[CD3-specific antibody-induced T-cell apoptosis and apoptotic cell uptake lead to CD3-specific antibody-induced tolerance]

Sylvain Perruche, Philippe Saas

▶ **To cite this version:**

Sylvain Perruche, Philippe Saas. [CD3-specific antibody-induced T-cell apoptosis and apoptotic cell uptake lead to CD3-specific antibody-induced tolerance]. Médecine/Sciences, 2009, 25 (4), pp.325-7. inserm-00484290

HAL Id: inserm-00484290

https://inserm.hal.science/inserm-00484290

Submitted on 10 Nov 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MEDECINE/SCIENCES 2009 ; 25 : 325-54

« Mort sur ordonnance » ou comment l'anticorps anti-CD3 utilise l'apoptose pour induire la tolérance

Sylvain Perruche, Philippe Saas

Inserm UMR645, Établissement Français du Sang Bourgogne Franche-Comté, Université de Franche-Comté, 1, boulevard Alexander Fleming, BP1937, 25020 Besançon, France.
sylvain.perruche@efs.sante.fr
philippe.saas@efs.sante.fr

Anticorps thérapeutiques dans la prévention du rejet de greffe

La prévention du rejet de l'organe greffé après une transplantation repose sur deux stratégies successives : un premier traitement dit d'induction utilise les immunoglobulines anti-lymphocytaires polyclonales et permet une élimination transitoire des lymphocytes. Cette première étape est suivie d'un traitement d'entretien - qui sera pris durant toute la vie - basé sur l'utilisation d'immunosuppresseurs chimiques. Cette immunosuppression généralisée expose le receveur à de nombreuses complications, notamment infectieuses. Il est donc intéressant de développer des stratégies visant à établir un état de tolérance spécifique aux antigènes exprimés par l'organe greffé tout en conservant la possibilité de répondre aux autres antigènes auxquels nous expose notre environnement (notamment les pathogènes). Les anticorps anti-CD3 ont été utilisés initialement en transplantation comme traitement d'induction, puis abandonnés en raison de leurs effets secondaires liés en partie à leur origine animale. Des progrès technologiques ont permis ensuite l'obtention d'anticorps chimériques ou humanisés offrant une meilleure efficacité thérapeutique et une moindre toxicité et permettant d'envisager à nouveau l'utilisation d'anticorps monoclonaux en transplantation. Ainsi, les anticorps anti-CD25 chimériques[1] (Basiliximab) ou humanisés (Daclizumab) sont proposés aujourd'hui dans le traitement d'induction après greffe de rein à la place des globulines anti-lymphocytaires polyclonales. Ces évolutions technologiques ont relancé la recherche préclinique et le développement d'essais cliniques utilisant les anticorps anti-CD3 notamment dans le diabète auto-immun [1].

Efficacite de l'anticorps anti-CD3 dans la prévention du diabète chez la souris

Lucienne Chatenoud et son équipe ont montré que l'administration d'anticorps anti-CD3 à des souris génétiquement programmées pour devenir diabétiques, si elle est faite dans les 10 premiers

Ce titre fait référence au film de Jacques Rouffio « *Sept morts sur ordonnance* » (1975) avec Michel Piccoli, Gérard Depardieu, Jane Birkin, Marina Vlady, Charles Vanel...

[1] Basiliximab (Simulect, Novartis Pharmaceuticals) : anticorps chimérique dirigé contre contre la chaîne α du récepteur à l'IL-2 (CD25) obtenu par chimérisation d'un anticorps murin anti-CD25 avec les régions constantes de la chaîne lourde et la chaîne légère κ d'une IgG1 humaine. Daclizumab (Zenapax, Roche Pharmaceuticals) : anticorps monoclonal murin humanisé , comprenant les régions constantes des IgG1 humaines et la région complémentaire d'un anticorps monoclonal murin dirigé contre la chaîne α du récepteur à l'IL-2 (CD25).

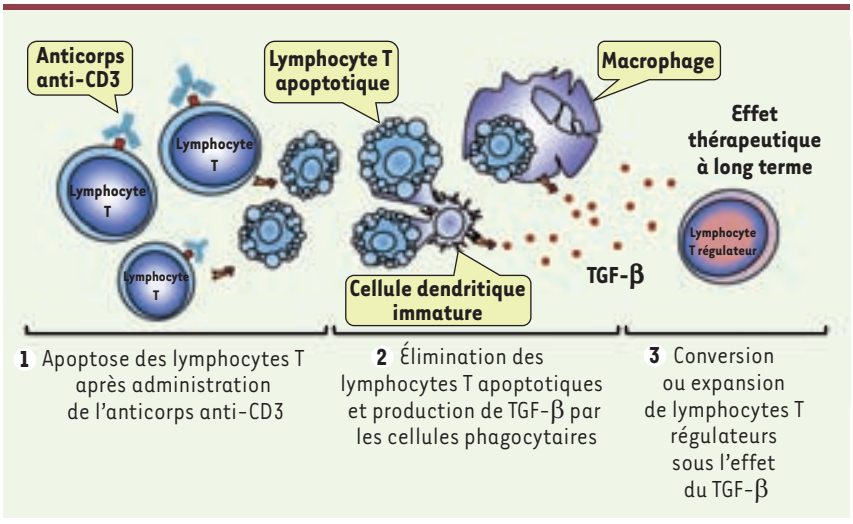


Figure 1. ***Mécanisme d'induction de tolérance par l'anticorps anti-CD3.*** L'induction de tolérance après traitement par l'anticorps anti-CD3 se décompose en 3 phases : (1) apoptose des lymphocytes T induite par l'anticorps anti-CD3 (immunosuppression transitoire) ; (2) élimination des lymphocytes apoptotiques par les cellules phagocytaires (macrophages et cellules dendritiques immatures) qui vont libérer du TGF-β ; (3) conversion ou expansion de lymphocytes T CD4 régulateurs sous l'effet du TGF-β produit par les cellules phagocytaires (d'après [3]).

jours suivant l'apparition des symptômes, permet de prévenir la maladie [1]. Les facteurs impliqués dans cette prévention du diabète à long terme (malgré un traitement de courte durée) sont le TGF-β (*transforming growth factor* β) et les lymphocytes T régulateurs [2]. Notre étude publiée dans *Nature Medicine* au mois de mai 2008 [3] fait le lien entre ces éléments en identifiant les mécanismes à l'origine de la tolérance à long terme obtenue après une injection d'anticorps anti-CD3. En effet, l'anticorps anti-CD3 induit l'apoptose de la plupart des lymphocytes T qui sont ensuite éliminés par les cellules phagocytaires, comme les macrophages et les cellules dendritiques immatures. En réponse, ces cellules libèrent du TGF-β qui, à son tour, permet la conversion en lymphocytes T régulateurs des lymphocytes T CD4 émergeant après la déplétion secondaire à l'anti-CD3 *(Figure 1)*. Le rôle pivot des cellules phagocytaires dans l'induction de tolérance par des anticorps anti-CD3 a été illustré dans un modèle expérimental de maladie auto-immune, l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale [3]. Dans ce modèle, la déplétion des cellules phagocytaires par l'injection de liposomes toxiques pour ces cellules, prévient l'effet bénéfique de l'anticorps anti-CD3 [3]. Ces travaux amènent à reconsidérer la relation entre la mort apoptotique et la réponse immunitaire ; l'apoptose qui résulte de l'action de l'anticorps anti-CD3 serait le point clef dans l'induction de tolérance.

La mort apoptotique, une mort sous silence

L'apoptose est le mécanisme physiologique de mort cellulaire le plus fréquemment rencontré dans l'organisme. Par exemple, 100 billions de polynucléaires neutrophiles meurent chaque jour par apoptose sans pour autant activer le système immunitaire. Le processus rapide d'élimination des cellules apoptotiques participe à l'inhibition de la réponse immunitaire contre ces cellules mourantes [11]. Un défaut de ce processus d'élimination rapide serait à l'origine de certaines maladies auto-immunes [4]. L'élimination des cellules apoptotiques est assurée par des cellules adjacentes ou les cellules phagocytaires professionnelles. Elle s'accompagne de la libération de cytokines immunosuppressives comme le TGF-β [5, 6]. Cela conduit à la création d'un environnement immunosuppresseur transitoire *(Figure 2)*. Un autre mécanisme impliquant les lymphocytes T CD4 régulateurs peut aussi participer au contrôle des réponses auto-immunes. Les lymphocytes T régulateurs dépendent du TGF-β pour leur développement, leur survie et leur fonction [7, 8]. Le TGF-β libéré durant l'apoptose favorise la génération de lymphocytes T régulateurs, mais le signal délivré par cette cytokine n'est cependant pas suffisant. Un engagement simultané du récepteur à l'antigène, ou TCR (*T cell receptor*) est aussi nécessaire [3, 7] *(Figure 2)*. Les deux conditions n'étant pas toujours réunies, cela expliquerait que des lymphocytes T régulateurs ne soient pas systématiquement associés à l'adminstration d'anticorps induisant l'apoptose.

D'autres approches cliniques « exploitent » l'apoptose

Les données de la littérature suggèrent que les propriétés immunomodulatrices des cellules apoptotiques *(Figure 2)* interviennent dans d'autres approches thérapeutiques, comme la photothérapie extracorporelle ou la transfusion sanguine [9]. Dans ces deux cas, les produits administrés contiennent un nombre conséquent de leucocytes apoptotiques qui seraient à l'origine de l'effet immunomodulateur. Dans la photochimiothérapie extracorporelle, les propres globules blancs du patient, collectés par leucopherèse dans un circuit extracorporel, sont sensibilisés

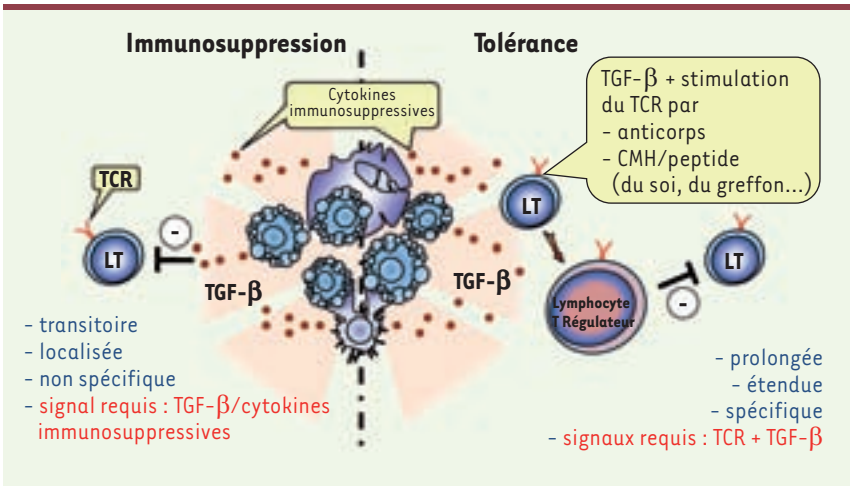


Figure 2. ***Mécanismes à l'origine des propriétés immunomodulatrices des cellules apoptotiques.*** Les cellules apoptotiques peuvent être à l'origine d'une immunosuppression et/ou d'une tolérance. L'immunosuppression est transitoire (le temps que les cellules apoptotiques soient éliminées), localisée (sur le site de l'élimination des cellules apoptotiques) et non spécifique (toutes les cellules immunitaires présentes à l'endroit où meurent les cellules peuvent être concernées). La tolérance est caractérisée par l'augmentation de lymphocytes T régulateurs. Elle est prolongée dans le temps (selon la durée de vie des lymphocytes T régulateurs générés), étendue à plusieurs sites (selon les capacités migratoires de ces lymphocytes) et spécifique. Selon le signal déclenchant l'activation du TCR, les lymphocytes T régulateurs générés auront une spécificité étendue (anticorps anti-CD3) ou restreinte contre les antigènes du soi (pathologie auto-immune) ou du greffon (transplantation). La balance entre tolérance et immunosuppression est donc déterminée par la stimulation du TCR.

