



Responsable : Jean Michel Heard (jmheard@pasteur.fr)

Résumé

Nous étudions des stratégies de réparation pour les lésions du système nerveux central. La thérapie génique nous permet d'apporter un facteur soluble correctif dans des modèles de neurodégénérescence associée aux maladies de surcharge lysosomale chez l'animal de laboratoire et chez le gros mammifère, avec la perspective d'une application clinique. Des modèles ont été créés afin d'étudier les modalités de la régénération de connexions efférentes et afférentes de motoneurones, résidents ou générés à partir de cellules progénitrices. Le groupe de B. Durand étudie les effecteurs de *barhl 2*, un homéogène impliqué dans l'organisation de la plaque neurale.

Rapport d'activité

L'idée que des stratégies de réparation pourraient être un jour proposées pour le traitement de lésions du système nerveux central (CNS) provient d'observations effectuées au cours de la dernière décennie, parmi lesquelles la greffe de cellules fœtales chez des patients atteints de maladie de Parkinson, la mise en évidence d'une neurogénèse chez les mammifères adultes, et l'isolement de cellules souches neurales de différentes régions du SNC chez l'adulte. Dans le même temps, des vecteurs de transfert de gène capables d'induire l'expression de gènes étrangers dans le SNC sont devenus disponibles.

Une première catégorie de stratégies pour la réparation du SNC repose sur l'apport de facteurs solubles qui pourraient prévenir la mort ou stimuler la repousse axonale. Des sources de facteurs solubles peuvent être créées par la modification génétique de cellules résidentes. Nous abordons ce type de stratégie par le transfert de gène codant pour l'enzyme manquante dans des modèles de maladie de surcharge lysosomale, lesquelles induisent des processus neurodégénératifs graves chez l'enfant.

Une seconde catégorie de stratégies consiste dans le remplacement de cellules disparues. Ceci suppose que le SNC possède une plasticité suffisante pour incorporer des cellules nouvelles dans l'architecture existante. Il est possible que des cellules neurales progénitrices aient cette capacité, soit spontanément, soit après reprogrammation génétique. Pour atteindre cet objectif il est nécessaire d'associer la transplantation cellulaire à des manœuvres destinées à favoriser la plasticité.

La connaissance des outils et des cibles permettant la manipulation du devenir de cellules progénitrices neurales chez l'adulte provient de l'étude du développement embryonnaire. B. Durand étudie les facteurs génétiques contrôlant l'organisation de la plaque neurale chez les vertébrés.

Etude et traitement du processus dégénératif associé aux mucopolysaccharidoses (MPS)

Les résultats récents de N. Desmaris et A. Cressant dans des modèles de maladie de Hurler (MPSI) et de Sanfilippo (MPSIII) chez la souris ont montré qu'une injection unique de vecteur AAV2 dans le cerveau est suffisante pour corriger la pathologie dans la totalité du cerveau, prévenir la mort neuronale et améliorer les performances comportementales des animaux.

Dans la perspective d'essais cliniques, nous examinons actuellement l'efficacité thérapeutique et la tolérance du transfert de gène et de l'apport de l'enzyme manquante dans le cerveau de gros mammifères, selon un protocole cliniquement acceptable. Des vecteurs AAV2 et AAV5 sont utilisés. Les expériences chez des chiens atteints de MPSI permettent de dresser des cartes de la distribution du vecteur, de l'enzyme et de la correction des lésions dans le cerveau. Un protocole identique est mis en œuvre chez des macaques pour apprécier la tolérance au traitement. Ce programme est mené en collaboration avec les équipes de P. Moullier à Nantes, l'Ecole Vétérinaire de Nantes, un neuropédiatre (Pr. M. Tardieu) et des neurochirurgiens (Prs. M. Tadié et Y. Lajat).

Les mécanismes responsables du transport des enzymes lysosomales dans le cerveau est inconnu. F. Chen examine leur transport axonal. Les expériences sont réalisées à l'aide de protéines de fusion avec la GFP en vidéo-microscopie en temps réel sur des neurones en culture. L'administration *in vivo* chez la souris déficiente permet un marquage des aires cérébrales dans lesquelles l'apport d'enzyme est associée avec une amélioration des tests comportementaux. Nous modifions également les enzymes, par exemple en réalisant des fusions avec la protéine Tat du VIH, afin d'augmenter leur diffusion dans le cerveau.

Réparations des lésions des voies motrices

La motricité est contrôlée aux niveaux cortical, sous-cortical et spinal. Les voies motrices peuvent subir des ré-organisations à ces différents niveaux, permettant une adaptation compensatrice après lésion. Nous explorons des stratégies de réparation au niveau spinal. S. Liu est un neurochirurgien qui a décrit des méthodes pour la reconstruction des voies motrices après lésion de la moelle épinière au niveau thoraco-lombaire chez le rat et le primate. Les méthodes reposent sur la reconnection des racines motrices lombaires avec les motoneurones thoraciques. La chirurgie induit une régénération qui conduit à placer les muscles des pattes postérieures sous le contrôle des motoneurones thoraciques, lesquels sont a priori incapables de déterminer une locomotion. Des modèles expérimentaux sont ainsi créés dans lesquels le développement de connexions efférentes et afférentes de motoneurones transplantés peut être étudié chez le rat adulte, de même que les conditions pour une réorganisation anatomique et fonctionnelle conduisant à un comportement moteur intégré.

