

Sommaire

Éditorial	p. 2
Histoire des Neurosciences	p. 3
• Les activités motrices de la moelle épinière, du XIX ^e siècle à l'orée du XX ^e siècle	
Tribune libre	p. 8
• Point de vue critique sur trois disciplines émergentes des neurosciences : la neuro-robotique, la neuro-théologie et la neuro-économie	
Dossier	p. 11
• Cellules souches et cerveau : où ? Comment ? Pourquoi ?	
Les neurosciences à l'honneur	p. 28
• Endel Tulving ou la neuropsychologie de la mémoire à l'honneur	
Histoire d'une découverte	p. 30
• Un demi-siècle d'acoustique physiologique de la membrane basilaire aux molécules	
10^e Colloque de la Société	p. 31
Marseille, 24-27 mai 2011	

Éditorial

par Yves Tillet



Lorsque nous avons élaboré le contenu de cette *Lettre*, en novembre dernier, la presse se faisait l'écho des premiers résultats obtenus chez l'homme concernant l'utilisation des cellules souches embryonnaires pour fabriquer de nouvelles cellules et de nouveaux tissus : ce n'était pas des neurones, mais presque !

L'intérêt pour les cellules souches n'est pas nouveau et elles font l'objet de nombreuses études fondamentales visant à comprendre le développement et la différenciation des tissus. Bien sûr, au-delà de leur intérêt pour l'acquisition de connaissances purement fondamentales, les cellules souches, de par leurs capacités intrinsèques à redonner tous les tissus de l'organisme, présentent un intérêt appliqué indéniable : elles pourraient être utilisées pour réparer les organes endommagés, y compris le cerveau. De très nombreuses études ont donc été développées dans ce sens, avec des déconvenues mais aussi avec de beaux succès rapportés dans la presse à la fin de l'année dernière. Ainsi, l'équipe de Marc Peschanski à Evry (Inserm) a réussi à fabriquer de la peau humaine fonctionnelle à partir de cellules souches embryonnaires humaines. Plus proche des neurosciences, la conjugaison de la thérapie génique avec l'utilisation des cellules souches de moelle osseuse a permis à l'équipe de Patrick Aubourg et Nathalie Cartier (Inserm-APHP) d'arrêter la progression de l'adrénoleucodystrophie chez des patients atteints de cette grave maladie du cerveau qui touche la fabrication de la myéline. Ces approches sont porteuses de beaucoup d'espoir pour le traitement de nombreuses maladies et la mise en évidence des cellules souches neurales dans le cerveau a suscité beaucoup d'espoir pour le traitement des dégénérescences neuronales, d'autant plus que les greffes de cellules nerveuses pourtant prometteuses, ont montré les limites de leur efficacité.

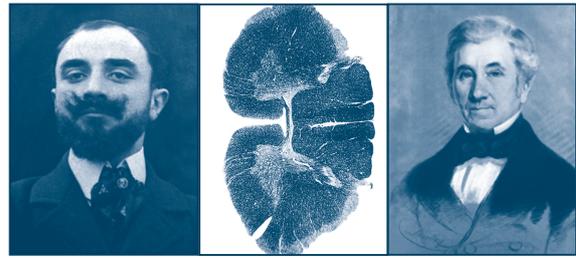
Malgré tout, comme pour les autres tissus, les nombreuses études réalisées sur le cerveau n'ont pas été couronnées du succès escompté car tout n'était peut-être pas aussi simple qu'il y paraissait au début. L'utilisation des cellules souches combinées à la thérapie génique ou la reprogrammation cellulaire a ouvert la voie à de très nombreuses pistes. Face à la multiplicité de ces approches, nous avons souhaité faire le point sur le sujet dans ce dossier, depuis les aspects fondamentaux de la biologie de ces cellules jusqu'aux problèmes éthiques posés par leur utilisation en thérapeutique.

