsulaires quiescentes restent inconnues à ce jour. Cependant, des marqueurs de différenciation caractéristiques ont été identifiés (Bielinska *et al.*, 2009 ; Bielinska *et al.*, 2006 ; Kempna et Fluck, 2008).

Figure 33 : Schéma de différenciation de cellules germinales corticosurréaliennes sous-capsulaires pluripotentes en cellules produisant des corticoïdes ou en cellules semblables à des cellules gonadiques

Légende :

ACTH= hormone adrénocorticotrope

GDX= Gonadectomie

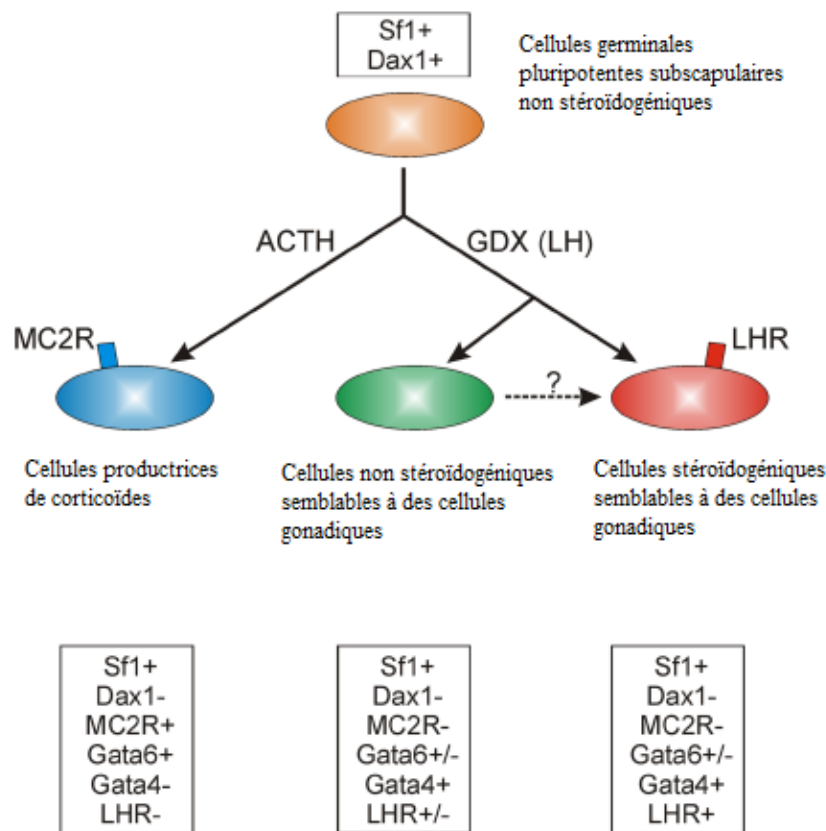
Lh= hormone lutéinisante

LHR= récepteur à LH

MC2R= récepteur 2 à la mélanocortine (récepteur à ACTH)

Sf1= facteur stéroïdogéniques 1

Tiré de : Bielinska et al., 2009



Les premières cellules germinales prolifératives expriment **SF1**, un facteur de transcription qui promeut la croissance cellulaire, limite l'apoptose, et active une large gamme de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse surrénalienne mais aussi gonadique (Bielinska et al., 2009).

3.1. La protéine Wt1

La protéine Wt1 (Wilm's tumor 1) est une protéine à doigt de zinc. Le gène *Wt1* a été identifié comme un gène suppresseur de tumeur, muté dans un nombre significatif de cas de tumeur de Wilm (Wilm's tumor). Son importance dans le développement du pont uro-génital a ensuite été mise en évidence par des études sur des souris. Les souris homozygotes pour un allèle déficient pour le gène *Wt1* ("null Wt1") mourraient en milieu de gestation, avec une aplasie des reins et des gonades. Il a donc été conclu que *Wt1* était crucial pour la

spécification des lignées cellulaires gonadiques et rénales. Le gène *Wt1* joue aussi un rôle dans le développement surrénalien, en effet des souris *Wt-1-knockout* avaient des surrénales plus petites que le type sauvage et montraient une expression réduite de CYP11A dans le primordium surrénalien. Ces études (menées par Moore et al., en 1999 et Vidal et Schedl en 2000) ont montré que *Wt1* était un des premiers gènes connus à intervenir dans le développement des lignées cellulaires constituant les reins, les gonades et les surrénales (Keegan et Hammer, 2002 ; Hammer *et al.*, 2005).