par un dérivé du psoralène, traités par radiations ultraviolettes, puis ces leucocytes apoptotiques sont réinjectés au patient. D'autre part, dans les produits sanguins labiles, les cellules apoptotiques correspondraient aux cellules sanguines contaminantes non désirées (leucocytes dans les concentrés de globules rouges). La transfusion au receveur de produits sanguins labiles du donneur a été utilisée en transplantation rénale pour tenter de réduire le rejet avant l'avènement des immunosuppresseurs chimiques. La déleucocytation pratiquée aujourd'hui pour prévenir les risques de contamination virale a diminué significativement le nombre de leucocytes apoptotiques présents dans les produits sanguins labiles, mais aussi l'efficacité immunomodulatrice de ces produits. Ces approches cliniques et les données expérimentales [1, 3, 9] renforcent l'idée d'une exploitation à des fins cliniques des propriétés immunomodulatrices de l'administration intraveineuse de cellules apoptotiques. Comment cette stratégie pourrait-elle trouver sa place dans l'arsenal thérapeutique ? Une étude clinique publiée récemment dans *The Lancet* rapporte les résultats de l'administration intramusculaire de cellules sanguines apoptotiques autologues chez plus de mille patients présentant des troubles cardiaques [10]. Malgré un bénéfice limité et un procédé d'induction d'apoptose discutable, cette étude confirme l'innocuité de l'administration de cellules apoptotiques qui pourrait rapidement trouver sa place comme produit de thérapie cellulaire. ◊

CD3-specific antibody-induced T cell apoptosis and apoptotic cell uptake lead to CD3-specific antibody-induced tolerance

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Wanjun Chen (Mucosal Immunity Unit, NIDCR, NIH, USA) pour son investissement dans ce travail et Béatrice Gaugler (Inserm UMR645) pour sa relecture.

RÉFÉRENCES

1. Chatenoud L. Les anticorps monoclonaux anti-CD3. Une première étape vers un traitement du diabète insulino-dépendant d'origine auto-immune. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 5-6.
2. Chatenoud L. Une étape vers la restauration de la tolérance immunitaire au soi dans les maladies auto-immunes humaines. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 167-71.
3. Perruche S, Zhang P, Liu Y, *et al.* CD3-specific antibody-induced immune tolerance involves transforming growth factor-beta from phagocytes digesting apoptotic T cells. *Nat Med* 2008 ; 14 : 528-35.
4. Munoz LE, van Bavel C, Franz S, *et al.* Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008 ; 17 : 371-5.
5. Chen W, Frank ME, Jin W, Wahl SM. TGF-beta released by apoptotic T cells contributes to an immunosuppressive milieu. *Immunity* 2001 ; 14 : 715-25.
6. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, *et al.* Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 890-8.
7. Chen W, Jin W, Hardegen N, *et al.* Conversion of peripheral $CD4^+CD25^-$ naive T cells to $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003 ; 198 : 1875-86.
8. Liu Y, Zhang P, Li J, *et al.* A critical function for TGF-beta signaling in the development of natural $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 632-40.
9. Saas P, Bonnefoy F, Kleinclauss F, *et al.* Vers l'utilisation thérapeutique de l'administration intraveineuse de leucocytes apoptotiques du donneur en thérapie cellulaire ? *Transfus Clin Biol* 2008 ; 15 : 98-108.
10. Torre-Amione G, Anker SD, Bourge RC, *et al.* Results of a non-specific immunomodulation therapy in chronic heart failure (ACCLAIM trial) : a placebo-controlled randomised trial. *Lancet* 2008 ; 371 : 228-36.
11. Chimini G. Le récepteur des phosphatidylsérines, une arlésienne qui nous surprend toujours *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 501-2.

NOUVELLE

Cancer : lorsque recycler devient une faiblesse

Pierre Sonveaux, Frédérique Végran, Julien Verrax, Christophe J. De Saedeleer, Caroline Diepart, Bénédicte F. Jordan, Bernard Gallez, Olivier Feron

Unité de Pharmacologie et de Thérapeutique, Université catholique de Louvain (UCL), 52, avenue E. Mounier, 1200 Bruxelles, Belgique.
pierre.sonveaux@uclouvain.be

> À l'origine du processus cancéreux, les descendants d'une cellule capable de proliférer de manière débridée envahissent le tissu d'origine pour former une masse tumorale de volume croissant *(Figure 1)*. Or, à distance du vaisseau sanguin le plus proche, l'oxygène nécessaire à la chaîne respiratoire cellulaire (phosphorylations oxydatives) s'amenuise [1]. Un équilibre dynamique s'installe donc entre la prolifération des cellules recevant suffisamment d'oxygène et la mort des cellules hypoxiques, ce qui favorise l'élimination naturelle des microlésions tumorales. Toutefois, l'hypoxie favorise aussi l'émergence de cellules cancéreuses capables de produire la majorité de leur énergie par la glycolyse plutôt que par la chaîne respiratoire [2, 3]. Cette adaptation et sa pérennisation permettent à la tumeur d'entrer en phase de croissance exponentielle.

Le rendement énergétique de la glycolyse est faible, si bien que pour une même production d'énergie, une cellule tumorale hypoxique a besoin de 19 fois plus de glucose qu'une cellule tumorale en conditions normoxiques *(Figure 2)*. Puisque le glucose est véhiculé par le sang, une question se pose : comment les cellules hypoxiques éloignées des vaisseaux sanguins ont-elles accès aux quantités énormes de glucose dont elles ont besoin ?

Les tumeurs recyclent le lactate

La réponse à cette question, curieusement, nous l'avons trouvée en nous intéressant au lactate, le produit final de la glycolyse. Notre approche [4] a été d'analyser le comportement métabolique de cellules tumorales en culture caractérisées les unes par un métabolisme respiratoire/oxydatif et les autres par un métabolisme entièrement glycolytique (glycolyse aérobie ou phénotype Warburg[1] [5]). La mesure enzymatique des concentrations de glucose et de lactate dans les milieux de culture des cellules et des mesures de la respiration cellulaire par résonance paramagnétique électronique (RPE) [6] a révélé une conclusion inattendue : lorsqu'elles ont le choix, les cellules tumorales oxydatives préfèrent alimenter leur respiration avec du lactate plutôt qu'avec du glucose *(Figure 2)* [4]. Au contraire, les cellules tumorales glycolytiques sont incapables d'utiliser le lactate comme substrat alternatif : en l'absence de glucose, elles meurent. Le recyclage de l'énergie résiduelle contenue dans le lactate permet donc aux populations de cellules cancéreuses d'entrer en symbiose pour s'assurer un apport optimal en substrats énergétiques. En effet, l'utilisation préférentielle du lactate par les cellules oxydatives permet au glucose, qui reste disponible, de diffuser librement depuis les vaisseaux sanguins vers le compartiment tumoral hypoxique où les cellules, *via* la glycolyse, produisent du lactate ; celui-ci diffuse à son tour en sens inverse et nourrit les cellules oxydatives *(Figure 2)*. Puisque l'hypoxie persiste au cours du développement d'une tumeur [7], il est fort probable qu'il en aille de même du recyclage du lactate. Le lactate est un anion qui requiert une protéine de transport adéquate pour traverser la membrane plasmique. Dans le muscle, il existe des transporteurs du lactate de type *monocarboxylate transporter* (MCT) : MCT4 permet l'export du lactate produit par les fibres musculaires glycolytiques (celles qui exécutent l'exercice) et MCT1 permet l'entrée du lactate dans les fibres musculaires oxydatives [8, 9]. Nous avons découvert que ce système, à l'instar d'autres systèmes physiologiques tels que l'angiogenèse, est usurpé par les cellules cancéreuses. Alors que les cellules tumorales glycolytiques expriment MCT4, les cellules tumorales oxydatives expriment MCT1 *(Figure 2)* [4].

[1] O. Warburg décrivit en 1956 dans *Science* l'existence d'une diiminution dela phosphoryation oxydative mitochondriale associée à une importante glycolyse aérobie dans certaines tumeurs.

Inhiber le recyclage du lactate affame les cellules tumorales hypoxiques jusqu'à la mort

Compte tenu de l'importance du mécanisme de recyclage du lactate pour la croissance des tumeurs, nous avons développé une stratégie thérapeutique destinée à le corrompre. Notre approche a consisté à bloquer MCT1 au moyen soit d'un inhibiteur pharmacologique sélectif, l'α-cyano-4-hydroxycinnamate (CHC), soit de petits ARN interférents (siARN) ciblant spécifiquement l'ARNm de MCT1 [4]. Les deux approches ont eu pour effet d'empêcher l'import de lactate par les cellules tumorales oxydatives ; celles-ci, *via* un processus métabolique complexe, modifient leur comportement et utilisent alors la glycolyse aérobie comme nouveau mode de production d'énergie *(Figure 2)*. En termes moléculaires, les cellules qui auparavant consommaient du lactate pour alimenter la voie oxydative deviennent donc particulièrement avides de glucose et n'utilisent plus d'oxygène. Ce « *switch* » a deux conséquences majeures : premièrement, les cellules tumorales hypoxiques n'ont plus accès à suffisamment de glucose et meurent affamées, provoquant ainsi une régression tumorale chez l'animal ; deuxièmement, l'arrêt de toute « respiration » cellulaire tumorale induit une

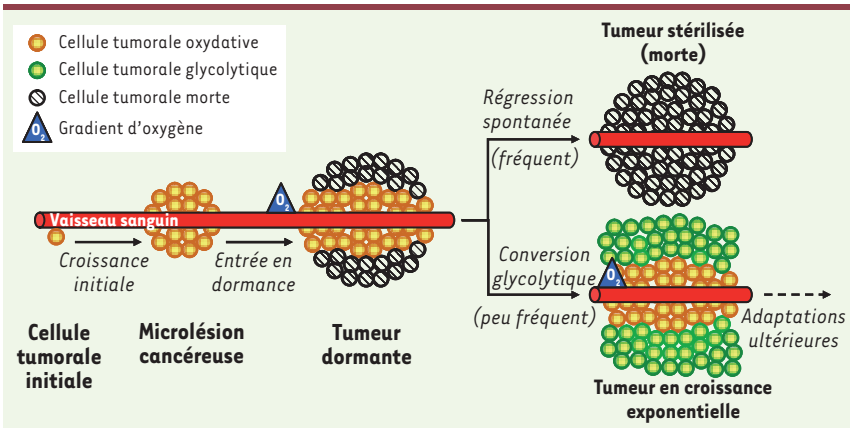


Figure 1. ***Agenda évolutif d'une tumeur.*** À l'origine du cancer, une cellule a acquis la capacité de proliférer de manière débridée. Lors d'une première phase de croissance, les cellules tumorales colonisent le tissu sain environnant pour former une microlésion cancéreuse. Lorsque la masse tumorale s'étend au-delà de la distance de diffusion de l'oxygène depuis le vaisseau sanguin le plus proche, la tumeur entre en dormance, un état caractérisé par un équilibre dynamique entre la multiplication des cellules tumorales suffisamment oxygénées et la mort des cellules tumorales hypoxiques. Dans la plupart des cas, ces tumeurs régressent spontanément, notamment en réponse aux attaques du système immunitaire. Toutefois, dans de rares cas, la pression de sélection qu'exerce l'hypoxie favorise l'émergence de cellules tumorales capables de produire l'énergie dont elles ont besoin par la glycolyse anaérobie. Cette conversion glycolytique marque l'entrée de la tumeur en phase de croissance exponentielle. Des adaptations ultérieures, telles que l'activation du processus angiogénique, favorisent le développement de la tumeur jusqu'à un stade symptomatique correspondant généralement à sa détection clinique.