Une autre partie de la *Lettre* aborde des développements peut-être moins connus de notre discipline dont je vous recommande aussi la lecture. Par exemple, Paul Avan aborde dans ce numéro les travaux trop méconnus réalisés par le Professeur Legoux sur la neurophysiologie acoustique, l'étude du traitement du signal auditif, une sensorialité difficile à étudier et qui a été remise à l'honneur à Bordeaux lors du dernier colloque avec la remarquable *Lecture Alfred Fessard* donnée par Christine Petit. D'autres développements sont plus récents comme la neuro-philosophie, le neuro-économie... Ces nouveaux domaines montrent l'importance des neurosciences et la portée de nos résultats sur de nombreuses disciplines *a priori* sans lien avec le cerveau. Je vous laisse lire à ce sujet l'analyse de Gabriel Gandolfo. Enfin, je n'oublie pas la traditionnelle rubrique d'*Histoire des Neurosciences* consacrée cette fois-ci aux activités motrices de la moelle épinière.

En attendant de vous retrouver à l'automne, je vous souhaite un été riche d'échanges scientifiques grâce aux nombreux colloques dont celui de la FENS à Amsterdam, le plus important, mais avec aussi toutes les autres réunions que notre *Société* soutient et qui vous permettront de voyager en Région Parisienne et en Touraine jusqu'en septembre. Mais avant cela, bonne lecture... ■

Les activités motrices de la moelle épinière, du XIX^e siècle à l'orée du XX^e siècle

par François Clarac



Jean Lhermitte

Coupe de moelle

Marshall Hall

Le rappel des recherches passées n'apporte-t-il vraiment rien à la connaissance scientifique ? Les travaux les plus anciens peuvent parfois donner un éclairage inattendu à d'interminables discussions actuelles. Les neurosciences ont eu la particularité d'avoir eu, au début du XX^e siècle, quatre chercheurs d'exception, S. Ramón y Cajal (1852-1934), C. Golgi (1843-1926), I.P. Pavlov (1849-1936) et C. Sherrington (1857-1952). Par leurs statures, ces hommes ont complètement changé notre vision de la discipline. Mais par contre coup, ils ont souvent masqué certains travaux antérieurs qui méritent pourtant d'être connus. En prenant l'exemple de la moelle épinière et des activités motrices qui s'y rattachent, ce texte montre comment l'apport de données anciennes a permis la mise en place de différents concepts relatifs à la commande motrice. Au début du XIX^e siècle, les anatomistes, les histologistes, les physiologistes et les neurologues décrivent les structures de la moelle épinière alors qu'on ignore presque tout des activités nerveuses et de la motricité automatique.

Au début du XIX^e siècle, la cellule nerveuse correspond, d'un côté, à des structures rondes ou ovales dans divers centres, et de l'autre, à différents types de fibres. Le tchèque J.A. Purkinje (1787-1869), qui a décrit le tissu musculaire cardiaque, a également mis en évidence les gros corps cellulaires du cervelet qui portent aujourd'hui encore son nom. En Angleterre, le chirurgien B. Stilling (1810-1879) réalise, en 1842 grâce à un nouveau microtome, des coupes de moelle épinière durcies par congélation ou par l'alcool (Pearce, 2008). Il distingue plus précisément la substance grise des faisceaux de substance blanche (1). Au sujet des fibres nerveuses, la dispute est sévère entre ceux qui pensent que leur intérieur est solide et ceux qui croient qu'il est liquide. Il faut attendre Robert Remak (1815-1865), un jeune polonais, pour proposer que les axones décrits dans les nerfs aient pour origine des corps cellulaires localisés dans les centres nerveux. Il démontre que les fibres de la substance blanche pénètrent perpendiculairement dans la substance grise. R.A. von Kölliker (1817-1905) utilise la technique de fixation à l'acide chromique et il précise la relation des fibres blanches avec les cellules des couches de la substance grise.

À peu près au même moment, Otto F.C. Deiters (1834-1863), formé par le grand histologiste de Berlin R. Virchow (1821-1902), réalise à Bonn des coupes de tissus nerveux. Il est capable de mettre en évidence dans la moelle épinière, autour du corps cellulaire d'une cellule nerveuse, différents prolongements, des dendrites courts et un élément plus long, l'axone qu'on nomme encore le *cylindraxe*. Malheureusement, il meurt brutalement du typhus dès 1863, à l'âge de 29 ans.

Tout change en 1873, lorsque C. Golgi réalise pour la première fois sa fameuse coloration argentique. Débute alors une autre polémique entre lui, qui défendra le

“réticularisme” et Cajal qui imposera définitivement le concept de neurone et celui de synapse.

