Av Diabetol. 2013;**29(Espec Congr):**125-129

ELSEVIER DOYMA

AVANCES EN DIABETOLOGÍA

www.elsevier.es/avdiabetol

PREMIO ALBERTO SOLS DE INVESTIGACIÓN BÁSICA SENIOR

Buscando entre la basura genómica para descifrar nuevos mecanismos patogénicos en la diabetes mellitus

Jorge Ferrer

Department of Medicine, Imperial College London, London W2 0NN, Reino Unido
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Centre Esther Koplowitz, Barcelona, España
Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Barcelona, España

PALABRAS CLAVE
Diabetes;
Genoma;
Epigenómica

Resumen
En los últimos años han surgido nuevas tecnologías que permiten definir la función de partes del genoma que no contienen genes codificantes de proteínas. Hasta hace poco tiempo el genoma no codificante era considerado como "DNA basura". Sin embargo, actualmente se sabe que contiene las instrucciones necesarias para establecer mecanismos epigenéticos que determinan qué genes deben activarse o silenciarse en diferentes contextos celulares, y cómo se transmite esta información a las células descendientes. La disección del genoma no codificante permitirá comprender cómo ciertas variaciones de secuencia contribuyen al desarrollo de la diabetes tipo 2, una enfermedad de la que aún desconocemos los mecanismos moleculares patogénicos. La manipulación de mecanismos epigenéticos también puede facilitar la plasticidad celular con el fin de desarrollar terapias regenerativas para la diabetes tipo 1.
© 2013 Sociedad Española de Diabetes. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS
Diabetes;
Genome;
Epigenomic

Searching through junk DNA for novel pathogenic mechanisms underlying diabetes mellitus

Abstract
During recent years new technologies have emerged that enable decoding of the genomic portions that do not encode for proteins. Not long ago this part of the genome was often referred to as "junk DNA". However, we now know that it contains the instructions to establish epigenetic mechanisms that determine which genes should become active or silenced in different cellular contexts, and that enable this information to be transmitted to offspring cells. A thorough dissection of the noncoding genome will enable us to understand how certain sequence variants contribute to the development of type 2 diabetes, a disease for which the molecular mechanisms remain unknown. Manipulation of epigenetic mechanisms can also be exploited to harness cellular plasticity for regenerative therapies in type 1 diabetes.
© 2013 Sociedad Española de Diabetes. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Correo electrónico: j.ferrer@imperial.ac.uk

1134-3230/$ - see front matter © 2013 Sociedad Española de Diabetes. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Introducción

Las terapias que actualmente están siendo utilizadas para tratar a pacientes con diferentes formas de diabetes mellitus se centran en reducir la hiperglucemia, pero no actúan sobre la evolución de la enfermedad. Hacen falta por lo tanto nuevas terapias que permitan frenar la enfermedad, curarla por completo, o simplemente enmascarar sus consecuencias de una forma mucho más efectiva que hasta ahora.

Existen dos aproximaciones terapéuticas mutuamente no excluyentes que podrían transformar el manejo de la diabetes mellitus. Una consiste en aprender a incidir directamente sobre los mecanismos fisiopatológicos específicos que causan las diferentes formas de diabetes. Una limitación obvia para esta ruta es que no comprendemos los detalles moleculares que subyacen la fisiopatología de las principales formas de diabetes. En particular, en la diabetes tipo 2 (DT2) sabemos que el estilo de vida sedentario y la obesidad conducen a resistencia a la acción de la insulina, pero solo en algunas personas susceptibles las células beta son incapaces de afrontar esta demanda excesiva, y en consecuencia desarrollan diabetes. Lamentablemente ignoramos por completo los procesos moleculares que determinan esta susceptibilidad. Otra aproximación terapéutica que podría cambiar la vida de personas con diabetes consiste en reponer las células beta dañadas. Puesto que no es posible obtener suficientes células beta a partir de donantes de órganos para tratar a un número amplio de pacientes, existe una necesidad de desarrollar tecnologías capaces de crear células beta in vitro, o de inducir su regeneración artificial. Esta meta requerirá, primero, descifrar el manual que contiene las instrucciones para crear células beta.

