

Le bal des métamorphoses

Une équipe de chercheurs placée sous la direction du professeur Pierre Vanderhaeghen (ULB) est parvenue à produire des neurones corticaux humains à partir de fibroblastes de la peau. Transplantés chez la souris, ils y établissent des connexions fonctionnelles.

En 2008, une équipe européenne dirigée par Pierre Vanderhaeghen, directeur de recherches FNRS au sein de l'Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie Humaine et Moléculaire (IRIBHM) et de l'ULB Neuroscience Institute (UNI), parvint à générer *in vitro*, au départ de cellules souches embryonnaires (ES) de souris, des progéniteurs⁽¹⁾ corticaux, puis, à partir de ceux-ci, des neurones spécifiques du cortex cérébral. Cette découverte fit l'objet d'une publication dans la revue *Nature*⁽²⁾.

Le groupe de Pierre Vanderhaeghen démontra que la plupart des cellules qu'il avait « engendrées » en culture étaient similaires à des cellules du cerveau antérieur. « Nous nous sommes également

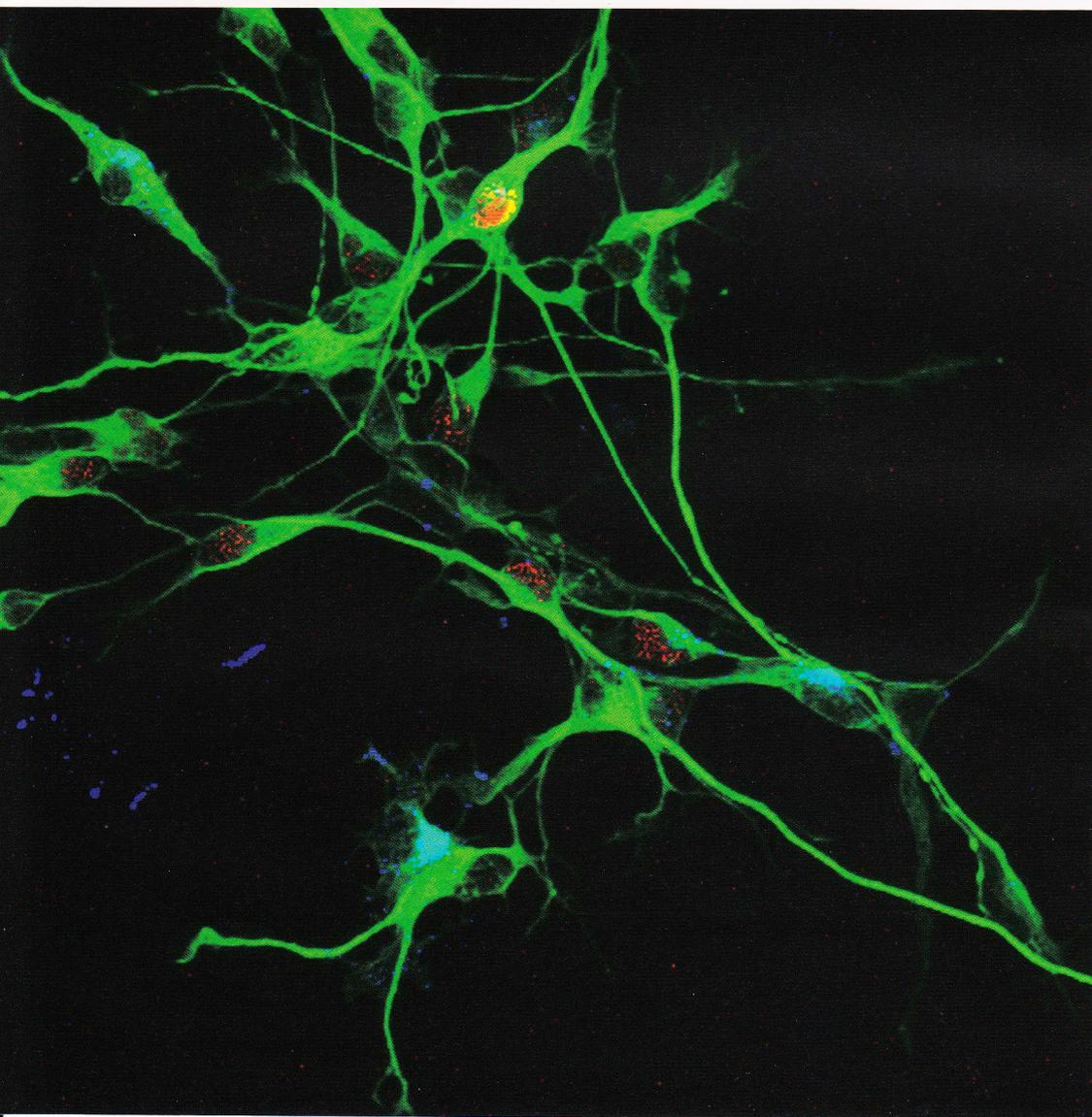
aperçus que cette population était assez hétérogène, dans la mesure où on y recensait tant des neurones excitateurs (glutamatergiques) que des neurones inhibiteurs (gabaergiques) », explique le neurobiologiste.