Ollivier d'Angers (1796-1845) est l'un des premiers à présenter les particularités de la moelle épinière humaine dans un traité publié la première fois en 1823 (Grossmann et al., 2006). Le texte est divisé en trois parties, l'anatomie, les fonctions et les pathologies. Il a décrit les méninges et les différentes racines faisant référence aux travaux de Charles Bell (1774-1842) et de François Magendie (1783-1855). En démontrant une orientation dans la conduction dans les racines de la moelle épinière, ces deux auteurs donnaient enfin un sens aux activités nerveuses. Ollivier d'Angers décrit la syringomyélie qui se traduit par l'existence anormale d'un canal ou d'un conduit (*syrinx*) dans la moelle épinière (*myélos*). Il s'agit d'une malformation apparaissant chez le jeune adulte et qui entraîne des troubles sensitifs, mais aussi moteurs. L'anatomiste britannique J.A.L. Clarke (1817-1880) définit les colonnes postérieures ascendantes qui porteront son nom. Il étudie de nombreuses pathologies de la moelle. Après avoir montré la présence des nœuds qui le rendront célèbre, L.A. Ranvier (1835-1922) décrit la forme en T des cellules des ganglions rachidiens (Barbara, 2007).

On a longtemps cru que les voies afférentes sensorielles de la moelle épinière ne se croisaient pas, mais qu'elles remontaient toutes vers les structures corticales. C'est C.E. Brown-Séquard (1817-1894), grâce à ses études, qui a défini le célèbre syndrome d'“hémiparaplégie spinale”. Il a alors été possible de dissocier les deux voies ascendantes, celles directes des grosses fibres tactiles, et celles de la voie croisée pour les fibres thermiques les plus fines, H. Head (1861-1940) parlera de sensibilité épicrotique pour les premières et protopathiques pour les secondes.

Les activités motrices de la moelle épinière... (suite)

Le concept de réflexe est bien défini à l'orée du XIX^e et les nombreux travaux lui étant consacré vont se multiplier durant tout le siècle (2). Marshall Hall (1790-1857), physiologiste et médecin anglais, à l'origine de bien des polémiques, a cependant été l'un des premiers à définir la notion d'arc réflexe. Il a synthétisé l'ensemble des données acquises à son époque et a pu localiser le mécanisme réflexe au niveau spinal, en dehors de tout corrélat psychique qu'il situait plus volontiers dans les structures supérieures. Cette stricte indépendance spinale s'opposait aux idées de J. Müller (1808-1858), le physiologiste allemand qui, dans son *Handbüch der Physiologie* (1838), a décrit le réflexe comme étant intégré à l'ensemble des formations mentales (Fearing, 1970). La querelle qui s'ensuivit impliqua également Eduard Pflüger (1829-1900) et Rudolf Lotze (1817-1881), le premier affirmant que la moelle épinière est un centre comparable au cerveau, le second qu'elle n'était qu'un centre de bas niveau d'intégration, comme le confirmera plus tard Sherrington.

Ce qui est moins connu, c'est que Marshall Hall admirait beaucoup M.J.P. Flourens (1794-1867) et qu'il lui a dédié, en 1855, un ouvrage écrit en Français. Il le qualifie "d'auteur de la vraie méthode de recherches sur le système nerveux" et résume dans cet opuscule toutes ses idées sur la moelle épinière. En travaillant sur des lapins ou des pigeons, Flourens a réalisé des séries de sections transversales pour caractériser les centres des activités motrices sous-corticales. Hall définit ainsi l'arc réflexe : "Il y a un système de nerfs qui arrive à cette même moelle et d'autres qui en sortent, pour former avec elle des arcs nerveux réflexes dont l'ensemble constitue le système spinal. Et puisque ces nerfs, pour accomplir leur fonction de faire contracter les muscles, s'unissent à travers la moelle épinière, j'ai nommé ce système d'arcs et d'actions, système spinal diastaltique". Mais ce dernier terme ne survivra pas à Hall qui voulait insister et préciser la notion d'arc avec une entrée sensorielle et une sortie motrice.