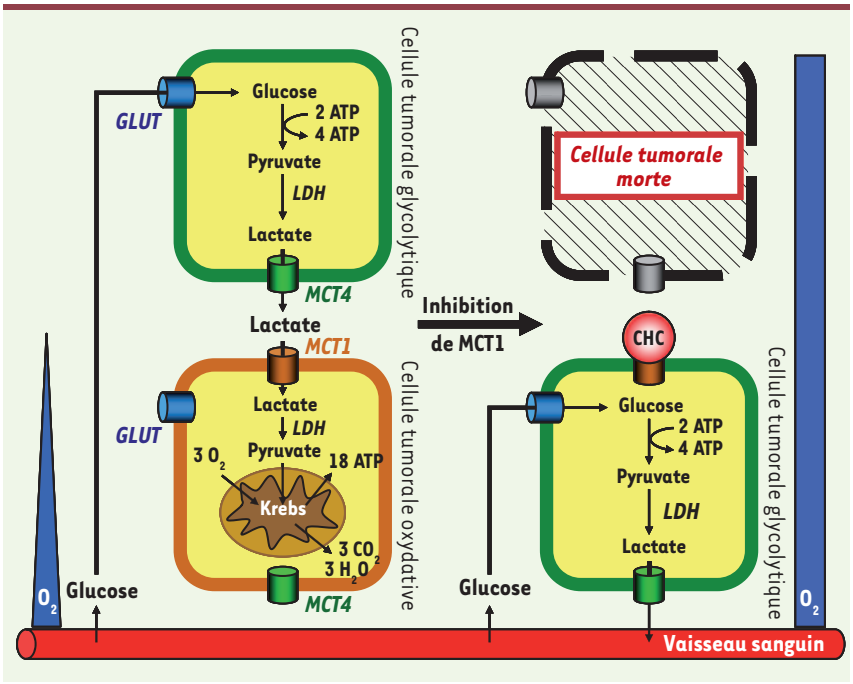


Figure 2. ***Les tumeurs sont des symbiontes métaboliques qu'il est possible d'attaquer.*** Nos recherches ont permis de découvrir que les cellules tumorales qui se développent dans un environnement normoxique ou hypoxique régulent mutuellement leur accès aux métabolites énergétiques. Les cellules qui ont accès à l'oxygène préfèrent en effet le lactate au glucose comme substrat pour la production d'ATP par la respiration. Cette voie métabolique implique l'entrée du lactate dans la cellule par le *monocarboxylate transporter 1* (MCT1), son oxydation en pyruvate catalysée par la lactate déshydrogénase (LDH), et l'oxydation finale du pyruvate par le cycle de Krebs dans les mitochondries. Le glucose, puisqu'il est épargné par les cellules tumorales oxydatives, est donc libre de diffuser jusqu'aux cellules tumorales glycolytiques où il est requis en abondance pour la production d'ATP par la glycolyse anaérobie. Il entre dans ces cellules par un *glucose transporter* (GLUT). Le lactate, produit final de la glycolyse, est ensuite exporté des cellules hypoxiques par le *monocarboxylate transporter 4* (MCT4) et peut donc diffuser le long de son gradient de concentration jusqu'aux cellules tumorales oxygénées qu'il nourrit. Il est possible d'enrayer la symbiose métabolique en utilisant un bloqueur de MCT1 tel que l'α-cyano-4-hydroxycinnamate (CHC). Par un réarrangement métabolique complexe, l'inhibition de MCT1 convertit les cellules tumorales auparavant oxydatives en cellules tumorales glycolytiques, utilisant donc le glucose abondamment sans plus avoir besoin d'oxygène. En conséquence, les cellules tumorales hypoxiques meurent par privation de glucose et les cellules tumorales restantes, complètement oxygénées, peuvent être éradiquées à leur tour par un traitement de chimio- ou de radiothérapie.

augmentation de l'oxygène disponible. Cette réoxygénation tumorale favorise l'efficacité de la radiothérapie puisque l'oxygène stabilise les dommages à l'ADN induits par les radiations ionisantes. Ainsi, la combinaison de l'inhibition de MCT1 (qui détruit les cellules hypoxiques résistantes à la radiothérapie) et de la radiothérapie (qui détruit les cellules oxygénées résistantes à l'inhibition de MCT1) permet d'inhiber la progression du processus cancéreux chez la souris. Une synergie équivalente peut être anticipée pour l'association inhibition de MCT1 et chimiothérapie.

L'inhibition de MCT1 est une stratégie particulièrement fiable d'élimination des cellules tumorales hypoxiques. Elle répond à un véritable besoin clinique puisque ces cellules sont à l'origine de la dissémination métastatique et responsables de la rechute de certains cancers après un traitement conventionnel. L'existence d'isoformes alternatives de MCT dans les tissus périphériques laisse anticiper une faible toxicité de cette nouvelle stratégie anticancéreuse [8-10]. ◊

Cancer: when recycling becomes a weakness

REMERCIEMENTS

Olivier Feron est Maître de Recherches et Pierre Sonveaux et Bénédicte Jordan sont Chercheurs Qualifiés du Fonds National de la Recherche Scientifique (F.R.S.-FNRS). Financement : F.R.S.-FNRS, Communauté française de Belgique (ARC 04/09-317), Région Wallonne de Belgique (programme NEOANGIO), Fondations J. Maisin et St Luc. Les recherches résumées ici ont été effectuées en collaboration avec l'équipe du Professeur Mark W. Dewhirst (Duke University, Caroline du Nord, USA).

RÉFÉRENCES

1. Harris AL. Hypoxia: a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002 ; 2 : 38-47.
2. Dang CV, Semenza GL. Oncogenic alterations of metabolism. *Trends Biochem Sci* 1999 ; 24 : 68-72.
3. Semenza GL, Artemov D, Bedi A, *et al.* 'The metabolism of tumours': 70 years later. *Novartis Found Symp* 2001 ; 240 : 251-60.
4. Sonveaux P, Vegran F, Schroeder T, *et al.* Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice. *J Clin Invest* 2008 ; 118 : 3930-42.
5. Warburg O. *The metabolism of tumors.* London : Constable, 1930 : 328 p.
6. Gallez B, Baudelet C, Jordan BF. Assessment of tumor oxygenation by electron paramagnetic resonance: principles and applications. *NMR Biomed* 2004 ; 17 : 240-62.
7. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000 ; 100 : 57-70.
8. Halestrap AP, Price NT. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochem J* 1999 ; 343 : 281-99.
9. Halestrap AP, Meredith D. The SLC16 gene family-from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflug Arch* 2004 ; 447 : 619-28.
10. Merezhinskaya N, Fishbein WN, Davis JI, *et al.* Mutations in MCT1 cDNA in patients with symptomatic deficiency in lactate transport. *Muscle Nerve* 2000 ; 23 : 90-7.

Le gène *ALK* (*anaplastic lymphoma kinase*), un nouvel acteur majeur dans le neuroblastome

Isabelle Janoueix-Lerosey, Olivier Delattre

Inserm U830, Génétique et Biologie des Cancers, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris, France.
Isabelle.Janoueix@curie.fr

Le neuroblastome, un cancer pédiatrique de gravité et d'évolution variables

Le neuroblastome (NB), cancer embryonnaire du système nerveux sympathique périphérique, est la tumeur solide extra cérébrale la plus fréquente de l'enfant [1]. Environ 150 nouveaux cas sont diagnostiqués par an en France. La plupart des NB sont des tumeurs très peu différenciées, constituées de cellules appelées « neuroblastes » issues de cellules dérivées de la crête neurale. Cette maladie se caractérise par une très grande variabilité clinique et évolutive. Certains patients présentent des tumeurs bien localisées, en général d'évolution favorable alors que d'autres sont touchés par une maladie d'emblée métastatique de pronostic le plus souvent très sévère, malgré des traitements extrêmement lourds [2]. La grande variabilité clinique du NB s'accompagne d'une variabilité génétique importante. Ainsi, l'identification des gènes et des mécanismes responsables de la survenue et/ou de la progression des NB constitue un enjeu majeur dans la compréhension et la prise en charge de cette pathologie pédiatrique.

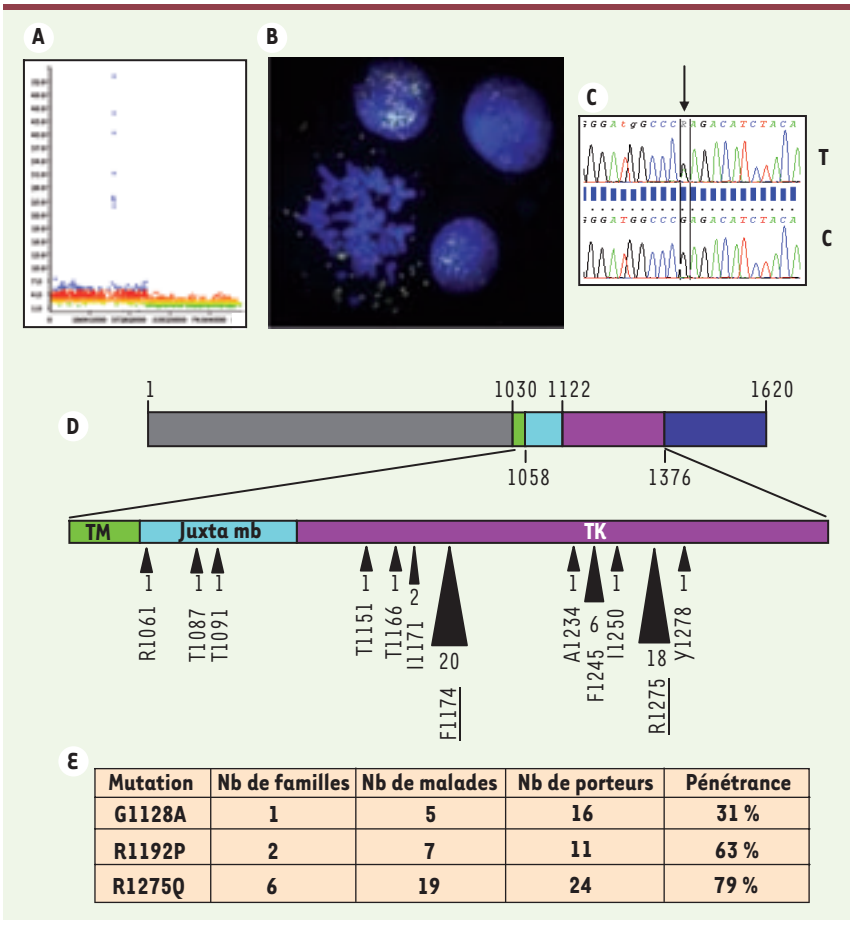
Bien que de nombreuses altérations chromosomiques spécifiques des NB aient été caractérisées au cours des dernières années, jusqu'il y a peu, un seul gène majeur, *MYCN,* avait été clairement identifié comme acteur essentiel du processus tumoral (ou gène *driver* de l'oncogenèse). L'amplification de cet oncogène, résultant en l'apparition de 10 à plus de 100 copies du gène, est observée dans 25 à 30 % des cas de NB. Ce marqueur génétique est un facteur de mauvais pronostic et il est pris en compte pour définir le traitement des jeunes patients.