T. Bréjot a documenté la cinétique de croissance axonale vers les muscles des pattes postérieures après chirurgie. En combinant la chirurgie avec la transplantation dans la corne antérieure, D. Bohl réalise des études semblables avec des cellules neurales progénitrices. A. Nosjean pose les mêmes questions chez la souris en utilisant des cellules souches embryonnaires, tel que les modèles de maladies motoneuronales disponibles chez la souris puissent être ultérieurement étudiés. Les cellules transplantées sont utilisées telles quelles, après traitement par des facteurs de différenciation ou après reprogrammation génétique.

En raison de la reconnection des muscles des pattes postérieures avec les motoneurones thoraciques, la motricité observée après traitement n'est pas adaptée à la locomotion. Dans le but d'améliorer les résultats fonctionnels, D. Bohl, S. Liu et A. Cressant soumettent les animaux à un entraînement moteur et induisent la sécrétion de facteurs neurotrophiques au niveau médullaire afin d'induire une réorganisation des circuits de commande.

Différenciation neurale

Les protéines à homéoboîtes sont des régulateurs transcriptionnels qui induisent l'expression de gènes cibles spécifiques contrôlant des voies de différenciation. L'identité des différents domaines et segments du SNC dépend de groupes de protéines à homéoboîtes et d'autres protéines régulatrices qui contrôlent la transcription de gènes spécifiques. Dans la plaque neurale proencéphalique, les patrons d'expression des homéogènes peuvent être reliés aux processus morphogènes primaires qui organisent le SNC embryonnaire en une série de domaines. A des étapes plus tardives, la mise en place de domaines dépend de l'action de centres organisateurs. Des anneaux transversaux de cellules neuroépithéliales pour le cerveau, le plancher et le toit du tube neural pour la moelle épinière fournissent des sources de molécules secrétées, telles que Shh, Fgf8 et BMP. Leur action morphogène permet d'établir l'identité régionale et le devenir des neurones dans les régions adjacentes du tube neural.

B. Durand a récemment isolé un nouvel homéogène chez le xénope et la souris, appelé *barhl 2*. Le mode d'expression de *barhl 2* et les phénotypes induits chez l'embryon de xénope suggère un rôle dans l'organisation dorso-ventrale du tube neural. Selon des critères morphologiques en moléculaires, *barhl 2* semble reproduire les effets de l'activation par BMP et FGF, et de ce fait représente possiblement une cible pour l'effet morphogène de ces facteurs. *barhl 2* est un inhibiteur transcriptionnel spécifiquement exprimé dans le diencéphale dorsal, la partie dorsale de la rétine et le toit du tube neural aux étapes précoces du développement. Son expression a un effet dorsalisant. Des études des mécanismes cellulaires et moléculaires spécifiant la fonction de *barhl 2* sont réalisées afin d'identifier les régulateurs génétiques en amont et en aval de l'action de ce gène.

Autre projet

En collaboration avec le laboratoire de C. Petit, B. Delprat explore le potentiel des vecteurs viraux chez la souris dans des modèles de défauts génétiques de l'audition.

Mots-clés: thérapie génique, cellules souches, système nerveux, maladies lysosomales, motricité, gènes homéotiques

Publications de l'unité

> [Toutes les publications sur notre base de données](#)

Personnel

Secrétariat	Chercheurs	Stagiaires	Autre personnel
Renée Communal, communal@pasteur.fr	Delphine Bohl CR2 INSERM, dbohl@pasteur.fr Béatrice Durand CR1 CNRS, bdurand@pasteur.fr Jean Michel Heard DR1 INSERM jmheard@pasteur.fr Song Liu CR1 INSERM, songliu@pasteur.fr Anne Nosjean CR1 CNRS, nosjean@pasteur.fr	Arnaud Cressant Stage post-doctoral cressant@pasteur.fr Benjamin Delprat Stage post-doctoral delprat@pasteur.fr Thomas Bréjot Thèsard Paris VII, tbrejot@pasteur.fr Fengtian Chen Thèsard Paris VII, fchen@pasteur.fr	Nathalie Desmaris Technicienne Supérieure 1D nchodan@pasteur.fr Sébastien Franconi Technicien Supérieur 1D franconi@pasteur.fr

Rapports d'activité 2002 - Institut Pasteur



En cas de problèmes, de remarques, ou de questions concernant cette page Web écrire à rescom@pasteur.fr