Ce travail va avoir néanmoins une grande influence, car il considérait l'ensemble des activités motrices comme étant originaires de la moelle, c'est-à-dire comme des réflexes. Hall explique que la respiration ou la déglutition fonctionne ainsi. Il décrit par exemple les expériences où Flourens avait fait du "nœud vital" le centre respiratoire, en ne le démentant pas. Mais il explique que ce centre mis en jeu par un nerf sensitif est donc un élément du réflexe. Le réflexe fascine tellement qu'on va en faire un système de fonctionnement universel, dans la seconde partie du XIX^e siècle.

Ivan M. Setchenov (1829-1905), le père de la physiologie russe, après avoir travaillé à Berlin avec les plus grands physiologistes de l'époque et s'être lié d'amitié avec Carl Ludwig (1816-1895), vient au laboratoire de

Claude Bernard (1813-1878) et étudie le rôle de la stimulation du tronc cérébral chez la grenouille. En le stimulant par la présence d'un cristal de chlorure de sodium placé sur le tronc cérébral, il démontre un ralentissement de l'expression réflexe. Il se fait polémiste, lorsqu'en 1863, il écrit "le cerveau réflexe", en se montrant purement positiviste. Il souhaite démontrer que toute activité nerveuse, y compris les activités psychiques humaines les plus complexes, peut être considérée comme des réflexes.

En cette fin de siècle, ce type de travaux s'accélère et nous assistons à l'entrée en scène du père de la neurophysiologie moderne, Charles Sherrington. Jusque-là, on ne faisait qu'observer dans les expérimentations la flexion de la patte d'une grenouille (3). Sherrington analyse chez le chat les régions cutanées et motrices ; il décrit les voies nerveuses et les centres de la moelle. Nous ne reprendrons pas ses travaux car ils ont été présentés si souvent ! En suivant les données de Ruffini sur les fuseaux musculaires, il définit la voie finale commune, la proprioception et le réflexe myotatique. Il impose l'idée d'une moelle, comme lieu central des réflexes et des antagonismes fléchisseurs/extenseurs. En 1910, il décrit dans un long article que la rythmicité locomotrice provient d'une suite d'enchaînement réflexes (Sherrington, 1910).

Les neurologues font aussi un grand usage du concept de réflexe, mais d'une tout autre manière. Le problème n'est pas de le considérer comme un mécanisme à la base des mouvements, mais de l'utiliser comme moyen d'analyse de l'état du système nerveux, sans recourir à une exploration invasive. Tester des réflexes permet de compléter très avantageusement les études cliniques. En comparant les réponses entre un sujet sain et un patient, on affine un diagnostic permettant d'avancer dans la recherche d'une pathologie (4).

Pour Babinski, le réflexe est un outil indispensable : "La main, munie du marteau percuteur, interroge le système nerveux qui, par l'intermédiaire de ces réflexes, répond avec netteté aux questions posées. Précieuses sont les révélations que l'on obtient ainsi de lui : il fait part de dégâts que sa texture a subi, désigne les départements où ils se sont produits; parfois même, comme un géomètre, il en précise le siège et l'étendue et met en garde contre les dangers graves qui le menacent. Un pareil entretien, d'où le mensonge et l'erreur sont exclus, pour qui connaît ce langage, peut en quelques instants dévoiler des secrets qu'il eut été impossible de surprendre autrement". Babinski, 1912 in A. Tournay, 1967 (4).

C'est à la suite d'études réalisées si scrupuleusement que Babinski a décrit le fameux "signe de Babinski" qui a fait connaître le clinicien dans le monde entier. La première communication est publiée à la Société de biologie dans un article de 28 lignes dont la concision force à

l'admiration. La note explique que, dans les cas d'hémiplégie, le réflexe cutané plantaire diffère selon le côté analysé : du côté sain, la piqûre de la plante du pied provoque comme d'habitude une flexion générale de la cuisse sur le bassin, jusqu'aux orteils sur le métatarse ; du côté paralysé, la réponse des segments supérieurs induit une flexion sauf au niveau des orteils qui "au lieu de se fléchir, exécutent un mouvement d'extension sur le métatarse".

Par contre, lorsque Babinski s'intéresse à l'hystérie et qu'il démontre que la réponse réflexe d'une hystérique est la même que celle d'un sujet normal, il est certain du caractère *persuasif* et *manipulateur* des expériences tentées par son mentor Charcot, malgré toute l'admiration qu'il lui porte.