Las células beta productoras de insulina son por lo tanto dianas importantes tanto para el desarrollo de tratamientos etiológicos en la DT2 como para promover terapias regenerativas. Recientemente ha surgido un interés especial en comprender a fondo cómo se programa la transcripción génica en estas células, en gran parte porque se sabe que existen varias circunstancias en las que defectos transcripcionales de las células beta conducen a diabetes mellitus[1-3]. Además, varios estudios han aportado evidencia conceptual de que pueden emplearse reguladores transcripcionales para reprogramar células beta con fines terapéuticos[4]. Esto significa que la disección detallada de los mecanismos transcripcionales que controlan el desarrollo o la función de las células beta en condiciones normales o patológicas puede aportar claves para comprender mecanismos patogénicos, o para desarrollar terapias regenerativas para la diabetes mellitus. En este artículo repasare tres áreas en las que la programación de la actividad transcripcional del genoma puede abrir nuevas vías para afrontar la diabetes humana.

El epigenoma de las células del islote pancreático y la diabetes tipo 2

Hasta hace muy pocos años nuestros conocimientos sobre los mecanismos moleculares implicados en la aparición de la DT2 se limitaban a hipótesis no demostradas. En los últimos años, sin embargo, han surgido docenas de estudios de asociación genómica (*genome-wide association studies*, o *GWA studies*) que han destapado regiones del genoma que contienen variaciones genéticas que modifican el riesgo para desarrollar DT2[5]. El efecto que produce cada una de estas variaciones de secuencia individualmente sobre el riesgo de desarrollar diabetes es muy pequeño y, por lo tanto, actualmente carecen de utilidad como marcadores predictivos. Sin embargo, estos loci de susceptibilidad suelen ser muy reproducibles en diferentes estudios y alcanzan significancias estadísticas elevadas, por lo que señalan ciertas regiones genómicas que contienen variaciones genéticas que afectan de algún modo la aparición de DT2. En otras palabras, los estudios *GWA* brindan una oportunidad para identificar por primera vez cambios moleculares que tienen una relación directa con el desarrollo de la enfermedad.

No obstante, existen aún limitaciones importantes para explotar esta información. En particular, actualmente los estudios *GWA* solo definen loci genómicos amplios, cada uno de los cuales contiene muchas variantes de secuencia asociadas. En la mayoría de loci no se conocen variaciones de secuencia que alteran secuencias codificantes de proteína, por lo que la mayor parte de las variantes se sitúan en partes del genoma de función desconocida, aquellas que antiguamente eran conocidas como el *genoma basura* porque se pensaba que no tenía ninguna función. Actualmente se sabe que una gran fracción del genoma no destinado a codificar proteínas se dedica a regular la actividad génica, a determinar qué genes se activan en cada tipo celular, en qué cantidad, y en qué momento. Lo más probable, por lo tanto, es que muchas variaciones de secuencia etiológicas que causan las señales de los estudios *GWA* modifican la regulación de ciertos genes en lugar de sus secuencias proteicas. El problema que esto plantea es que las porciones del genoma que no contienen genes codificantes de proteínas son muy amplias y muy poco comprendidas.

Partiendo de esta premisa, nuestro grupo recientemente decidió emplear técnicas de análisis de cromatina acopladas a nuevas tecnologías de secuenciación masiva para construir un mapa genómico de elementos reguladores de las células de islotes pancreáticos humanos[6,7]. El estudio —el primer mapa de este tipo— reveló un gran número de elementos reguladores que son activos específicamente en islotes, y que a menudo forman dominios genómicos que tienen una extensión insospechadamente amplia[6]. El mapa permitió identificar variaciones de secuencia que están situadas en segmentos del genoma donde pueden potencialmente impactar la regulación génica en células de islote pancreáticos. En particular en el locus *TCF7L2*, sin duda el locus de susceptibilidad de DT2 más importante en la mayoría de estudios genéticos realizados en varios grupos étnicos, se observó que una de las variantes más fuertemente asociada a DT2 se encuentra en un elemento regulador de islotes[6]. La variación alélica de este marcador produce cambios locales en la estructura de cromatina en islotes pancreáticos in vivo y altera funciones de regulación transcripcional[6]. Posteriormente otro estudio confirmó estos resultados[8]. Más recientemente hemos generado mapas epigenómicos de alta resolución, en los que identificamos los lugares exactos del genoma donde se están uniendo diferentes factores de transcripción, el estado de la cromatina en cada región, y la actividad transcripcional (Pasquali, Gaulton, Rodríguez-Segui, et al, manuscrito no publicado). Estos mapas han identificado nuevas variantes de secuencia asociadas a DT2 que

alteran la regulación transcripcional en células beta, e incluso han permitido demostrar cómo estos cambios de secuencia alteran el modo en que ciertos factores de transcripción de las células beta interaccionan con el genoma. Estos hallazgos indican que las nuevas tecnologías epigenómicas pueden permitir pasar de disponer listados de variantes de secuencias asociadas a diabetes a descifrar mecanismos moleculares subyacentes.

