Le clone 16E : un modèle de cellules en culture pour l'étude de la mucosécrétion de l'épithélium intestinal, par I. ROUMAGNAC, C. L. LABOISSE. *U239 INSERM, Faculté X. Bichat, 16, rue Huchard, 75018 Paris.*

L'étude de la mucosécrétion intestinale et de sa régulation est difficile à aborder du fait de deux problèmes majeurs, qui sont 1) le manque de spécificité et de sensibilité de la plupart des dosages du mucus généralement employés, et 2) l'impossibilité de travailler sur des préparations épithéliales pures, mucosécrétantes.

Nous présentons dans ce travail un modèle de cellules épithéliales intestinales d'origine humaine, en culture, ayant une différenciation en cellules mucosécrétantes, ainsi que la mise au point d'un dosage ELISA de ces mucines. Nous fournissons enfin deux exemples d'utilisation conjointe de ce nouveau modèle en culture et de cette nouvelle technique de dosage pour l'étude de la régulation de la mucosécrétion.

Le clone 16E, culture pure de cellules épithéliales d'origine clonale, a été isolé à partir de la lignée cancéreuse colique humaine HT29 (Augeron et Labois, 1984). Il se différencie en conditions de culture standard en une monocouche de cellules caliciformes polarisées, sécrétant à leur pôle apical un gel visco-élastique de mucus. Ses caractères de différenciation sont stables en culture à long terme.

Le dosage ELISA a été fondé sur une technique directe d'immunofiltration sur plaque de nitrocellulose, en utilisant un anticorps polyclonal préparé contre les mucines sécrétées par le clone 16E. Une courbe d'étalonnage a été réalisée pour chaque série de dosages avec des mucines natives purifiées par filtration sur gel du milieu conditionné.

En utilisant conjointement ce modèle de cellules en culture et ce dosage des mucines, nous avons cherché à répondre à deux importantes questions encore controversées, concernant le mode d'action de deux sécrétagogues, qui sont : a) Les agonistes cholinergiques exercent-ils leur effet sécrétagogue par action directe sur les cellules épithéliales caliciformes ou par le relais de cellules conjonctives ? b) La stimulation de mucosécrétion due à la toxine cholérique passe-t-elle par la voie de l'AMP cyclique ?

a) En ce qui concerne la première question, le carbachol ($10^{-3}M$) a entraîné une sécrétion rapide de mucus (effet maximal à 30 min) par le clone 16E, cet effet étant bloqué par l'atropine. Il apparaît donc que cet agent exerce une action directe sur des récepteurs muscariniques des cellules épithéliales intestinales.

b) La toxine cholérique a provoqué une stimulation de la mucosécrétion avec un plateau à 3 h, cet effet n'étant pas reproduit par l'addition de dbcAMP ou de VIP au milieu de culture. Les effets de la toxine cholérique sur la mucosécrétion sont donc dissociés de ceux exercés par cette toxine sur la production d'AMPc.

En conclusion, l'utilisation conjointe d'une lignée cellulaire en culture et d'un dosage spécifique et sensible des mucines constitue une approche nouvelle et prometteuse de l'étude de la régulation de la mucosécrétion.

Augeron C., Labois C. L., 1984. Emergence of permanently differentiated cell clones in a human colonic cancer cell line in culture after treatment with sodium butyrate. *Cancer Res.*, **44**, 3961-3969.

Travail en partie subventionné par La Ligue Nationale Française contre le Cancer.