Au sujet des commandes nerveuses centrales des mouvements, les neurologues font, au milieu du XIX^e siècle, une analyse précise de différentes pathologies motrices. Ils démontrent ainsi le rôle des centres spinaux dans le mouvement. S'intéressant à l'électropuncture, Duchenne de Boulogne (1806-1872) utilise cette technique électrique pour soulager les malades. En fait, très vite, il comprend qu'elle peut lui permettre d'analyser les contractions musculaires les plus complexes et les décomposer à volonté. Dès 1850, parallèlement à F.A. Aran (1817-1861), il étudie l'atrophie musculaire progressive. Dès 1849, il la sépare des autres paralysies. C'est Jean Cruveilhier (1791-1874) qui, en autopsiant le saltimbanque Lecomte atteint par cette pathologie, observe l'atrophie des racines antérieures des nerfs rachidiens et des nerfs moteurs des membres. En 1860, J.B. Luys (1828-1897) confirme l'origine motrice de la maladie en décrivant l'atrophie ou la disparition des cellules des cornes antérieures de la moelle.

En 1858, Duchenne décrit l'ataxie locomotrice progressive qu'il a prise au départ pour une pathologie motrice due au cervelet. En fait, il comprend que c'est le *tabes dorsalis* ou la *neurosyphilis*, provoquée par la lésion des voies ascendantes dorsales sensorielles. Cette pathologie avait été décrite par l'anglais R.B. Todd (1809-1860), dès 1847, et par M.H. Romberg (1795-1873) un peu plus tard (5). Le livre majeur de Duchenne est publié en 1867 sous le titre *Physiologie des mouvements démontré à l'aide de l'expérimentation électrique et de l'observation clinique et applicable à l'étude des paralysies et des déformations*. Il met en évidence que les mouvements ont une origine nerveuse centrale et correspondent à l'activation de muscles agonistes et antagonistes qui forment des activations synergiques.

Très influencé par Duchenne, Charcot reprend l'étude des maladies motrices et impose sa méthode anatomo-clinique (Clarac et al. 2009, 6). Avec son élève A. Joffroy (1844-1908) en 1869, il décrit, à partir de deux cas, ceux de Catherine Aubel et d'A.C., la sclérose latérale

amyotrophique (SLA), qu'il caractérise par une double atteinte des noyaux moteurs de la substance grise et des voies de la substance blanche. Il insiste d'une part sur la relation entre lésion des faisceaux antéro-latéraux et les lésions des cellules de la moelle et d'autre part, entre les atteintes des cellules nerveuses et de la musculature périphérique : "Il y a une relation intime entre la lésion trophique des fibres musculaires et celles des cellules nerveuses ; c'est que plusieurs fois, on a pris soin de faire remarquer qu'une concordance absolue, en rapport avec le mode d'origine et de distribution des nerfs moteurs, existait entre le siège des altérations des cellules dans la moelle, et la localisation particulière de l'atrophie des muscles, dans les diverses parties du corps". Il précise, quelques années plus tard, avec un autre de ses élèves, A. Gombault (1844-1904), que cette pathologie présente aussi des atteintes au niveau des pyramides et de certains noyaux moteurs du tronc cérébral (6).

Charcot n'a jamais travaillé sur la locomotion, mais il a écrit dans ses cours comment il considérait la commande motrice de cette fonction motrice rythmique. Il imaginait une commande volontaire au niveau cortical et un système spinal régulant l'ensemble de l'activité rythmique "Les divers appareils relatifs à l'exécution des mouvements de la station, de la marche, du saut [...] composent chacun deux centres ou groupes cellulaires différenciés dont l'un siège dans l'écorce cérébrale, tandis que l'autre réside dans la moelle épinière ; ces deux centres étant reliés l'un à l'autre, bien entendu par des fibres commissurales. Le groupe spinal, le plus compliqué des deux, sans aucun doute, est chargé de l'exécution automatique, inconsciente des actes coordonnés pour l'accomplissement de chaque fonction ; tandis que le rôle relativement beaucoup plus simple du groupe cortical consiste dans l'émission volontaire des ordres prescrivant tantôt la mise en jeu, tantôt l'accélération ou le ralentissement, tantôt enfin l'arrêt définitif des actes exécutés par le groupe spinal correspondant" [Cité dans Gasser (1995) p. 99 et 100].