Más recientemente identificamos más de 1.000 genes que carecen de secuencias codificantes de proteínas (*LncRNA*s, por *long noncoding RNAs*) expresados en las células beta humanas[9]. Muchos de estos genes lncRNA se activan de una manera muy selectiva durante la diferenciación terminal de las células beta, y a menudo se regulan de forma dinámica en respuesta a cambios glucémicos, al igual que muchos genes codificantes de proteínas que son importantes en la fisiología de las células beta[9]. Algunos de estos nuevos genes se encuentran en loci implicados en diabetes monogénica o tipo 2, o bien se regulan anormalmente en islotes de donantes con DT2[9]. Los primeros análisis funcionales mediante estrategias de inhibición demuestran que al menos algunos de ellos actúan como reguladores génicos. En conjunto, estos estudios ponen sobre la mesa una nueva clase de genes que podría desempeñar un papel importante en la diferenciación, expansión o función de las células beta, y podrían por lo tanto proporcionar nuevas dianas terapéuticas.

La diabetes monogénica: un caldo de cultivo para crear terapias dirigidas al defecto etiológico

En un pequeño porcentaje de pacientes la diabetes es debida a mutaciones heterocigotas en genes que codifican factores de transcripción, entre ellos *HNF1A*, *HNF4A*, *HNF1B* o *PDX1*[3,10-12]. Todos estos defectos producen un fallo de las células beta pancreáticas que conduce a la diabetes mellitus. Estas formas de diabetes tienen gran interés porque sabemos a priori cuál es el defecto genético patogénico, y por lo tanto es posible disecar los mecanismos implicados empleando diferentes herramientas experimentales. Esto a su vez puede permitir crear nuevas terapias encaminadas a corregir el defecto causante. A pesar de que son un pequeño porcentaje de los pacientes con diabetes, son un buen banco de pruebas para resolver cómo es posible progresar desde la identificación de un defecto genético a la comprensión de los mecanismos moleculares patogénicos.

Varios estudios demostraron que *HNF1A* y *HNF4A* actúan conjuntamente en un circuito regulador de la transcripción génica de los islotes pancreáticos, lo cual explica por qué sus mutaciones causan un fenotipo común[1,13-15]. En otros estudios se demostró que, a pesar de que *HNF1A* se expresa en múltiples tipos celulares, la aparición de diabetes es debida al papel crítico de HNF1A en un programa transcripcional de genes que es selectivamente importante para la función diferenciada de las células beta[1,2,16]. Desde el punto de vista terapéutico, una conclusión de estos estudios es que puesto que *HNF1A* y *HNF4A* controlan un programa común muy amplio, y no una ruta molecular lineal en la que se podría contemplar corregir un paso crítico distal al defecto, será necesario incidir directamente sobre la función *HNF1A* y *HNF4A* para tratar el defecto molecular de esta enfermedad.

El estudio de modelos experimentales también ha ayudado a definir una nueva causa de hipoglucemia. Si bien las mutaciones *HNF1A* y *HNF4A* causan un fenotipo diabético casi indistinguible que se caracteriza por una secreción de insulina reducida, estudios de ratones mutantes mostraron que la deficiencia de *HNF4A* en células beta paradójicamente causa hiperinsulinismo[17,18]. Este mismo fenotipo fue observado en humanos[18], por lo que actualmente sabemos que las mutaciones del gen *HNF4A* son una causa de hipoglucemia transitoria durante el primer año de vida, que posteriormente evoluciona hacia hipoinsulinismo a partir de la segunda década. Este estudio constituyó un buen ejemplo de cómo la combinación de genética murina y humana puede servir para identificar y comprender una nueva entidad clínica.

Los estudios genéticos de diabetes monogénicas permiten no solo comprender mejor los fenotipos clínicos, sino también revelar nuevos conocimientos biológicos, que a la larga pueden tener implicaciones clínicas. Varios modelos genéticos murinos con mutaciones *HNF1A* y *HNF4A* han sido utilizados para descubrir nuevos aspectos de los mecanismos mediante los cuales estos factores de transcripción regulan la expresión génica[14,19-22]. Estos trabajos han sentado las bases para estudios actualmente en marcha destinados a desarrollar estrategias terapéuticas para la diabetes monogénicas.