Le cortex étant constitué de 85% de neurones pyramidaux (excitateurs) et de 15% de neurones inhibiteurs, appelés interneurons inhibiteurs, les chercheurs essayèrent d'orienter la production des neurones générés expérimentalement vers une identité pyramidale. Ce qu'ils réalisèrent en inhibant un facteur protéique du nom de Sonic Hedgehog (en français, Sonic le hérisson) qui, *in vivo*, est produit chez la souris à un stade très précoce de la

neuroembryogenèse (développement du système nerveux).

Jeu de mime

Il apparut par ailleurs que des neurones pyramidaux spécifiques des six couches du cortex étaient ainsi produits et, de surcroît, selon le même schéma temporel que lors du développement fœtal. En collaboration avec l'équipe INSERM d'Afsaneh Gaillard, responsable du Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques (LNEC) de l'Université de Poitiers, les neurobiologistes de l'IRIBHM pratiquèrent alors des greffes neuronales chez des souris nouvelles. Non seulement les cellules



RÉPARER LE CORTEX ?

- Les travaux récents de l'équipe européenne furent publiés le 6 février 2013 dans la revue *Neuron*⁽³⁾. Outre la possibilité de produire des neurones du cortex à partir de cellules reprogrammées, ils donnent accès à deux modèles expérimentaux de développement du cortex cérébral humain, l'un se fondant sur les techniques de culture cellulaire dans des boîtes de Pétri, l'autre sur l'intégration de neurones humains dans un cerveau animal. Dans ce dernier cas, l'étude d'aspects tardifs du développement cortical (connectivité) est réalisable.
- Ces deux modèles de corticogenèse constituent par ailleurs des outils novateurs pour la recherche médicale et pharmaceutique dans le cadre de l'étude des pathologies neurologiques et psychiatriques d'origine génétique. À l'horizon se profile également la perspective plus lointaine de produire artificiellement des neurones dans des boîtes de culture et de les employer dans des thérapies de remplacement cellulaire par greffes intracérébrales.



Pr Pierre Vanderhaeghen, ULB

5 à 6 mois
nécessaires à la constitution du cortex humain

greffées établissent des connexions fonctionnelles dans le cerveau hôte mais, qui plus est, préférentiellement avec certaines zones du cortex selon le moment de leur éclosion en culture, mimant ainsi ce qui se passe durant la neuroembryogenèse « naturelle ».

Outre leur intérêt fondamental, les travaux publiés en 2008 dans Nature offraient à la recherche un modèle expérimental pour l'étude du cortex et de ses pathologies. Vu le développement considérable du cortex dans l'espèce humaine se posait toutefois la question de l'applicabilité du modèle murin à des études centrées sur le cerveau de l'homme. Aussi l'équipe réunie autour de Pierre Vanderhaeghen décida-t-elle de soumettre des cellules ES humaines (prélevées sur des embryons surnuméraires produits dans le cadre de la fécondation in vitro) à une procédure expérimentale analogue à celle définie précédemment pour les cellules ES de souris⁽³⁾.

Sur le plan conceptuel, les résultats obtenus se révélèrent similaires, si ce n'est que la protéine Sonic Hedgehog ne s'exprime pas dans les cellules humaines et, partant, ne conditionne pas, par sa présence ou son absence, la nature des neurones produits.

Le facteur temps

Au-delà des similitudes, certains éléments sont à mettre en exergue. On sait que, lors de l'embryogenèse, la période nécessaire à la constitution du cortex est de 5 à 6 mois chez l'homme, tandis qu'elle n'est que de 15 jours chez

la souris. Or qu'observe-t-on dans les boîtes de Pétri ? Qu'au moment où les neurones spécifiques des six couches du cortex murin sont déjà apparus dans le milieu de culture, les neurones humains de la couche corticale la plus précoce commencent seulement à être générés. Il faut en déduire que les cellules ES et leurs descendance (les progéniteurs corticaux) possèdent une horloge interne qui détermine le timing de leur développement.