Les NB surviennent très majoritairement dans un contexte sporadique. Néanmoins, l'existence de rares formes familiales de cette tumeur, ainsi que l'association de NB à d'autres pathologies affectant les cellules dérivées de la crête neurale, telles que la maladie de Hirschsprung ou le syndrome d'Ondine[1], permettait de suspecter l'existence d'un ou plusieurs gènes de prédisposition au NB [3]. En collaboration avec le groupe de Stanislas Lyonnet et Jeanne Amiel, nous avons pu identifier le gène *PHOX2B (paired-like homeobox 2b),* localisé en 4p, en tant que gène de prédisposition au NB. Néanmoins, ce gène n'expliquait pas l'ensemble des formes familiales de NB [4].

Mutations somatiques et germinales du gène *ALK* dans le NB

Récemment, la caractérisation des altérations génétiques dans une grande série de tumeurs primaires de NB (~ 500) à l'aide de puces à ADN nous a permis d'observer, entre autres, des amplifications du gène *ALK (anaplastic lymphoma kinase),* localisé en 2p23 *(Figure 1A* et *1B)* [5]. Au cours du développement, le gène *ALK*, qui code pour un récepteur à activité tyrosine kinase (RTK), est préférentiellement exprimé dans le système nerveux central et périphérique [6]. L'analyse des profils transcriptomiques de différents types de tumeurs pédiatriques a par ailleurs montré une expression préférentielle du gène *ALK* dans le NB. De nombreux RTK étant activés dans les cancers humains en réponse à l'amplification, à la translocation ou aux mutations des gènes correspondants, nous avons recherché des mutations du gène *ALK* par séquençage direct dans des lignées et dans des tumeurs primaires de NB. Nous avons identifié des mutations hétérozygotes et somatiques du gène *ALK* dans la partie codant le domaine tyrosine kinase, affectant le plus souvent les résidus F1174 et R1275 *(Figure 1C et 1D)* [7]. Des mutations constitutionnelles ont également été observées dans deux familles présentant plusieurs cas de tumeurs neuroblastiques, démontrant qu'*ALK* est un gène de prédisposition au NB. Nous avons pu montrer que les protéines ALK mutées étaient surexprimées dans les cellules de NB, hyperphosphorylées et présentaient une activité kinase constitutive, démontrant donc le caractère activateur des mutations. L'extinction de ALK dans des cellules de NB à l'aide d'un shARN résulte en une très forte inhibition de la prolifération cellulaire. Cette inhibition est observée non seulement dans les cellules

[1] Maladie de Hirschsprung : absence congénitale de ganglions parasympathiques au niveau des plexus sous-muqueux et myentérique d'un segment de longueur variable du côlon. Il en résulte une paralysie intestinale, se traduisant généralement par une occlusion fonctionnelle, parfois simplement par une constipation importante. *Syndrome d'Ondine* (ou hypoventilation alvéolaire congénitale) : caractérisé par une absence congénitale du contrôle central de la respiration et une atteinte diffuse du système nerveux autononome. L'incidence est rare (1/200 000 naissances), la maladie est de transmission autosomale dominante, et une mutation hétérozygote de *PHOX2B* est présente dans 90 % des cas.



E

Mutation	Nb de familles	Nb de malades	Nb de porteurs	Pénétrance
G1128A	1	5	16	31 %
R1192P	2	7	11	63 %
R1275Q	6	19	24	79 %

Figure 1. ***Altérations du gène ALK dans le neuroblastome.*** ***A.*** Amplification focale du gène *ALK* (*anaplastic lymphoma kinase*) détectée par CGH-array (puce Affymetrix SNP 50K) dans une tumeur de neuroblastome (NB). Ordonnée : nombre de copies ; abscisse : position des SNP sur le bras court du chromosome 2. ***B.*** Amplification du gène *ALK* détectée par FISH (*fluorescent in situ hybridization*) dans une lignée de NB à l'aide de deux sondes de couleurs différentes. ***C.*** Exemple de mutation du gène *ALK*. Une transition CGA>CAA dans l'exon 25 aboutit à une substitution R1275Q, ce résidu étant localisé dans une région cruciale (*activation loop*) du domaine kinase de la protéine (T : ADN tumoral ; C : ADN constitutionnel). ***D.*** Structure de la protéine ALK et distribution des mutations observées dans les formes sporadiques de NB. La protéine ALK est un récepteur transmembranaire comportant 1620 acides aminés. En gris : région extracellulaire ; en vert, domaine transmembranaire (TM) ; en bleu clair, domaine juxta-membranaire (juxta mb) ; en violet, domaine tyrosine kinase (TK) ; en bleu sombre, partie carboxy-terminale. Cinq publications rapportent 54 mutations parmi 680 tumeurs sporadiques analysées affectant 12 résidus différents. Le nombre de mutations affectant un résidu donné est indiqué sous chaque flèche. Deux *hotspots* de mutations sont observés en position 1174 et 1275. ***E.*** Mutations constitutionnelles du gène *ALK* rapportées dans des familles présentant plusieurs cas de NB. La pénétrance indiquée correspond à une évaluation maximale, l'ensemble des individus des familles étudiées n'ayant pas été exploré. Le nombre (Nb) de porteurs de la mutation est donc potentiellement sous-évalué.

présentant une mutation de *ALK*, mais aussi dans des cellules ne l'exprimant pas, suggérant que des mécanismes distincts concourent à une activation de ALK.

Plusieurs autres équipes ont également identifié des amplifications et des mutations activatrices du gène *ALK* dans le NB. Une analyse de liaison génétique effectuée par le groupe de J. Maris à partir de 20 familles de NB a révélé que la région 2p23-2p24, contenant une centaine de gènes dont *MYCN* et *ALK*, était liée à la prédisposition familiale [8]. Le séquençage systématique a ensuite permis de mettre en évidence des mutations germinales du gène *ALK* dans 8 des 20 familles explorées ainsi que des mutations somatiques dans des formes sporadiques. Les équipes de S. Ogawa et T. Look rapportent également des mutations somatiques de ce gène et démontrent le caractère transformant des protéines ALK mutées dans un système cellulaire utilisant des cellules NIH3T3 ou Ba/F3, respectivement [9, 10]. Ces trois groupes démontrent également une diminution de la prolifération cellulaire des lignées de NB en réponse à l'inhibition de la protéine ALK induite pharmacologiquement ou par des siARN. Alors que dans notre série, les mutations du gène *ALK* ne semblent pas survenir préférentiellement dans les formes les plus agressives de la maladie, les équipes de J. Maris, et S. Ogawa, ainsi que le groupe de T. Martinsson [11] décrivent une fréquence plus élevée dans les stades 3 ou 4 de la maladie. Au total, les cinq publications indiquent une fréquence de mutations ponctuelles de l'ordre de 8 % dans les tumeurs sporadiques de NB, ces mutations affectant 12 résidus localisés très majoritairement dans le domaine kinase *(Figure 1D)*. Ces travaux rapportent par ailleurs des amplifications du gène *ALK*, évaluées par CGH-array ou FISH (*fluorescent in situ hybridization),* dans environ 4 % des tumeurs analysées (43 cas parmi 1 184). La majorité des cas avec amplification du gène *ALK* présente également une amplification de l'oncogène *MYCN*. En ce qui concerne les formes familiales, trois mutations constitutionnelles ont été décrites à ce jour. La pénétrance de ces mutations semble variable mais néanmoins incomplète du fait que certains individus porteurs de

la mutation demeurent asymptomatiques *(Figure 1E)*. Par ailleurs, dans les familles que nous avons décrites [7], les individus atteints présentent des NB d'agressivité variable, ce qui n'est pas sans rappeler la prédisposition liée aux mutations du gène *PHOX2B*. Le groupe de J. Maris ne précise pas le type de NB affectant les individus malades dans les familles étudiées [8].

Conclusion

Alors que chez l'adulte, plusieurs oncogènes prédisposant à des maladies cancéreuses ont été identifiés dans des tumeurs familiales (par exemple *KIT* et *PDGFRA - platelet derived growth factor receptor type A-* dans les tumeurs gastro-intestinales stromales, *RET* dans les néoplasies endocrines multiples de type 2 et *MET* dans les carcinomes papillaires du rein [12]), le gène *ALK* constitue le premier exemple de gène dont des mutations activatrices germinales prédisposent à un cancer pédiatrique. Des altérations du gène *ALK* avaient déjà été décrites dans d'autres cancers humains tels que les lymphomes anaplasiques à grandes cellules, les tumeurs myofibroblastiques inflammatoires et certains cancers du poumon [6]. Dans ces néoplasies, des translocations chromosomiques spécifiques fusionnent le domaine à activité tyrosine kinase d'ALK à des partenaires variés. Il en résulte une dimérisation et une activation constitutive de la protéine de fusion mettant en jeu plusieurs voies de signalisation et aboutissant à des perturbations de la prolifération et de la survie cellulaires. Les voies de signalisation mises en jeu dans le NB suite à l'activation de la protéine ALK complète restent à caractériser *(Figure 2)*. Des petites molécules inhibant le récepteur ALK activé et permettant de ralentir la multiplication des cellules tumorales ont d'ores et déjà été développées et testées *in vitro* sur des cellules cancéreuses autres que le NB et impliquant ALK, et certaines font l'objet d'essais cliniques. Nos résultats, ainsi que ceux de la littérature, suggèrent que de tels inhibiteurs pourraient également être utilisés chez les patients atteints de NB, en complément des traitements actuels. Une telle thérapie ciblée représente un réel espoir dans le traitement des NB, en particulier dans le cas des formes métastatiques agressives dont le pronostic reste encore très sombre à ce jour. ◊

***ALK*, a key gene in the pathogenesis of neuroblastoma**

RÉFÉRENCES

1. Brodeur GM. Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. *Nat Rev Cancer* 2003 ; 3 : 203-16.
2. Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R, Cohn SL. Neuroblastoma. *Lancet* 2007 ; 369 : 2106-20.
3. Tonini GP, Longo L, Coco S, Perri P. Familial neuroblastoma: a complex heritable disease. *Cancer Lett* 2003 ; 197 : 41-5.
4. Trochet D, Bourdeaut F, Janoueix-Lerosey I, *et al.* Germline mutations of the paired-like homeobox 2B (PHOX2B) gene in neuroblastoma. *Am J Hum Genet* 2004 ; 74 : 761-4.
5. Fix A, Lucchesi C, Ribeiro A, *et al.* Characterization of amplicons in neuroblastoma: high-resolution mapping using DNA microarrays, relationship with outcome, and identification of overexpressed genes. *Genes Chromosomes Cancer* 2008 ; 47 : 819-34.
6. Chiarle R, Voena C, Ambrogio C, *et al.* The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 11-23.
7. Janoueix-Lerosey I, Lequin D, Brugieres L, *et al.* Somatic and germline activating mutations of the ALK kinase receptor in neuroblastoma. *Nature* 2008 ; 455 : 967-70.
8. Mosse YP, Laudenslager M, Longo L, *et al.* Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008 ; 455 : 930-5.
9. Chen Y, Takita J, Choi YL, *et al.* Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. *Nature* 2008 ; 455 : 971-4.
10. George RE, Sanda T, Hanna M, *et al.* Activating mutations in ALK provide a therapeutic target in neuroblastoma. *Nature* 2008 ; 455 : 975-8.
11. Caren H, Abel F, Kogner P, Martinsson T. High incidence of DNA mutations and gene amplifications of the ALK gene in advanced sporadic neuroblastoma tumours. *Biochem J* 2008 ; 416 : 153-9.
12. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004 ; 10 : 789-99.