Un estudio colaborativo reciente descubrió cómo mutaciones recesivas del gen de la insulina son una causa de diabetes neonatal[23]. Inesperadamente, las mutaciones implicadas no solo afectaban la porción codificante del gen de la insulina, sino que varias de ellas alteraban su región promotora, en partes de esta región en la que se desconocía totalmente que fueran importantes para su función a pesar de que se trata de uno de los promotores génicos más extensamente estudiados en la historia de la biología molecular. La caracterización de estas mutaciones reveló nuevas secuencias genómicas que son indispensables para que se transcriba el gen humano de la insulina[23]. El análisis de las señales que activan dichos elementos podría desenmascarar nuevas vías para programar células productoras de insulina.

Nuevos conocimientos para el desarrollo de terapias regenerativas

El tratamiento definitivo de la diabetes tipo 1 requerirá bloquear la destrucción autoinmune, y simultáneamente corregir la falta de células beta. El reemplazo de células beta mediante el trasplante de islotes ya ha sido implementado con éxito[24], pero la disponibilidad de donantes es extraordinariamente limitada. Incluso en los pocos casos en que se dispone de órganos para el aislamiento de islotes, la calidad y cantidad de los islotes purificados sigue siendo poco previsible y sujeta a variables mal comprendidas después de varias décadas de investigación. Esta situación ha promovido esfuerzos importantes en el campo de la medicina regenerativa experimental destinados a generar células beta artificialmente, ya sea *in vitro*, o bien mediante la inducción de regeneración *in vivo*[24-27].

Cada linaje celular se mantiene estable en parte debido a que su estado epigenómico permite que el genoma active selectivamente determinados genes, y mantenga a otros en un estado silente. Teóricamente es posible manipular las

instrucciones epigenéticas que determinan la formación y mantenimiento de las células beta. Recientemente un estudio empleó células purificadas del páncreas embrionario o adulto para definir los principales cambios dinámicos del epigenoma que se producen durante desarrollo de las células beta[28]. Uno de los hallazgos interesantes fue que las células beta tienen un programa transcripcional muy similar al de las células de tipo neuronal, a pesar de que tienen un origen embrionario totalmente diferente puesto que proceden de la capa endodérmica y no ectodérmica. Resulta que en un momento temprano del desarrollo embrionario del páncreas, las células progenitoras inactivan un programa represor transcripcional mediado por complejos Polycomb, y esto permite que se active un conjunto de genes reguladores comunes a tipos celulares neuronales[28]. Otros estudios demostraron que durante la formación de los progenitores pancreáticos una subunidad de los complejos Polycomb denominada Ring1b se dedica a marcar genes que deberán ser reprimidos en las células beta diferenciadas, si bien una vez que se alcanza este estadio diferenciado Ring1b ya no es necesario para mantener esta represión[28]. Más recientemente, Rodríguez-Segui creó mapas epigenómicos que indican la localización genómica de elementos reguladores que son activos en progenitores pancreáticos embrionarios humanos. El análisis de secuencias que se repiten en un porcentaje elevado de estos elementos reveló que estas son el lugar de unión de un factor de transcripción, lo cual permitió destapar un nuevo regulador transcripcional que actúa como mediador de una ruta de señalización importante para el desarrollo del páncreas (Rodríguez-Segui et al, resultados no publicados).

La comprensión de la plasticidad celular es indispensable para generar nuevas células con fines terapéuticos. Resulta indispensable saber qué células de nuestro organismo son capaces de dar lugar a células beta nuevas. Desde hace más de un siglo el dogma en este campo ha sido que el epitelio ductal del páncreas da lugar a nuevas células beta cuando recibe señales regenerativas[29,30]. Sin embargo, no se había realizado un análisis experimental que permitiese demostrar o refutar este origen de forma concluyente. En 2004 describimos por primera vez que HNF1B, la proteína codificada por un gen implicado en una forma de diabetes monogénica mencionada anteriormente, es un marcador selectivo de las células ductales pancreáticas del páncreas embrionario y adulto[31]. Aprovechando este hallazgo, construimos un modelo genético que nos permitió trazar el destino de las células pancreáticas ductales de ratón durante el desarrollo embrionario y en la vida adulta[32]. El modelo demostró que las células ductales embrionarias son multipotentes, son en realidad progenitoras de las células ductales adultas así como de los diferentes tipos de células endocrinas. La sorpresa principal fue que durante el período posnatal las células ductales no dan lugar a células beta, ni siquiera durante condiciones regenerativas en las que se había postulado que las células beta podrían actuar como progenitoras[32]. El estudio cuestionó conceptos muy arraigados y por lo tanto despertó inicialmente controversias[33], pero más recientemente tres estudios independientes han confirmado este resultado empleando otras herramientas de trazado de linajes celulares[34-36]. El hecho de que el epitelio pancreático ductal proviene directamente de un *pool* de progenitores sugiere que quizás sea más fácil modificar estas células en lugar de otras epigenéticamente más distantes con el fin de generar células beta nuevas. Quizás sea posible inducir cambios en el epitelio ductal pancreático que lo reviertan hacia un estado progenitor embrionario, para luego impulsar una regeneración de la masa de células beta.