Chez l'homme, le caractère plus tardif de la neurogenèse permet la constitution d'un pool de progéniteurs corticaux plus important. En effet, ces derniers bénéficient d'un temps accru pour proliférer avant d'acquérir la compétence de générer des neurones. En outre, ils conservent cette capacité durant plusieurs mois, alors qu'elle est perdue chez la souris au bout d'environ trois semaines. « Peut-être est-ce pour cela que l'espèce humaine dispose d'un cortex plus développé, indique le professeur Vanderhaeghen. Une façon simple pour engendrer un cerveau plus complexe pourrait être de lui accorder plus de temps pour se constituer. »

Une nouvelle jeunesse

L'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins expérimentales ou médicales pose des problèmes éthiques, mais également logistiques. Comment contourner l'écueil ? Le biologiste japonais Shinya Yamanaka, de l'Institute Integrated Cell-

Material Sciences de l'Université de Kyoto, a reçu le prix Nobel de médecine en 2012 pour y être parvenu. De fait, il est le père d'une approche révolutionnaire baptisée technologie des « cellules pluripotentes induites » (IPS). Grâce à cette méthode sont générées in vitro, au départ de cellules somatiques adultes - en l'occurrence, des fibroblastes de la peau -, des cellules souches pluripotentes.

Ce qu'avait découvert Yamanaka, le groupe européen conduit par Pierre Vanderhaeghen l'a reproduit, à l'instar d'autres laboratoires. Mais il a surtout réussi à générer, à partir de cellules pluripotentes induites obtenues au départ de fibroblastes de la peau, des neurones corticaux similaires à ceux qu'il avait engendrés précédemment en s'appuyant sur des cellules souches embryonnaires. « Nous avons laissé la flèche du temps reprendre sa direction normale dans notre milieu de culture, explique Pierre Vanderhaeghen. Les cellules IPS se sont alors différenciées en progéniteurs corticaux, puis en neurones. »

Connectivité fonctionnelle

La question la plus cruciale soulevée par les travaux entrepris par l'équipe composée principalement de biologistes de l'ULB, de l'Université de Poitiers et de l'Université d'Anvers était de savoir comment allaient se comporter des cellules greffées. Car en quoi un neurone cortical est-il vraiment cortical, si ce n'est par ses connexions aux réseaux du cortex ? La réponse à cette question fut apportée par la xénotransplantation, dans le cerveau de souris nouveau-nées, de cellules corticales humaines obtenues à un stade de culture relativement précoce caractérisé par la présence d'un nombre élevé de progéniteurs corticaux et d'un nombre restreint de neurones.

Chez la souris « tout-venant », la greffe se solda par un échec. Quand on examinait le cerveau murin deux mois après la transplantation, on ne trouvait plus trace des cellules humaines : elles avaient été rejetées par le système immunitaire de la souris. Pierre Vanderhaeghen et son équipe se tournèrent alors vers des souris transgéniques immunodéficientes. Après trois semaines, les progéniteurs des neurones humains étaient en prolifération dans le cerveau des rongeurs ; ils cohabitaient avec quelques neurones très indifférenciés. Bref, ce qui se passait chez l'animal immunodéficient mimaient à s'y méprendre ce qui se déroulait dans les boîtes de Pétri. De même, après deux mois, le contingent de neurones humains avait crû. On observait également une ébauche d'« outils de communication » : la présence d'axones et de dendrites rudimentaires, ces « appendices » qui servent, pour les premiers, à assurer la conduction de l'influx nerveux du corps du neurone vers une cible extérieure et, pour les seconds, sa conduction de l'extérieur vers le corps neuronal. « Au bout de six mois, cependant, la connectivité de ces neurones n'avait guère évolué, rapporte Pierre Vanderhaeghen. Par contre, elle était foisonnante après neuf mois, ce qui atteste que les neurones humains s'intègrent anatomiquement dans le cerveau de souris. Nous avons ensuite démontré qu'ils s'y intègrent également sur le plan fonctionnel. »

Philippe LAMBERT

- (1) Une cellule progénitrice est la progéniture précoce d'une cellule souche. Elle peut uniquement se différencier et ne peut plus se renouveler.
- (2) Nicolas Gaspard et al., An intrinsic mechanism of corticogenesis from embryonic stem cells. Nature, 2008. AOPdoi:10.1038/nature0728.
- (3) Ira Espuny-Camacho et al., Pyramidal Neurons Derived from Human Pluripotent Stem Cells Integrate Efficiently into Mouse Brain Circuits In Vivo, Neuro 77, 100-117, 2013.

« Chez l'homme, le caractère plus tardif de la neurogenèse permet la constitution d'un pool de progéniteurs corticaux plus important. »



Pierre Vanderhaeghen
ULB
pierre.vanderhaeghen@ulb.ac.be