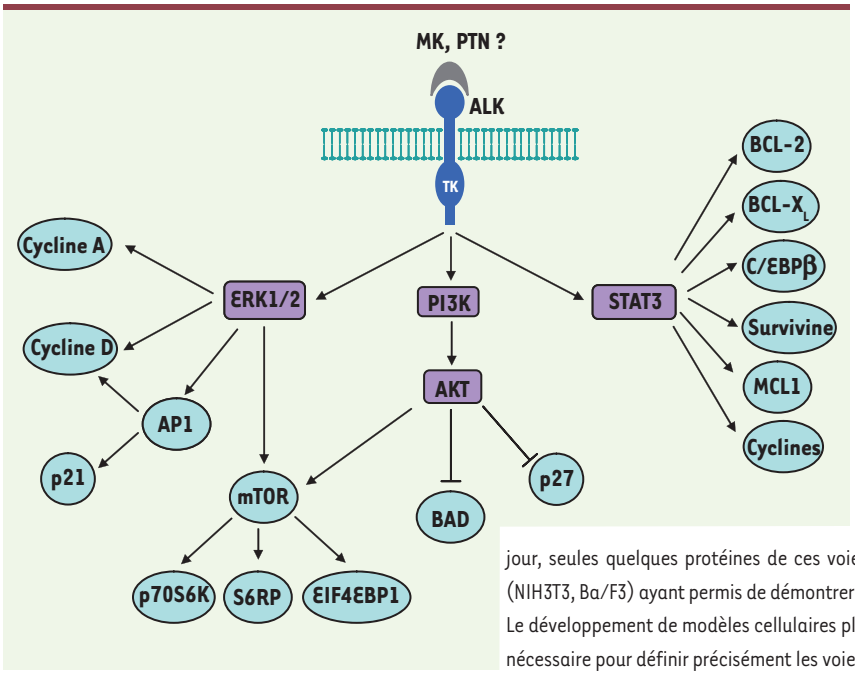


Figure 2. ***Voies de signalisation potentiellement mises en jeu par le récepteur ALK.*** La nature du ou des ligands capable(s) d'activer le récepteur ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) reste encore controversée. Néanmoins, la midkine (MK) et la pléiotrophine (PTN), deux facteurs de croissance dont l'expression est régulée au cours du développement, ont été décrites comme des ligands potentiels de ALK chez les mammifères [6]. L'activation des voies de signalisation impliquant les protéines ERK1/2, PI3K et STAT3 a été démontrée dans le cas de la fusion oncogénique NPM (*nucleophosmin*)-ALK, fréquemment observée dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules. Ces voies sont potentiellement régulées par la protéine ALK entière activée par mutation dans le neuroblastome. À ce jour, seules quelques protéines de ces voies ont été analysées dans les systèmes hétérologues (NIH3T3, Ba/F3) ayant permis de démontrer le caractère transformant des mutations du gène *ALK*. Le développement de modèles cellulaires plus pertinents dans le contexte du neuroblastome sera nécessaire pour définir précisément les voies de signalisation mises en jeu par le récepteur ALK.

Des cellules souches embryonnaires humaines pour la thérapie cellulaire de la maladie de Huntington

Laetitia Aubry, Marc Peschanski, Anselme L. Perrier

Inserm/UEVE UMR-861, I-STEM, AFM, Institut des cellules Souches pour le Traitement et l'Étude des maladies Monogéniques, 5, rue Henri Desbruères, 91030 Évry Cedex, France.
aperrier@istem.genethon.fr

Limitations actuelles d'une thérapie cellulaire de la maladie de Huntington

Comment passer d'une thérapie cellulaire expérimentale qui donne une preuve de concept à une thérapeutique offerte à tous les patients qui pourraient en bénéficier, voilà la question à laquelle nous nous sommes attaqués en identifiant les conditions dans lesquelles des cellules dérivées de lignées de cellules souches embryonnaires (CSE) pourraient être substituées aux précurseurs neuraux prélevés chez des fœtus issus d'IVG (interruption volontaire de grossesse) que l'on greffe aujourd'hui chez des patients atteints de la maladie de Huntington. La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative d'origine génétique. Elle se caractérise par une atteinte préférentielle des neurones GABAergiques moyens épineux (MSN) du striatum, une structure cérébrale impliquée dans la régulation des fonctions motrices, cognitives et comportementales. La MH se déclare généralement entre 30 et 50 ans et conduit inéluctablement à la mort des patients en 10 à 20 ans. S'il n'existe encore à ce jour aucun traitement curatif de cette pathologie, une stratégie de thérapie cellulaire qui repose sur la transplantation intracérébrale de neuroblastes fœtaux issus du télencéphale ventral (région du cerveau en développement à l'origine du striatum) a permis, depuis une dizaine d'années, d'obtenir des améliorations cliniques notables lors d'essais cliniques impliquant à ce jour plusieurs dizaines de patients [1, 2]. Malgré des résultats encourageants, l'extension de cette thérapie substitutive se heurte à des obstacles aujourd'hui incontournables car inhérents à l'accès même aux cellules chez des donneurs que l'on ne peut atteindre qu'au prix d'une logistique très lourde, rétive à la standardisation et limitante en ce qui concerne les possibilités de contrôle de la qualité des produits. La mise en œuvre à grande échelle de la thérapie cellulaire de la maladie de Huntington nécessite donc l'identification d'une nouvelle source cellulaire permettant de s'affranchir de ces problèmes liés aux tissus fœtaux, tout en procurant des résultats au moins aussi efficaces que ces derniers. Comme pour plusieurs autres indications dans des maladies dégénératives touchant des organes divers, les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) apparaissent ici comme des candidates particulièrement intéressantes du fait de leurs deux propriétés cardinales, l'autorenouvellement - qui assure l'obtention d'une biomasse suffisante, quelle qu'elle soit - et la pluripotence, qui donne accès par différenciation *in vitro* à n'importe quel phénotype cellulaire [3, 9]. La maîtrise de ces deux propriétés est l'enjeu de toutes les recherches entreprises aujourd'hui pour amener les CSEh aux patients, et notre récente étude [4] démontre que cela est envisageable dans le contexte d'une approche de thérapie substitutive expérimentale de la MH.

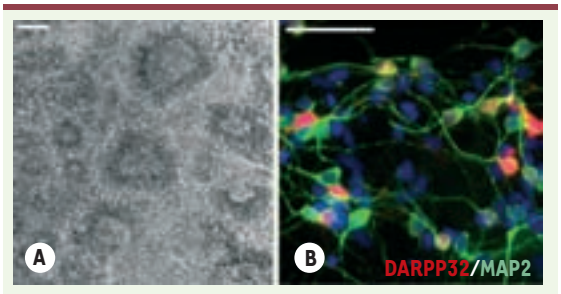


Figure 1. ***Différenciation des cellules souches embryonnaires humaines en neurones striataux. A.*** Photo en microscopie à contraste de phase d'une colonie de cellules neurales organisées en rosettes après 23 jours de culture sur une monocouche de cellules stromales MS5. ***B.*** Après environ 62 jours de différenciation, près de 53% des neurones MAP2+ (en vert) expriment la protéine striatale DARPP32 (en rouge). Barres d'échelle : 100 µm.

Différenciation des CSEh en neurones du striatum *in vitro*

La première étape en vue de cette utilisation thérapeutique des CSEh est l'élaboration d'un protocole permettant d'orienter la différenciation de ces cellules vers un phénotype pertinent, dans notre cas celui des neurones striataux. Le protocole de différenciation striatale *in vitro* des CSEh repose sur la réplication d'une succession de trois étapes essentielles de l'ontogenèse : 1- l'induction neurale, 2- l'expansion et la spécification des précurseurs neuraux vers le phénotype striatal, et 3- la différenciation terminale de ces progéniteurs en neurones striataux. La première étape est fondée sur la culture des CSEh avec des cellules stromales

de moelle osseuse (MS5) comme cela a déjà été décrit [5]. Cette méthode d'induction neurale permet la production en une vingtaine de jours de cellules neuroépithéliales organisées en structures circulaires caractéristiques, appelées rosettes neurales *(Figure 1A)*. Ces cellules expriment des marqueurs neuraux tels que la protéine associée aux filaments intermédiaires Nestine, ou encore les facteurs de transcription Pax6 et Sox1. Elles sont également caractérisées par l'expression du facteur de transcription *BF1*, spécifique du télencéphale. La deuxième étape vise à diriger le phénotype de ces cellules neuroépithéliales vers celui de populations cellulaires du télencéphale ventral, ce que nous avons réalisé grâce à deux cytokines, SHH (*sonic hedgehog*) et DKK1 (dickkopf 1, un inhibiteur de la voie de signalisation Wnt). Au cours de la neurogenèse chez la souris, la voie Shh et la voie Wnt ont des actions antagonistes qui participent respectivement à la ventralisation et à la dorsalisation du télencéphale [6, 7]. L'ajout de Shh et Dkk1 a, de plus, permis la production, à partir de cellules ES de souris, de populations cellulaires enrichies en cellules du télencéphale ventral [8]. Sous l'action combinée des molécules SHH et DKK1, nous avons pu observer une augmentation significative de l'expression des facteurs de transcription spécifiques du télencéphale ventral (*GSH2* et *DLX2*), traduisant l'enrichissement des populations neurales dérivées de CSEh en progéniteurs striataux. La troisième étape, qui aboutit à la différenciation terminale de ces populations cellulaires « enrichies » en progéniteurs striataux, a été obtenue en diminuant la densité cellulaire des culture en présence de BDNF (*brain-derived neurotrophic factor),* d'AMPc et d'acide valproïque. Cela permet d'engendrer de très nombreux neurones post-mitotiques qui possèdent des caractéristiques phénotypiques de MSN. Après environ 60 jours de culture plus de la moitié des neurones matures (positifs pour protéine MAP2, *microtubule-associated protein 2*) expriment la protéine DARPP-32 (*dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein MR = 32 000*), une protéine fortement et spécifiquement exprimée par les MSN *(Figure 1B)* et plus d'un tiers produisent du GABA (acide gamma-aminobutyrique).