En resumen, a la largo de las últimas décadas se han identificado y caracterizado muchas proteínas que han permitido progresar enormemente en nuestra comprensión de procesos moleculares tan importantes como el desarrollo pancreático o la secreción regulada de insulina. Actualmente disponemos de nuevos arsenales, como la capacidad para analizar la función de porciones del genoma que no codifican proteínas pero que controlan la expresión génica en células beta. Esto nos facilitará comprender cómo ciertas variaciones genómicas no codificantes afectan la aparición de DT2. A su vez esto puede permitir identificar por primera vez procesos moleculares directamente implicados en el desarrollo de esta enfermedad. Una comprensión detallada de los principales actores del epigenoma puede incluso permitir controlar mecanismos epigenéticos con el fin de manipular la plasticidad celular para crear nuevas células beta.

Agradecimientos

Este artículo pretende resumir la labor conjunta de muchos investigadores del Laboratorio de Programación Genómica de las Células Beta. No ha pretendido por lo tanto abarcar investigaciones importantes que han realizado muchos otros investigadores en este campo a lo largo de estos últimos años.

Financiación

El trabajo del laboratorio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, el CIBERDEM, Beta Cell Biology Consortium (NIDDK), IDIBAPS, la Juvenile Diabetes Research Foundation y el VII Programa Marco de la Unión Europea.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Ferrer J. A genetic switch in pancreatic beta-cells: implications for differentiation and haploinsufficiency. Diabetes. 2002;51:2355-62.
2. Servitja JM, Ferrer J. Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. Diabetologia. 2004;47:597-613.
3. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). Nature. 1996;384:455-8.
4. Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton DA. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells. Nature. 2008;455:627-32.
5. McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. N Engl J Med. 2010;363:2339-50.