3.2. La protéine *Wnt4*

Les protéines *Wnt4* sont des glycoprotéines jouant un rôle important dans le développement de plusieurs structures embryonnaires. Elles agissent via la famille de récepteurs "frizzled" en initiant une cascade de signaux intra-cellulaires menant à une accumulation de β -caténine et une activation transcriptionnelle de gènes cibles. Le gène *Wnt4* est exprimé dans les tubules rénaux en développement et les souris déficientes pour le gène *Wnt4* ("Wnt-4-knockout") ont un développement rénal aberrant et meurent peu après leur naissance d'insuffisance rénale. Ces souris ont aussi un défaut non identifié au niveau des surrénales et les femelles XX sont masculinisées, avec une absence de conduit Müllérien et un développement continu des conduits de Wolf. Cette masculinisation serait le résultat d'une activation ectopique de la synthèse de testostérone causée par l'expression du gène codant pour la 17-hydroxylase (*Cyp17*) dans les gonades des femelles *Wnt-4-knockout*.

Le fait que le gène *Wnt-1* s'exprime normalement chez les souris mutantes au niveau de *Wnt-4* suggère que **l'expression de *Wt-1* précède celle de *Wnt-4* dans la cascade du développement, ou que ces deux molécules agissent en parallèle** (Vainio *et al.*, 1999). Un autre gène *Wnt* : *Wnt11*, est aussi exprimé dans le développement du cortex surrénalien, des reins et des gonades, chez l'Homme (Keegan et Hammer, 2002, Hammer *et al.*, 2005).

3.3. Le facteur stéroïdogénique 1

Plusieurs molécules sont très importantes dans le développement du primordium surrénalo-gonadique, en particulier deux facteurs de transcription: le facteur stéroïdogénique 1 (SF1) et DAX-1. La présence d'un précurseur embryonique commun (le primordium surrénalo-gonadique) a été démontré par immuno-histochimie traçant SF-1, ce qui a révélé une population unique de cellules SF-1 positives localisées au niveau du pont uro-génital. Ces cellules se différencient en deux populations distinctes de cellules qui deviennent les surrénales et le primordium gonadique.

Le facteur SF-1 a d'abord été identifié comme un facteur de transcription régulant l'expression de gènes à hydroxylases variés responsables de la production de stéroïdes. SF-1 est un membre de la superfamille des récepteurs aux stéroïdes. Il contient une protéine en doigts de zinc classique se liant à l'ADN. SF-1 est appelé un récepteur orphelin car il n'a pas de ligand connu.

En plus du cortex surrénalien et des gonades, *Sf1* est exprimé dans les cellules gonadotropes de l'hypophyse antérieure où il est important pour la spécification des lignages de cellules gonadotropes et au niveau du noyau ventro-médial de l'hypothalamus où il régulerait la satiété et la prise de nourriture (Keegan et Hammer, 2002, Schoemaker *et al.*, 2002 b). Les souris *Sf-1* null sont dépourvues de surrénales et de gonades (Keegan et Hammer, 2002). Le facteur SF-1 coopère avec GATA-4 dans l'activation transcriptionnelle de l'hormone anti-Müllérienne (AMH) (Tremblay et Viger, 2001).

3.4. Le facteur de transcription *Dax-1*

Le facteur DAX-1 est aussi un membre de la famille des récepteurs orphelins supposé se lier au promoteur de la protéine StAR et/ou fonctionner comme une protéine de liant à l'ARN.

Les souris déficientes pour le gène *Dax1* ("Dax-1 knockout") ne présentent pas d'insuffisance surrénalienne, mais la zone-X ne régresse pas et les mâles sont infertiles tandis que les femelles ont un développement gonadique normal et sont fertiles. De récentes études suggèrent que DAX-1 serait exprimé à un niveau plus élevé chez les femelles, un phénomène supposé être médié par les androgènes, qui peuvent inhiber la transcription de DAX-1. De plus, il a été montré que DAX-1 interagissait avec les récepteurs à androgènes et ceux à œstrogènes.