Maturation des populations neuronales dérivées de CSEh *in vivo*

Nous avons ensuite étudié la survie et la maturation de ces cellules *in vivo*, après leur transplantation dans le cerveau de rats modèles de la MH. Une première série d'expériences à court terme (4 à 6 semaines) nous a permis de démontrer que la greffe de populations neurales très immatures (différenciées en moins de 21 à 29 jours) a conduit dans de très nombreux cas à la formation de tératomes. À l'inverse, des populations de progéniteurs neuronaux différenciés pendant 45 à 56 jours *in vitro* procurent les résultats les plus intéressants en termes de survie, de maturation striatale *in vivo*, et d'absence de formation de tératome. Des expériences à long terme (3 à 5 mois) de xénogreffe de ces progéniteurs ont mis en évidence la présence au sein du greffon de larges zones constituées de neurones humains ayant un phénotype de MSN (DARPP-32+/ HNA+, *human nuclear antigen*) *(Figures 2A et 2B)*. Ce résultat démontre le fort potentiel de différenciation *in vivo* des progéniteurs striataux dérivés de CSEh. Cependant, ces expériences ont également révélé un processus de prolifération excessive des cellules implantées qui nécessite l'élaboration de mesures préventives. À partir de deux mois après transplantation, les greffons striataux issus des CSEh occupent *in vivo* un espace important, très supérieur à celui du striatum, comprimant ainsi les hémisphères cérébraux *(Figure 2C)*. Les analyses histologiques et immunohistochimiques n'ont révélé ni la formation de tératome, ni la présence de CSEh indifférenciées. En revanche, tous les greffons contiennent des régions composées de cellules neurales (Nestine+ et Pax6+) en phase de prolifération (Ki67+) *(Figure 2D)*. Ces régions « prolifératives » et celles contenant des neurones DARPP-32 sont distinctes et n'adoptent pas d'organisation ou de localisation préférentielle. Il ne semble pas que cette activité proliférative qui perdure après transplantation soit liée à des anomalies moléculaires ou fonctionnelles de la

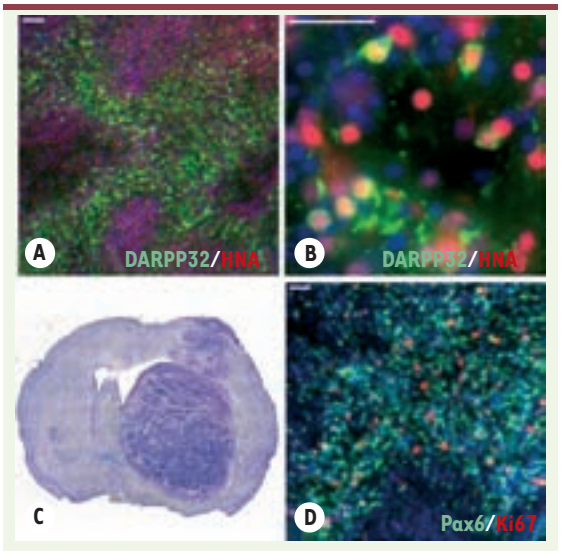


Figure 2. ***Greffes de progéniteurs neuraux dérivés de CSEh chez le rat.*** Étude de la survie et de la maturation de greffons composés de CSEh dont la différenciation est induite pendant 45 jours *in vitro*, 3 à 5 mois après transplantation dans des rats modèles de la MH. ***(A et B)*** Détection de larges zones constituées de neurones humains (HNA+, en rouge) exprimant la protéine DARPP32 (en vert). (***C*** et ***D***) Marquage au crésyl violet d'une coupe coronale d'un cerveau de rat 3 mois après greffe ***(C)*** et immunohistochimie du marqueur de cellules neurales Pax6 et du marqueur de prolifération Ki67 ***(D)*** illustrant un greffon très volumineux constitué de cellules neurales prolifératives persistantes, 3 à 5 mois après transplantation. Barres d'échelle : 100 µm.

descendance des CSEh et les analyses que nous avons conduites suggèrent qu'il s'agit plutôt des conséquences de l'activité prolifératives normale des précurseurs neuraux que nous transplantons. En effet, les cellules de la zone germinative de l'éminence ganglionnaire latérale qui donne naissance au striatum fournissent également, dans les mois qui suivent, les interneurones corticaux et des vagues considérables en nombre de cellules gliales, d'astrocytes et d'oligodendrocytes. Il est vraisemblable que l'excès de croissance observé soit donc simplement le reflet de cette chronobiologie normale à laquelle, toutefois, nous devrons nous opposer pour réussir le traitement des patients MH.

En conclusion, notre étude démontre qu'il est possible, à partir de cellules souches embryonnaires humaines, de produire en laboratoire et en quantité pertinente pour une utilisation thérapeutique, des populations de cellules neurales enrichies en progéniteurs capables de se différencier en neurones striataux moyen-épineux aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Cela donne une nouvelle arme à la thérapie cellulaire de la MH, susceptible de surmonter les obstacles logistiques qui en bloquent aujourd'hui l'extension. Cependant, la maîtrise de la capacité proliférative des cellules transplantées reste insuffisante, appelant à la mise en place de mesures de contrôle parfaitement efficaces avant d'envisager toute application clinique. ◊

Human embryonic stem cell derived striatal graft for Huntington's disease cell therapy

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par : MediCenParis Region (programme IngeCell), FP6 de l'EC (STEM-HD). Le Genopole, l'Association Huntington France et la Fédération Huntington Espoir. L.A est financée par la Fondation pour la Recherche Médicale (Prix Pomaret Delalande 2006)

RÉFÉRENCES

1. Bachoud-Levi AC, Remy P, Nguyen JP, *et al.* Motor and cognitive improvements in patients with Huntington's disease after neural transplantation. *Lancet* 2000 ; 356 : 1975-9.
2. Bachoud-Levi AC, Gaura V, Brugieres P, *et al.* Effect of fetal neural transplants in patients with Huntington's disease 6 years after surgery: a long-term follow-up study. *Lancet Neurol* 2006 ; 5 : 303-9.
3. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 ; 282 : 1145-7.
4. Aubry L, Bugi A, Lefort N, *et al.* Striatal progenitors derived from human ES cells mature into DARPP32 neurons in vitro and in quinolinic acid-lesioned rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 16707-12.
5. Perrier AL, Tabar V, Barberi T, *et al.* Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 :12543-8.
6. Ericson J, Muhr J, Placzek M, *et al.* Sonic hedgehog induces the differentiation of ventral forebrain neurons: a common signal for ventral patterning within the neural tube. *Cell* 1995 ; 81 : 747-56.
7. Backman MM, Machon O, Mygland L, *et al.* Effects of canonical Wnt signaling on dorso-ventral specification of the mouse telencephalon. *Dev Biol* 2005 ; 279 : 155-68.
8. Watanabe K, Kamiya D, Nishiyama T, *et al.* Directed differentiation of telencephalic precursors from embryonic stem cells. *Nat Neurosci* 2005 ; 8 : 288-96.
9. Fluckiger AC, Dehay C, Savatier P. Cellules souches embryonnaires et thérapies cellulaires du système nerveux. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 699-708.

NOUVELLE

Un apport du modèle *C. elegans* sur le rôle des cellules gliales envers la réponse neuronale

Raphael Vazquez, Nicolas Offner, Christian Néri

Laboratoire de Biologie et Pathologie du Neurone, Centre de Psychiatrie et de Neurosciences, Inserm U894, 2ter, rue d'Alesia, 75014 Paris, France.
christian.neri@inserm.fr

› La glie est une population de cellules non neuronales qui procure bien plus qu'un soutien logistique aux neurones. Parmi leurs nombreuses fonctions, les cellules gliales fournissent un support physique, maintiennent l'homéostasie et procurent des nutriments ; elles forment également la myéline qui isole les axones et surtout participent à la transmission des signaux dans le système nerveux. Malgré cela, le rôle de la glie dans les organes sensoriels n'est pas clairement établi. Appréhender la fonction de la glie dans ces organes est d'un grand intérêt pour la compréhension de son rôle dans le cerveau humain, et pourrait avoir un impact en médecine. Il a en effet été montré que certaines cellules gliales d'origine sensorielle sont capables de promouvoir la régénération nerveuse chez des rats paraplégiques [1]. Ces cellules constituent donc une voie de traitement possible de la paraplégie chez l'homme. Dans leur article publié dans la revue *Science*, Bacaj *et al.* [2] montrent que les cellules gliales du nématode *C. elegans* sont un bon modèle d'étude de la fonction de ces cellules. Les organes sensoriels d'espèces différentes présentant des similitudes structurales, fonctionnelles et moléculaires, ces auteurs ont étudié les plus grands organes sensoriels du nématode, les amphides.

Ablation de la cellule gliale des amphides

Les amphides sont l'organe chémosensoriel principal du nématode, mais transmettent également des informations tactiles et thermiques. Elles constituent une paire de sensilles sur la tête, chacune contenant 12 neurones qui envoient des dendrites vers la partie antérieure du nématode *(Figure 1)*. Les neurones

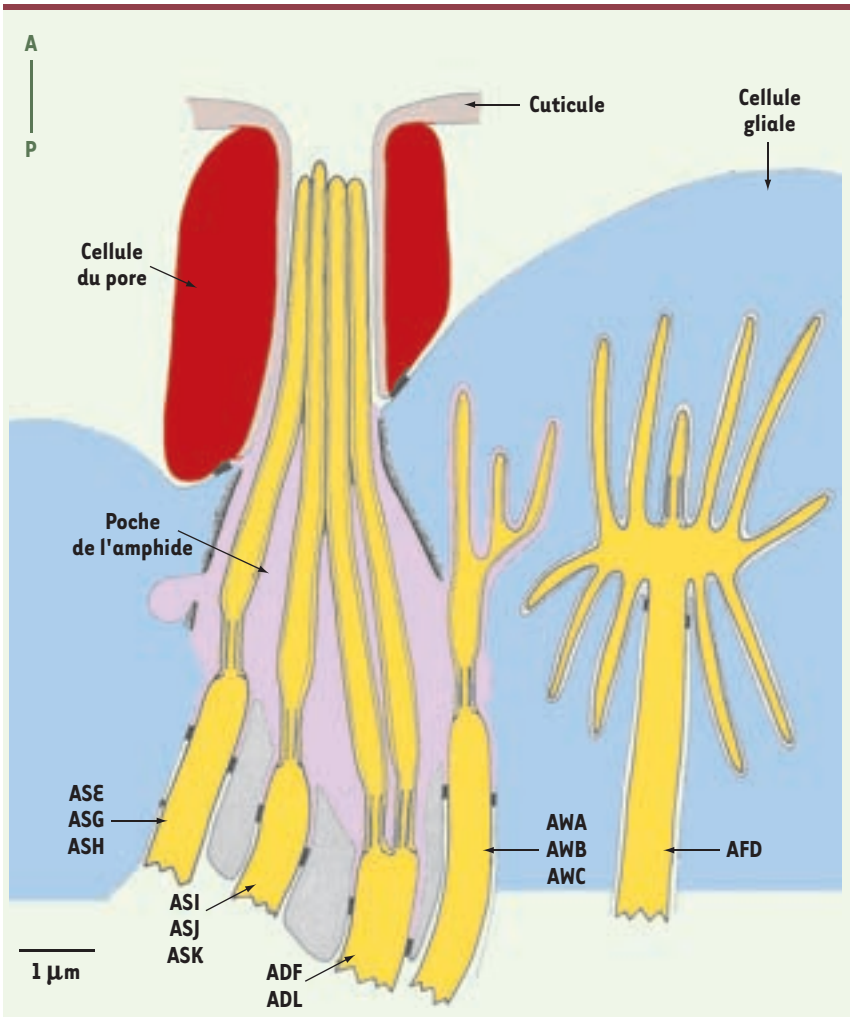


Figure 1. ***Structure qui décrypte le rôle de l'ouverture dans l'amphide*** (adapté de [5]).

de chaque amphide sont entourés d'une seule cellule gliale. Huit de ces neurones ont leurs dendrites exposées à l'environnement extérieur par un pore, les dendrites restantes se terminant à l'intérieur de la cellule gliale. Pour comprendre le rôle des cellules gliales dans le développement et la physiologie des neurones, les auteurs ont procédé à l'ablation de la cellule gliale de l'amphide, par élimination laser ou par expression localisée de la toxine diphtérique. Une observation importante issue de ces expériences est que la survie des neurones n'est pas compromise par l'ablation de la cellule gliale. L'observation est originale car dans d'autres modèles, l'ablation de la glie entraîne la mort neuronale. Ce modèle d'ablation dans l'amphide du nématode permet donc aux auteurs d'analyser la biologie du neurone dépourvu de sa glie. Ils montrent ainsi que l'ablation de la glie affecte la morphologie et la sensibilité de la plupart des neurones de l'amphide et que le comportement du nématode s'en trouve modifié.