6. Gaulton KJ, Nammo T, Pasquali L, Simon JM, Giresi PG, Fogarty MP, et al. A map of open chromatin in human pancreatic islets. Nat Genet. 2010;42: 55-9.
7. Nammo T, Rodriguez-Segui SA, Ferrer J. Mapping open chromatin with formaldehyde-assisted isolation of regulatory elements. Methods Mol Biol. 2011;791:287-96.
8. Stitzel ML, Sethupathy P, Pearson DS, Chines PS, Song L, Erdos MR, et al. Global epigenomic analysis of primary human pancreatic islets provides insights into type 2 diabetes susceptibility loci. Cell Metab. 2010;12:443-55.
9. Moran I, Akerman I, van de Bunt M, Xie R, Benazra M, Nammo T, et al. Human beta cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tissue-specific, dynamically regulated, and abnormally expressed in type 2 diabetes. Cell Metab. 2012;16:435-48.
10. Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M, Furuta H, Hinokio Y, Cockburn BN, et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY. Nat Genet. 1997;17:384-5.
11. Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Cox NJ, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). Nature. 1996;384:458-60.
12. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. Nat Genet. 1997;17:138-9.
13. Boj SF, Parrizas M, Maestro MA, Ferrer J. A transcription factor regulatory circuit in differentiated pancreatic cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98:14481-6.
14. Boj SF, Petrov D, Ferrer J. Epistasis of transcriptomes reveals synergism between transcriptional activators Hnf1alpha and Hnf4alpha. PLoS Genet. 2010;6:e1000970.
15. Hansen SK, Parrizas M, Jensen ML, Pruhova S, Ek J, Boj SF, et al. Genetic evidence that HNF-1alpha-dependent transcriptional control of HNF-4alpha is essential for human pancreatic beta cell function. J Clin Invest. 2002;110:827-33.
16. Servitja JM, Pignatelli M, Maestro MA, Cardalda C, Boj SF, Lozano J, et al. Hnf1alpha (MODY3) controls tissue-specific transcriptional programs and exerts opposed effects on cell growth in pancreatic islets and liver. Mol Cell Biol. 2009;29:2945-59.
17. Gupta RK, Vatamaniuk MZ, Lee CS, Flaschen RC, Fulmer JT, Matschinsky FM, et al. The MODY1 gene HNF-4alpha regulates selected genes involved in insulin secretion. J Clin Invest. 2005;115:1006-15.
18. Pearson ER, Boj SF, Steele AM, Barrett T, Stals K, Shield JP, et al. Macrosomia and hyperinsulinaemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. PLoS Med. 2007;4:e118.
19. Boj SF, Servitja JM, Martin D, Rios M, Talianidis I, Guigo R, et al. Functional targets of the monogenic diabetes transcription factors HNF-1alpha and HNF-4alpha are highly conserved between mice and humans. Diabetes. 2009;58:1245-53.
20. Luco RF, Maestro MA, del Pozo N, Philbrick WM, de la Ossa PP, Ferrer J. A conditional model reveals that induction of hepatocyte nuclear factor-1alpha in H0nf1alpha-null mutant beta-cells can activate silenced genes postnatally, whereas overexpression is deleterious. Diabetes. 2006;55:2202-11.
21. Luco RF, Maestro MA, Sadoni N, Zink D, Ferrer J. Targeted deficiency of the transcriptional activator Hnf1alpha alters subnuclear positioning of its genomic targets. PLoS Genet. 2008;4:e1000079.
22. Parrizas M, Maestro MA, Boj SF, Paniagua A, Casamitjana R, Gomis R, et al. Hepatic nuclear factor 1-alpha directs nucleosomal hyperacetylation to its tissue-specific transcriptional targets. Mol Cell Biol. 2001;21:3234-43.
23. Garin I, Edghill EL, Akerman I, Rubio-Cabezas O, Rica I, Locke JM, et al. Recessive mutations in the INS gene result in neonatal diabetes through reduced insulin biosynthesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107:3105-10.
24. Vantyghem MC, Kerr-Conte J, Arnalsteen L, Sergent G, Defrance F, Gmyr V, et al. Primary graft function, metabolic control, and graft survival after islet transplantation. Diabetes Care. 2009;32:1473-8.
25. Heimberg H. Boosting beta-cell numbers. N Engl J Med. 2008;359:2723-4.
26. Soria B, Skoudy A, Martin F. From stem cells to beta cells: new strategies in cell therapy of diabetes mellitus. Diabetologia. 2001;44:407-15.
27. Zhou Q, Melton DA. Extreme makeover: converting one cell into another. Cell Stem Cell. 2008;3:382-8.
28. Van Arensbergen J, Garcia-Hurtado J, Moran I, Maestro MA, Xu X, Van de Casteele M, et al. Derepression of Polycomb targets during pancreatic organogenesis allows insulin-producing beta-cells to adopt a neural gene activity program. Genome Res. 2010;20:722-32.
29. Bouwens L. Transdifferentiation versus stem cell hypothesis for the regeneration of islet beta-cells in the pancreas. Microsc Res Tech. 1998;43:332-6.
30. Bonner-Weir S, Weir GC. New sources of pancreatic beta-cells. Nat Biotechnol. 2005;23:857-61.
31. Maestro MA, Boj SF, Luco RF, Pierreux CE, Cabedo J, Servitja JM, et al. Hnf6 and Tcf2 (MODY5) are linked in a gene network operating in a precursor cell domain of the embryonic pancreas. Hum Mol Genet. 2003;12:3307-14.
32. Solar M, Cardalda C, Houbracken I, Martin M, Maestro MA, De Medts N, et al. Pancreatic exocrine duct cells give rise to insulin-producing beta cells during embryogenesis but not after birth. Dev Cell. 2009;17:849-60.
33. Kushner JA, Weir GC, Bonner-Weir S. Ductal origin hypothesis of pancreatic regeneration under attack. Cell Metabol. 2010;11:2-3.
34. Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, Horiguchi M, Kodama S, Kuhara T, et al. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. Nat Genet. 2011;43:34-41.
35. Kopinke D, Murtaugh LC. Exocrine-to-endocrine differentiation is detectable only prior to birth in the uninjured mouse pancreas. BMC Dev Biol. 2010;10:38.
36. Kopp JL, Dubois CL, Schaffer AE, Hao E, Shih HP, Seymour PA, et al. Sox9+ ductal cells are multipotent progenitors throughout development but do not produce new endocrine cells in the normal or injured adult pancreas. Development. 2011;138: 653-65.