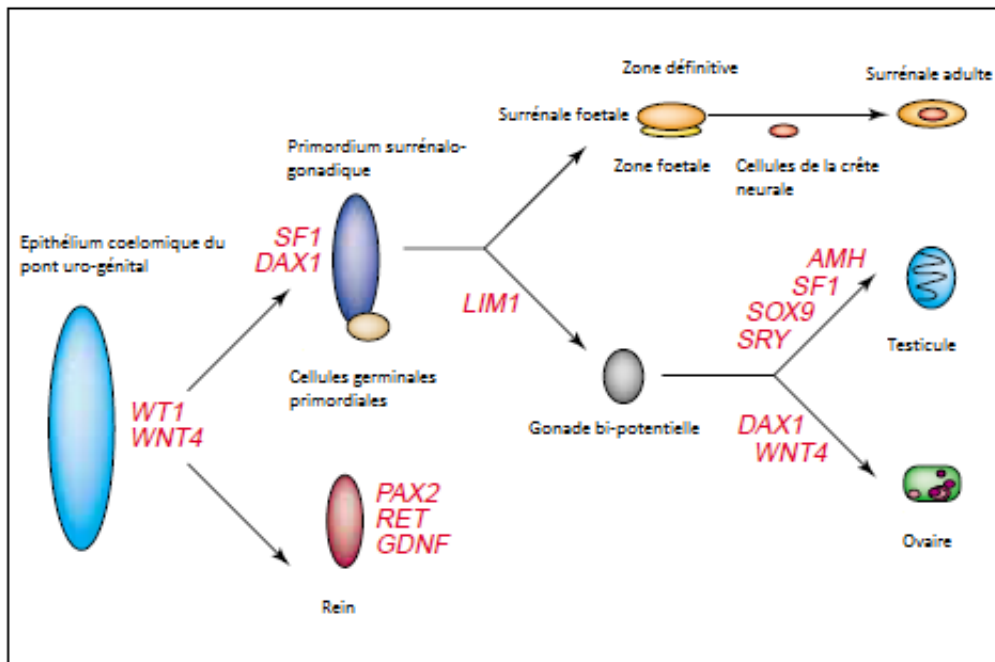
Il est possible que *SF-1* et *DAX-1* activent, en coopération, le développement spécifique aux surrénales. SF-1 peut se lier au promoteur de *Dax-1* et active la transcription du gène *Dax-1*. Cependant, des preuves s'accumuleraient en faveur du fait que *DAX-1* inhiberait la transcription médiée par *SF-1* dans les lignées cellulaires en culture dans les surrénales de souris adultes, probablement en recrutant des co-répresseurs au complexe transcriptionnel. L'expression de *Dax-1* est maintenue chez les animaux déficientes en *Sf-1* (*Sf-1* knockout) et l'expression de *Sf-1* est maintenue dans les surrénales de mâles adultes *Dax-1* knockout (Keegan et Hammer, 2002 ; Wood et Hammer, 2011).

La Figure 37 ci-dessous rassemble sur un schéma l'expression des différents éléments cités précédemment au cours du développement surréno-gonadique chez l'Homme, sensiblement identique à celui du furet.

Figure 34 : Le pont urogénital et le primordium surrénalo-gonadique chez l'Homme.

Le développement du pont uro-génital résulte en la formation des reins, des gonades et du cortex surrénalien. La spécification métanéphrique des reins et du primordium surrénalo-gonadique intervient en premier lieu. Après contact avec les cellules germinales primordiales, les surrénales fœtales et les gonades bi-potentielles se séparent. Les gonades bi-potentielles se différencient en testicules ou en ovaires tandis que les glandes surrénales continuent à se développer tout comme les cellules de la crête neurale qui deviendront finalement la médulla surrénalienne, qui migrent au centre de la glande. Le processus de zonation corticale est initié. L'importance de la régulation génétique à chaque étape est soulignée par le rouge

Selon: Keegan et Hammer, 2002



3.5. Spécificité de la différenciation des cellules sous-capsulaires surrénaliennes

L'origine partagée de la surrénale et des gonades, l'existence de cellules souches pluripotentes pour la lignée stéroïdogéniques dans ces deux tissus et la présence :

- d'une part, de restes surrénaliens contrôlés par de l'ACTH chez les patients humains présentant une hyperplasie surrénalienne congénitale non traitée évoluant sur le long terme,
 - d'autre part, d'une métaplasie thécale contrôlée par des hormones gonadotropes chez les femmes ménopausées sans traitement œstrogénique,
- prédisent l'existence d'un mécanisme permettant aux cellules souches de chaque tissu (gonadique et surrénalien) de se différencier sélectivement en réponse à la seule hormone peptidique appropriée et non une autre (FSH/LH versus ACTH) (Kima et Hammer, 2007).