Ainsi, si les terminaisons dendritiques des trois neurones de l'amphide, AWA, AWB et AWC sont incorporées dans la cellule gliale, l'absence de cette cellule altère la réponse chémotactique des neurones AWA et AWC mais pas celle du neurone AWB, qui reste intacte. Chez les animaux dont la cellule gliale a été éliminée, ces trois neurones ont un même environnement extracellulaire. Comme le neurone AWB est le seul qui reste capable de répondre, cela signifie que la cellule gliale participe à l'intégration des signaux environnementaux pour les deux autres neurones AWA et AWC. La question est donc posée d'un rôle plus général des cellules gliales, qui pourraient modifier la fonction de certains neurones. Un autre exemple intéressant chez les animaux privés de cellules gliales est la perte dans le neurone ASH de la réponse calcique au stress osmotique, en dépit de la présence de la machinerie protéique nécessaire à cette réponse, ce qui suggère une contribution de la cellule gliale à la sensibilité à l'osmolarité. Toutes ces expériences indiquent que les cellules gliales sont requises pour la sélection, le traitement et la transmission des signaux neuronaux.

Gènes candidats de la glie intervenant dans la modulation de la réponse neuronale

Les auteurs ont recherché les gènes qui sont exprimés dans la glie et qui pourraient moduler la réponse neuronale. Une analyse du transcriptome leur a permis d'identifier 298 transcrits spécifiquement enrichis dans la glie. À l'aide de tests d'interférence ARN, les auteurs ont identifié *fig-1*, qui présente des domaines homologues aux thrombospondines et qui permettrait d'internaliser le DiI (un colorant internalisé par les neurones de l'amphide). Les nématodes mutants pour *fig-1* ne peuvent internaliser le DiI et, même si leur morphologie neuronale est normale, le comportement d'évitement de certaines substances par les nématodes (un comportement contrôlé par les neurones des amphides) s'en trouve perturbé. Ainsi FIG-1, et vraisemblablement d'autres protéines, jouent un rôle dans le contrôle du comportement et de la physiologie des neurones par les cellules gliales. Comme les auteurs le discutent, les thrombospondines sécrétées par les astrocytes ont une fonction importante au niveau des synapses [3]. L'extrémité des neurones sensoriels partage certaines caractéristiques structurales et moléculaires avec les synapses

[4], et les auteurs font l'hypothèse que les analogies entre synapse et « synapses sensorielles » reflètent une vraie homologie.

Cette étude élégante souligne et clarifie le rôle des cellules gliales dans le système nerveux. En s'appuyant sur la simplicité du modèle amphide, les auteurs montrent que la cellule gliale permet d'accroître la spécificité et la sensibilité des neurones sensoriels, alors que ces neurones restent indépendants de la glie d'un point de vue trophique. Cette situation reflète vraisemblablement une fonction ancestrale des cellules gliales dans la discrimination et l'analyse d'un signal neural. ◊

A contribution *C. elegans* model on the role of glial cells to the neuronal response

RÉFÉRENCES

1. Ramón-Cueto A, Cordero MI, Santos-Benito FF, Avila J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000 ; 25 : 425-35.
2. Bacaj T, Tevlin M, Lu Y, Shaham S. Glia are essential for sensory organ function in *C. elegans*. *Science* 2008 ; 322 : 744-7.
3. Christopherson KS, Ullian EM, Stokes CC, *et al.* Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell* 2005 ; 120 : 421-33.
4. Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, *et al.* Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature* 2008 ; 452 : 1002-6.
5. Perkins LA, Hedgecock EM, Thomson JN, Culotti JG. Mutant sensory cilia in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 1986 ; 117 : 456-87.

NOUVELLE

Maladies neurodégénératives et diabète

Corinne Lautier, Florin Grigorescu

C. Lautier : Inserm U679, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France.
Adresse actuelle : Université Montpellier 2, Laboratoire MMDN, Inserm U710, Bâtiment 24, CC105, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5, France.
Corinne.Lautier@univ-montp2.fr
F. Grigorescu : Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire, IURC (UMR 204), Université Montpellier I, Montpellier, France.

› Compte tenu du vieillissement continu de la population, et de l'augmentation de la prévalence du diabète sucré et des maladies neurodégénératives, on peut s'interroger sur une relation possible entre l'action de l'insuline ou des IGF (*insulin-like growth factor*) et le déterminisme des maladies neurodégénératives dont les représentants majeurs sont la maladie d'Alzheimer (MA) et la maladie de Parkinson (MP). Les interactions entre l'insuline et le système nerveux ont été ignorées pendant de nombreuses années. Ce n'est que grâce aux expériences récentes d'invalidation - dans les tissus nerveux - des gènes codant pour les récepteurs de l'insuline (RI) et de l'IGF-1 (R-IGF-1) que la conception classique d'un cerveau insensible à l'insuline a été remise en question [1].

Expression de l'insuline, des IGF et de leurs récepteurs dans le système nerveux

De nombreuses observations se sont accumulées montrant que les RI s'expriment dans les cellules neuronales et gliales de plusieurs régions du système nerveux central - les bulbes olfactifs, l'hippocampe, l'hypothalamus, la *substantia nigra* et le cortex [2, 3]. Si les effets métaboliques sur le cerveau sont moins importants, le transport du glucose dépendant également de la distribution régionale des transporteurs GLUT4 et GLUT8, les effets de l'insuline sur la mémoire, l'apprentissage et le comportement alimentaire ont reçu une attention particulière ces dernières années [2].

Les mécanismes impliqués dans ces effets demeurent complexes. Par exemple, au niveau de l'hypothalamus, l'insuline serait capable de réguler la sécrétion des neuropeptides NPY, POMC (pro-opiomélanocortine), AgRP (*agouti-related protein*) et CART (*cocaine-amphetamine-related transcript*) en synergie avec les effets de la leptine [3]. Au niveau post-synaptique, elle moduleraient l'action des neurotransmetteurs (acétylcholine et noradrénaline) et le recrutement des récepteurs de type $GABA_A$ [3]. Cependant, le mécanisme le plus intéressant concerne les effets de l'insuline et des IGF sur la différenciation, la survie et la régénération neuronales [4]. En effet, *in vitro,* les IGF stimulent la croissance des neurites de cellules de neuroblastome. Les IGF participent également à la régénération des neurones moteurs ou sensitifs. Lors d'une lésion expérimentale (pression sur le nerf sciatique par exemple), la régénération axonale qui en résulte s'accompagne d'une surexpression des IGF dans les cellules de Schwann. Le fait que l'application locale d'IGF-1 ou d'IGF-2 améliore la régénération des nerfs sensitifs suggère le rôle physiologique de ces molécules. Cela concorde avec l'observation que les cellules neuronales ainsi que les axones et les terminaisons nerveuses expriment les récepteurs des IGF et que ces hormones peuvent pénétrer dans l'espace péri-neuronal par les capillaires fenestrés [4]. Les effets des IGF et de l'insuline s'entrecroisent au niveau cellulaire, grâce notamment à leurs homologies de structure. En effet, les RI et les R-IGF appartiennent à une famille de protéines homologues possédant une

	Insuline	IGF-1	RI[a]		R-IGF-1[b]	*Grb10*[c]	*GIGYF2*[d]
Chromosome	11p15.5	12q22-q23	19p13.3-p13.2		15q26.3	7p12-p11.2	2q36-q37
Maladie (syndrome)	Diabète de type 2	Retard de croissance	Lépréchaunisme (Donohue)	Syndrome de Type A	Retard de croissance	Silver-Russell	Parkinson
OMIM	125853	608747	246200	147670	147370	601523	168600
Résistance à l'insuline	Modérée	-	Sévère	Sévère	-	Modérée	ND
Acanthosis Nigricans	-	-	+	+	-	-	ND
Hypoglycémie	-	-	+[e]	-	-	+	ND
Hyperglycémie	+	+	+	+	+	-	ND
Obésité	+		-	-	-	-	ND
RCIU[f]	-	+	+	-	+	+	ND
Retard de croissance post-natal	-	+	+	-	+	+	ND
Retard mental Trouble du comportement MNG	±	±	±	±	±	++	++

Tableau I. ***Maladies associées à des mutations pathogènes des gènes impliqués dans la cascade de signalisation de l'insuline et de l'IGF-1.*** (http://www.orphanet.com). a : récepteur de l'insuline ; b : récepteur de l'IGF-1 ; c : *growth factor receptor-bound protein* 10 ; d : *Grb-10 interacting GYF protein 2* ; e : hypoglycémie à jeun ; f : retard de croissance intra-utérin ; ND : non déterminé lors de nos travaux détaillés dans [10].

activité tyrosine kinase. L'IGF-1 agit *via* un récepteur spécifique, mais celui-ci peut également être activé par l'IGF-2 ou l'insuline. De plus, les RI et les R-IGF-1 forment à la surface membranaire des molécules hybrides. Cette intrication peut avoir une importance fonctionnelle, car des taux élevés d'insuline, comme c'est notamment le cas lors des phases précoces du diabète du type 2, pourraient stimuler les récepteurs des IGF.

Relation entre diabète et maladies neurodégénératives

La relation entre le diabète et les maladies neurodégénératives impose une analyse plus approfondie de la résistance à l'insuline et de sa pathogénie dans les maladies génétiques ou les maladies neurodégénératives les plus fréquentes. Dans les syndromes génétiques de résistance sévère à l'insuline due à des mutations des gènes de la voie de l'insuline ou de l'IGF-1 [5], l'atteinte du système nerveux (retard mental ou altération du comportement) est bien présente, sans que l'on puisse affirmer une relation directe entre les phénomènes neurodégénératifs et métaboliques *(Tableau 1)*. Cependant, un certain degré de résistance à l'insuline accompagne des maladies génétiques ayant une composante neurodégénérative, comme *l'ataxie télangiectasie*, les *syndromes de Werner ou de Prader-Willy* [6].

IDE (*insulin degrading enzyme*) et maladie d'Alzheimer

La relation entre la résistance à l'insuline et les deux maladies neurodégénératives les plus fréquentes est bien étudiée [3]. Dans la maladie d'Alzheimer, les études épidémiologiques ont montré l'effet synergique du diabète et du génotype ε4 de l'APOE (*apolipoprotéine* E) dans l'augmentation du risque de développer cette affection [7, 15], ainsi qu'une relation entre la maladie d'Alzheimer et la résistance à l'insuline. Des arguments cliniques ont été apportés par l'équipe de S. Craft à Seattle (États-Unis) montrant l'effet bénéfique de l'administration d'insuline sur la mémoire chez des adultes sains ou affectés par la maladie d'Alzheimer. Ces effets nécessitent des doses d'insuline plus élevées chez les malades Alzheimer que chez les adultes sains [2]. De plus, de nombreuses études *in vitro* ont montré que l'insuline intervenait dans la libération intracellulaire d'amyloïde β (Aβ), l'accélération du processus de transport vers la membrane cellulaire et l'agrégation des fragments protéiques issus de l'APP (β-*amyloid precursor protein*). L'accumulation progressive de dépôts de peptide β-amyloïde (βA) dans le cerveau représente une caractéristique des patients atteints de la maladie d'Alzheimer [16]. Le taux d'Aβ est la résultante de la synthèse mais aussi de la dégradation protéolytique du peptide [16]. La relation entre l'insuline et la concentration en Aβ est complexe : ainsi, l'une des enzymes impliquées dans la dégradation de

l'Aβ est IDE (*insulin degrading enzyme*), une thio-métalloprotéinase qui s'exprime dans le cerveau et participe à la clairance de l'Aβ du tissu cérébral. Si l'enzyme clive l'insuline *in vitro*, son rôle physiologique dans le catabolisme de l'insuline *in vivo* est encore incertain. Une faible activité de cette IDE se traduirait par l'accumulation d'une part de l'Aβ et d'autre part de l'insuline (hyperinsulinisme). Par exemple, le rat GK (*Goto* et *Kakisaki*) qui est un modèle classique de diabète de type 2 non obèse, possède deux mutations pathogènes dans le gène *Ide* [8]. Lorsque les séquences *Ide* mutées sont exprimées dans des cellules en culture, on observe une réduction de 31 % de la dégradation de l'insuline. La délétion homozygote de ce même gène chez la souris $Ide^{-/-}$ s'accompagne d'une diminution de 50 % du taux de peptide Aβ dans le cerveau, et ce résultat est dupliqué dans des cultures primaires de neurones $Ide^{-/-}$ [9]. Chez l'homme, le gène *Ide* est localisé sur le chromosome 10 (10q23-q25) au niveau d'un locus également en cause dans le diabète sucré (OMIM #146680). Ces données suggèrent qu'une des explications de l'association entre diabète de type 2 et maladie d'Alzheimer avec accumulation de peptide Aβ serait un défaut de l'IDE et, dans ce cas, l'hyperinsulinisme serait l'altération primaire et la résistance à l'insuline une conséquence secondaire.