L'existence de tumeurs surrénaliennes se développant chez des souris déficientes en *inhibine-α* ("null inhibin-α" ou « inhibine-α KO ») fournit une opportunité de tester cette hypothèse. Il a été montré que ces souris développaient un blastome corticosurrénalien (une

tumeur dérivée du tissu du blastème: amas de cellules provenant du mésoblaste, pas encore différenciées, à l'origine des cellules composant un organe ou une partie du corps) qui exprimerait uniquement Cyp19a1, Cyp17a1, et la Lhcgr, en réponse à une administration chronique de LH (Beuschlein *et al.*, 2003 ; Kima et Hammer, 2007).

De plus un travail récent a montré que LH et FSH stimulaient les cellules souches sous-capsulaires surrénaliennes indifférenciées, qui ne se développent normalement exclusivement que dans un tissu ovarique fonctionnel ou dans le cortex surrénalien, mais ceci seulement quand l'inhibine est absente (Looyenga et Hammer, 2006 ; Kima et Hammer, 2007).

Il semble que les cellules souches de cortex surrénalien des souris de type sauvage auraient, en fait, la capacité innée de répondre aux signaux de différenciation gonadique spécifique (FSH/LH), ce qui serait cohérent avec l'hypothèse d'une origine commune du cortex surrénalien et des gonades (Kima et Hammer, 2007). Plus spécifiquement, LH induirait l'expression de GATA 4, normalement restreint aux gonades, au niveau des cellules souches de la surrénale, qui perdraient concomitamment le GATA 6, normalement restreint à la surrénale. Ces deux modifications étant nécessaires mais non suffisantes pour mener les cellules souches surrénaliennes vers un destin de cellule ovarique.

Ce serait la perte de l'inhibine et par conséquent la non opposition à l'activation de Smad3, qui permettrait l'expansion de ces cellules GATA 4 positives et ainsi la mise en place d'un tissu ovarique dans le cortex surrénalien (Kima et Hammer, 2007).

La protéine Smad3 serait un médiateur intracellulaire du signal TGF β . Il est présent dans les cellules B et dans quelques cellules au niveau de la capsule, dans une étude de Bielinska. Dans cette étude, Smad3 n'a pas été détecté dans les cellules A (Bielinska *et al.*, 2005).

Il a été montré que chez les souris déficientes en *inhibine α* et en *Smad 3* (chez les souris *inhibin-null/Smad3-null*), les cellules GATA 4 positives résidant toujours dans la région des cellules souches subcapsulaires (en réponse à LH), il n'y avait pas d'expansion cellulaire. Ceci indiquerait l'importance de l'inhibine comme un gardien du destin surrénalien des cellules (Kima et Hammer, 2007).

3.6. Interactions moléculaires

Des études ont montré que *WT-1* et *SF-1* interagissaient physiquement pour activer, en synergie, le promoteur de l'*AMH*. *DAX-1* réprime cette activation en inhibant la voie spécifique mâle.

Les preuves selon lesquelles *SF-1* et *DAX-1* seraient intimement impliqués dans la voie de signalisation *WNT* seraient de plus en plus nombreuses, la β -caténine activant les programmes de transcription de *SF-1* dans les surrénales (Keegan et Hammer, 2002).

4. Processus tumoral dans la maladie surrénalienne

Comme nous le verrons par la suite, chez l'Homme, les cellules A et B sont des cellules néoplasiques corticosurrénaliennes. Les cellules B ressemblent à des cellules de la thèque folliculaire des femmes ayant des ovaires polykystiques tandis que les cellules A ressemblent aux cellules stromales d'un ovaire post-ménopause, qui peuvent métaboliser le

cholestérol en oxystérols mais ont une capacité limitée de synthèse d'hormones stéroïdes, plus particulièrement d'hormones stéroïdes sexuelles.

Deux études parues en 1993 et 1997 (Rosenthal *et al.*, 1993 a ; Weiss et Scott 1997) portant sur des furets atteints de maladie surrénalienne indiquent une prévalence de 26 à 56% d'hyperplasie nodulaire, 64 à 16% d'adénomes et 10 à 26% de carcinomes. Une autre étude parue en 1997 (Brown, 1997) a, quant-à elle, constaté que la prévalence des carcinomes était deux fois supérieure à celle des adénomes. Enfin, dans une étude parue en 2005 sur 18 surrénales Wagner *et al.*, ont constaté une prévalence de 6% d'hyperplasie, 39% d'adénomes et 55% de carcinomes après un traitement à la désloréline (Wagner *et al.*, 2005).

Les adénomes et carcinomes sécrétant des stéroïdes sexuels surviennent fréquemment chez les furets stérilisés et sont la cause d'une morbidité conséquente. Une hypothèse a été proposée selon laquelle des cellules compétentes situées dans le cortex surrénalien des furets subissaient une transformation néoplasique et adoptaient les caractéristiques de cellules stéroïdogéniques en réponse à des changements hormonaux à la suite d'une gonadectomie (Bielinska *et al.*, 2006).

La pathologie moléculaire de ces tumeurs surrénaliennes est peu comprise. Il est intéressant de noter que les tumeurs surrénaliennes se développent souvent après un défaut gonadique ou une élévation chronique de gonadotrophine (comme chez les femmes ménopausées) chez l'Homme (Bernichtein *et al.*, 2008, Fidler 1977).

4.1 Le processus tumoral surrénalien induit par gonadectomie est similaire chez les furets et les souris

Chez les furets aussi bien que chez les souris, la gonadectomie mène à une élévation du taux circulant de LH, une expression ectopique de LHR , et une différenciation vers un phénotype gonadique. Chez les furets la production ectopique de stéroïdes sexuels contribue à une alopecie et d'autres signes caractéristiques d'AAE (Adrenal Associated Endocrinopathy). Chez les souris les effets sont plus subtils mais sont présents dans les tissus reproducteurs comme la muqueuse vaginale, l'épithélium utérin, les vésicules séminales et les tissus non reproducteurs qui acquièrent un dimorphisme sexuel. De plus, le processus tumoral semble suivre le même chemin physiopathologique dans ces deux espèces (Bielinska *et al.*, 2006).

Comme on peut le voir dans le Tableau 6, après gonadectomie, les lignées de souris sensibles à une tumorigénèse surrénalienne induite par gonadectomie (souris DBA/2J et CE) développent des tumeurs sous-capsulaires après castration chirurgicale, tandis que les furets développent des tumeurs surrénaliennes à localisation variable mais le plus souvent situées au niveau de la jonction cortico-médullaire: au niveau de la zone réticulée. Dans tous les cas, des œstrogènes sont produits, et les récepteurs à LH (LHR) et GATA-4 (normalement présents seulement au niveau des gonades) représentent des marqueurs moléculaires récurrents de ces tumeurs (Bielinska *et al.*, 2006).

Tableau 7: Comparaison des tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie chez le furet et trois modèles murins

Comparaison des tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie chez le furet et trois modèles murins				
	Furet	Lignées de souris, par exemple DBA/2J ou CE	Souris transgéniques Inhibin-α Promoter-SV40 T-antigen	Souris inhibine-α null
Localisation tumorale dans la surrénale	Variable, souvent près de la jonction cortico-médullaire	Subcapsulaire	Subcapsulaire et zone X	Subcapsulaire et zone X
Examen histologique	Hyperplasie nodulaire, adénomes et carcinomes, des cellules fusiformes ou une différenciation myxoïde peuvent être présentes	Adénomes nodulaires et carcinomes, composés des cellules A fusiformes et de cellules B productrices de stéroïdes sexuels	Carcinomes, cellules A fusiformes et cellules B productrices de stéroïdes sexuels	Carcinomes, cellules A fusiformes et cellules B productrices de stéroïdes sexuels
Latence	3 ans ½	1-6 mois	5-7 mois	5-7 mois
Incidence ou pénétrance	Incidence varie entre 0,5 et 20%	Pénétrance de 40 à 100% dépendant de la lignée	Pénétrance proche de 100%	Pénétrance proche de 100%
Stéroïdes sexuels produits	Œstrogènes, andostènedione, 17- α hydroxyprogestérone, DHEA-S	Œstrogènes - DBA/2J, CE,NU/J) ou androgènes (CE)	Œstrogènes	Œstrogènes
Marqueurs moléculaires	LHR, GATA-4, inhibine α , ER- α , vimentine	LHR, GATA-4, inhibine α , P450c17	LHR, GATA-4, inhibine α	LHR, P450c17, aromatase