Insuline et maladie de Parkinson

La possibilité d'une relation entre maladie de Parkinson et résistance à l'insuline a elle aussi été bien étudiée. Quelques études épidémiologiques ont montré que le diabète est un facteur de risque majeur qui accélère la détérioration de la fonction motrice ou l'état cognitif [10]. Les patients atteints de maladie de Parkinson ont une résistance à l'insuline et, dans 50 à 80 % des cas, une intolérance glucidique. La L-DOPA et la bromocriptine utilisées dans le traitement de la maladie de Parkinson influencent aussi l'homéostasie glucidique, le premier produit étant hyperglycémiant et le second insulinosensibilisant. Mais, plus important, l'examen neuropathologique du cerveau de sujets atteints de maladie de Parkinson a révélé une diminution de l'expression des RI ou de la tyrosine hydroxylase dans la *substantia nigra*. La relation entre ces deux maladies neurodégénératives et l'action de l'insuline et des IGF peut donc résulter de l'atteinte de gènes de susceptibilité communs aux maladies neurodégénératives et métaboliques. Elle peut aussi témoigner de la connexion au niveau moléculaire de voies de signalisation de facteurs communs à ces deux processus.

Croisement entre voies de signalisation de l'insuline et de l'homéostasie neuronale

La croisement entre l'action des IGF et la maladie d'Alzheimer peut se faire aussi au niveau de la cascade de signalisation. Par exemple, des isoformes de la sous-unité p85α de la PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*), qui joue un rôle crucial dans la signalisation de l'insuline, sont associées à un risque accru de maladie d'Alzheimer [3]. D'autre part, toute une série de protéines intervenant dans les voies de signalisation insuline/IGF ont un rôle potentiel dans l'homéostasie neuronale. Par exemple, la voie PKB (ou Akt), acteur important en aval du récepteur de l'insuline aurait un rôle neuroprotecteur *via* la protéine pro-apoptotique Bad, le facteur CREB (*cAMP response element-binding*) ou encore le facteur de transcription FOXO-1 (*forkhead transcription factor*), qui contrôle, entre autres, la transcription des protéines de la famille Bcl-2. Plus en aval, la GSK-3 (*glycogen synthase kinase 3*) aurait un rôle dans la phosphorylation des substrats comme CRMP2 (*collapsin response mediator proteins*), la préséniline-1 (les présénilines contrôlent la maturation de la βAPP, et les mutations de ces protéines accélèrent le processus neurodégénératif de la maladie d'Alzheimer), la protéine Tau et même le précurseur d'amyloïde [3, 4]. Il semblerait donc que ces acteurs de la signalisation soient des intermédiaires communs de l'action des facteurs de croissance neuronale (NGF, *nerve growth factor* ; BDNF, *brain-derived growth factor* ; et NT (*neurotrophin*) 3, -4 et -5) et, par ce biais, représentent des candidats potentiels des défauts moléculaires des maladies neurodégératives (*Figure 1*).

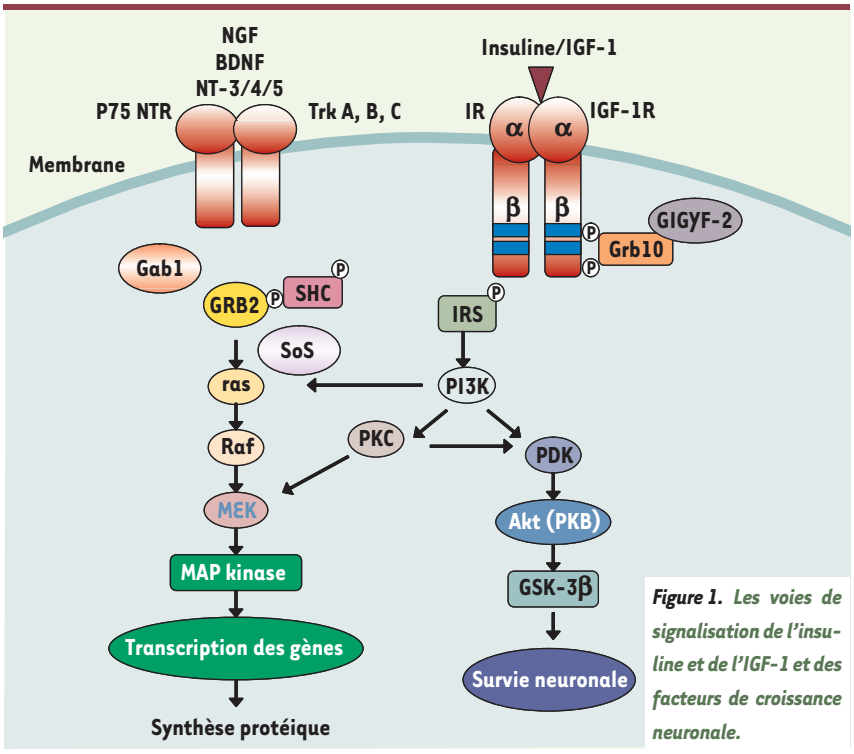


Figure 1. *Les voies de signalisation de l'insuline et de l'IGF-1 et des facteurs de croissance neuronale.*

Cette dernière hypothèse a été récemment confortée par nos observations - dans le laboratoire de R.J. Smith aux Etats-Unis - du rôle de la protéine GIGYF2 (*Grb10-interacting GYF protein-2*) dans la maladie de Parkinson *(Tableau 1)*. Cette protéine, impliquée dans la voie de signalisation de l'IGF-1, se lie par son domaine GYF à la protéine adaptatrice Grb10, ce complexe interagissant avec les récepteurs IGF-1 *via* le domaine SH_2 de Grb10 *(Figure 1)*. La résultante de cette interaction est l'inhibition de la phosphorylation sur tyrosine des substrats IRS (*insulin responsive substrate)*, mais également le blocage concomitant de l'accès aux phosphatases, mettant ainsi les récepteurs dans un état actif latent [11-13]. L'implication de ce mécanisme dans la pathologie reste inconnue. Cependant, le rôle spécifique de la protéine adaptatrice Grb10 dans le développement neurologique a déjà été suggéré par la découverte de mutations pathogènes dans le syndrome de *Silver-Russell*, qui associe un retard de croissance intra-utérin et un retard du développement psychomoteur ou du langage [13]. Notre étude du gène GIGYF2 par séquençage direct dans 249 cas familiaux (italiens et français) de la maladie de Parkinson et 227 témoins nous a permis d'identifier une mutation (*faux-sens*) du gène GIGYF2 chez 6 % des sujets atteints de maladie de Parkinson [14]. D'autre part, nous avons pu observer une importante variabilité de type insertion et délétion de codons glutamine (Glu). Or, il a déjà été montré que l'expansion polyglutamine était responsable de la maladie d'Huntington. D'autres part, la protéine GYGF2 s'exprime dans le cerveau et présente donc un intérêt particulier, puisque pour la première fois des altérations du gène codant pour une protéine intervenant dans la voie de signalisation de l'IGF-1 sont associées directement à une maladie neuro-dégénérative. L'étude approfondie de l'impact de ces variations géniques sur la fonction de la protéine nous apportera de précieuses informations sur son mode d'action et sur le croisement des voies métaboliques et neurologiques. ◊

Glucose homeostasis, diabetes and neurodegenerative disorders

REMERCIEMENTS

Nous souhaitons remercier le Professeur Alexis Brice qui nous a encouragés dans la rédaction de cet article.

RÉFÉRENCES

1. Plum L, Belgardt BF, Bruning JC. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 1761-6.
2. Zhao WQ, Alkon DL. Role of insulin receptor in learning and memory. *Mol Cell Endocrinol* 2001 ; 177 : 125-34.
3. Craft S, Watson GS. Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. *Lancet Neurol* 2004 ; 3 : 169-78.
4. Yasuda H, Terada M, Maeda K, *et al.* Diabetic neuropathy and nerve regenaration. *Prog Neurobiol* 2003 ; 69 : 229-85.
5. Abuzzahab MJ, Schneider A, Goddard A, *et al.* Igf-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 2211-22.
6. Ristow M. Neurodegenerative disorders associated with diabetes mellitus. *J Mol Med* 2004 ; 82 : 510-29.
7. Peila R, Rodriguez BI, Launer LJ. Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia aging study. *Diabetes* 2002 ; 51 : 1256-62.
8. Qiu WQ, Walsh DM, Ye Z, *et al.* Insulin degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 32730-8.
9. Farris W, Mansourian S, Chang Y, *et al.* Insulin degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid β-protein, and β-amyloid precursor protein intracellular domain *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 4162-7.
10. Hu G, Jousilahti P, Bidel S, *et al.* Type 2 diabetes and the risk of Parkinson's disease. *Diabetes Care* 2007 ; 30 : 842-7.
11. Dufresne AM, Smith RJ. The adapter protein Grb10 is an endogenous negative regulator of insulin-like growth factor signaling. *Endocrinology* 2005 ; 146 : 4399-409.
12. Giovannone B, Lee E, Laviola L, *et al.* Two novel proteins that are linked to insulin-like growth factor (Igf-I) receptors by the Grb10 adapter and modulate Igf-I signaling. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 31564-73.
13. Yoshihashi H, Maeyama K, Kosaki R, *et al.* Imprinting of human Grb10 and its mutations in two patients with Russell-Silver syndrome. *Am J Hum Genet* 2000 ; 67 : 476-82.
14. Lautier C, Goldwurm S, Durr A, *et al.* Mutations in the Gigyf2 (Tnrc15) gene at the Park11 locus in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2008 ; 82 : 822-33.
15. Helmer C, Pasquier F, Dartigues JF. Épidémiologie de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 288-96.
16. Checler F, Alves da Costa C, Dumanchin-Njock C, *et al.* Métabolisme du précurseur du peptide amyloïde et présénilines. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 717-22.

GLOSSAIRE

RI : récepteur de l'insuline
R-IGF-1R : récepteur de l'IGF-1
GIGYF2 : *GRB10-interacting GYF protein 2*
Grb10 : *growth factor receptor-bound protein 10*
IRS : *insulin receptor substrate*
PI3K : phosphatidylinositol 3 kinase
PKC : protéine kinase C
PDK : *phosphoinositide-dependent kinase*
PKB : *protein kinase between kinase A and C*
GSK-3β : glycogène synthase kinase 3β
SHC : *src homologous and collagen protein*
Grb2 : *growth factor receptor binding protein 2*
NGF : *nerve growth factor*
BDNF : *brain-derived neurotrophic factor*
NT : neurotrophine
Trk : *tyrosine receptor kinase*
p75 NTR : *p75 neurotrophin receptor*

Tarifs d'abonnement M/S - 2009

Abonnez-vous à Médecine/Sciences

> Grâce à *m/s*, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 418 dans ce numéro de *m/s*