Selon: Bielinska et al., 2006

4.2. Modèles conceptuels de la pathogénie des tumeurs surréaliennes spontanées

Basés sur les données génétiques et épigénétique récentes, deux concepts ont été mis en avant pour expliquer l'origine et l'évolution des tumeurs surréaliennes: le « multistep » ou modèle clonal, génétique et le modèle épigénétique des cellules germinales. Ces modèles sont plus complémentaires que s'excluant mutuellement.

- Le modèle génétique « multistep »

Des études sur l'inactivation du chromosome X ont montré que l'hyperplasie du tissu surrénalien consiste habituellement en une population polyclonale de cellules, tandis que nombre d'adénomes corticosurréaliens et tous les carcinomes consistent en une population monoclonale de cellules (Bielinska *et al* 2009, Beuschlein *et al.*, 1994, Kjellman *et al.*, 2001).

Sur la base de ces observations, il a été proposé que la tumorigénèse surrénalienne était un processus comprenant plusieurs étapes dans lequel l'évènement initial était la croissance d'une tumeur poly-clonale en réponse à l'activation de chemins de signalisations paracrines et endocrines.

Des études d'hybridations génomiques comparatives ont montré une corrélation positive entre la taille des tumeurs surrénaliennes et le nombre d'altérations chromosomiques, soutenant l'idée que les changements chromosomiques s'accumulent durant le processus tumoral (Bielinska *et al.*, 2009 ; Libe *et al.*, 2005) Des anomalies chromosomiques comme des amplifications et/ ou des délétions ont été détectées dans le cas d'hyperplasies surrénaliennes et d'adénomes corticosurréaliens (par exemple gain du chromosome 17q), suggérant que des lésions hyperplasiques pourraient évoluer en adénomes (Bielinska *et al.*, 2009 ; van Nederveen *et de* Krijger, 2007 ; Zhao *et al.*, 1999). Contrairement aux amplifications/délétions chromosomiques limitées vues lors de tumeurs bénignes corticosurréaliennes, des altérations chromosomiques étendues sont évidentes dans presque tous les adénomes corticosurréaliens (Bielinska *et al.*, 2009 ; van Nederveen *et de* Krijger, 2007).

- Le modèle épigénétique

Des altérations épigénétiques apparaissent dans des cellules cancéreuses aussi communément que les mutations génétiques et peuvent mimer les effets de ces dernières (Bielinska *et al.*, , 2009) Le terme épigénétique renvoie à des modifications de bases non séquencées de l'ADN ou de ses facteurs associés (comme les histones) qui sont maintenues pendant la division cellulaire.

Des altérations épigénétiques des cellules germinales surrénaliennes sont suivies par des mutations de gènes suppresseurs de tumeurs (comme le gène p53), ce qui augmenterait l'instabilité génétique et la probabilité de survenue de mutations additionnelles. Si ces changements progressaient, ils pourraient aboutir à un phénotype malin.

Pour résumer, ce modèle propose que des changements épigénétiques pourraient contribuer à une tumorigénèse corticosurrénalienne en modulant la taille de la population de cellules souches/germinales, en altérant la plasticité du phénotype et en augmentant la sensibilité aux mutations ultérieures (Bielinska *et al.*, 2009).

Il y a environ soixante ans, des chercheurs ont remarqué que la gonadectomie induisait la transformation de cellules de la région subcapsulaire du cortex surrénalien de souris en cellules productrices de stéroïdes sexuels histologiquement et fonctionnellement similaires à du tissu gonadique (Bielinska *et al.*, 2009 ; Fekete *et al.*, 1941).

Des expériences suivantes ont établi que la tumorigénèse surrénalienne induite par gonadectomie était hautement pression-dépendante. **En effet, des chercheurs ont constaté que la lignée de souris la plus sensible, CE/J, développait des carcinomes corticosurréaliens, tandis que les souris DBA/2J, C3H développaient des adénomes.**

D'autres lots incluant les lignées murines C57BL/6J et FVB/N sont résistants aux tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie (Bielinska et al., 2009).

Ce processus est connu comme représentant la métaplasie des cellules du cortex surrénalien, qui, sous l'influence d'une stimulation continue de gonadotropine se transforment en tissu ressemblant à du stroma gonadique. Cette transformation est accompagnée de l'expression atypique de GATA-4, un facteur de transcription de stéroïdes sexuels normalement absent du cortex surrénalien des souris adultes.

Comme d'autres exemples classiques de métaplasie (comme l'œsophage de Barrett) les lésions corticosurréaliennes induites par gonadectomie surviennent dans un épithélium se renouvelant seul (ce qui est le cas du cortex surrénalien, car comme nous l'avons vu précédemment il possède la capacité de se régénérer lui-même). Elles seraient induites par des stimulations hormonales chroniques ou des lésions tissulaires, et auraient le potentiel d'évoluer en franche néoplasie (Bielinska et al., 2009 ; Tosh et Slack, 2002).

Si l'on considère que les tumeurs corticosurréaliennes sont un modèle de tumorigenèse induite par gonadectomie, des altérations épigénétiques pré-existantes pourraient avoir un impact sur la plasticité phénotypique des cellules souches/germinales, leur permettant de répondre aux changements hormonaux associés à la gonadectomie. Ceci pourrait expliquer pourquoi la gonadectomie mène à une discrète prolifération de cordons cellulaires dans le cortex surrénalien (Bielinska et al., 2009).

Une hypothèse est que, après la gonadectomie et l'augmentation du taux de LH, une expression de *LHR* soit induite dans les cellules souches, en même temps que le facteur de transcription *GATA-4*. L'activation de gènes normalement exprimés dans les gonades serait alors à son tour stimulée, menant à une dérégulation surrénalienne. Ceci pouvant être combiné avec le fait que des facteurs génétiques ou des gènes suppresseurs de tumeur comme *Sfrp1* ou *p53* puissent être affectés, mènerait à une prolifération cellulaire excessive et à une tumeur corticosurrénalienne (Bielinska et al., 2009).

Comme discuté ci-dessous et résumé dans le Tableau 7, de nombreux cas de tumeurs surrénaliennes reflètent une combinaison de changements génétiques clonaux et d'altérations épigénétiques (voir Figure 38) (Bielinska et al., 2009).

Tableau 8: Arguments en faveur des deux concepts sur l'origine et l'évolution des tumeurs surrenaliennes

Les arguments en faveur des modèles « multistep » ou modèle clonal, génétique et le modèle épigénétique des cellules germinales sont listé ci-dessous.

Modèle génétique clonal
<ul style="list-style-type: none"> - Le tissu surrenalien hyperplasique est poly-clonal tandis que la plupart des adénomes corticosurréaliens et tous les carcinomes sont monoclonaux. - Il existe une corrélation entre la taille de la tumeur corticosurrénalienne et le nombre d'altérations chromosomiques
Modèle épigénétique des cellules germinales
<ul style="list-style-type: none"> - Les cellules souches/germinales normales du cortex surrenalien sont l'objet d'altérations épigénétiques - IGF2, un gène promoteur de tumeur, est le gène le plus souvent surexprimé dans les carcinomes corticosurréaliens humains - Le syndrome de Beckwith-Wiedmann, un syndrome de prédisposition tumorale lié à des changements épigénétiques, mène à une hyperplasie et un carcinome corticosurrénalien - En cas de néoplasie induite par gonadectomie, des altérations épigénétiques pré-existantes pourraient avoir une influence sur la capacité des cellules souches/germinales à répondre aux changements hormonaux liés à la gonadectomie. -

Selon: Bielinska et al., 2009

Figure 35: Concepts des deux modèles de pathogénie globale des néoplasies surrénaliennes et mise en commun pour aboutir à un modèle mixte

À partir de : *Bielinska et al., 2009*