Au niveau physiologique, deux travaux réalisés presque conjointement avec celui de Sherrington de 1910, aboutissent à une conclusion totalement différente. C'est Philippon qui définit, en 1905, la locomotion du chien comme ayant son origine dans une action centrale et périphérique. Ces résultats provenaient de chiens "spinalisés" suivant la méthode de F.L. Goltz (1834-1902). Les soulevant au-dessus du sol, Goltz induisait des mouvements rythmiques des membres comparables à de la locomotion. Sherrington s'opposera à cette interprétation en considérant qu'en soulevant l'animal il étirait les pattes et que, par la même occasion, il étirait les fuseaux musculaires des muscles extenseurs. Plus convaincantes seront les expériences publiées par l'anglais T. Graham

Les activités motrices de la moelle épinière... (suite)

Brown (1882-1965) qui, dans deux articles de 1911 et de 1914, étudie des chats sur lesquels il sectionne les racines dorsales, afin de n'avoir aucun retour proprioceptif (7). Ces chats présentent des activités rythmiques "flexogènes" et "extensogènes". Il parle de "half centers" dans la moelle, s'inhibant mutuellement et capables de produire le rythme nécessaire sans qu'interviennent les récepteurs périphériques (7).

La présence d'un rythme médullaire sera confirmée sur des blessés de la Première Guerre mondiale par les travaux de Jean Lhermitte (1877-1959)¹. Grand neurologue, mais aussi neuropathologiste, neuropsychiatre, nous n'examinerons ici que ses travaux sur la moelle épinière qui se résument à deux livres publiés le premier avec G. Roussy (1874-1948) en 1918, et le second, seul, en 1919. La qualité des observations est exceptionnelle et malheureusement trop peu citées aujourd'hui. Dans la préface du livre publié avec Roussy, Pierre Marie (1853-1940) explique : "Il a été donné à peu de médecins qui ont eu l'occasion d'observer les cas des blessures récentes de la moelle, de pouvoir suivre l'évolution de ceux-ci pendant des jours, des semaines et des mois [...]. Dans toute la neurologie de guerre, il n'y a pas d'étude plus pénible, moralement et matériellement, que celle des blessures de la moelle et on peut ajouter qu'au point de vue scientifique, cette étude est une des plus difficiles qui puissent se présenter".

Les auteurs examinent le blessé après le choc spinal, lorsqu'il est complètement immobile, mais tout dépend de la hauteur de la lésion. Souvent les blessés ne survivent pas. Cependant, par les soins qu'ils ont pu apporter, certains sont restés en vie plusieurs années. Le plus intéressant de la sémiologie apparaît dans la phase tardive. "Les phénomènes nouveaux qui marquent la phase tardive de la section spinale, sont de beaucoup, les plus attachants. Ils consistent dans la réapparition possible de certains réflexes dits de défense et auxquels convient mieux l'expression de Pierre Marie et Foix de "réflexes d'automatisme médullaire", enfin dans l'apparition de mouvements automatiques plus ou moins rythmés". S'opposant à la loi de H.C. Bastian (1837-1915) selon laquelle toute section totale induit une perte définitive des réflexes tendineux et osseux, Roussy et Lhermitte décrivent le cas d'un soldat, enseveli le 20 juillet 1915 sous un éboulement d'abri et atteint de fracture en T7 avec une paraplégie absolue. Près de trois mois plus tard, les réflexes sont revenus : "le 30 octobre les réflexes rotuliens sont toujours vifs ; c'est à cette époque qu'apparaissent des mouvements spontanés, myocloniques, lesquels dureront jusqu'à la mort". Le blessé survivra jusqu'au 6 décembre 1915.

Citant la littérature, ils mentionnent que leurs descriptions "confirment les résultats des expériences de Goltz, Sherrington et Philippson, Thomas et Jumentié et justifient pleinement le terme de réflexes d'automatisme médullaires". Dans la même page, ils vont même être plus précis : "À certains moments, sans cause appréciable, les muscles du flanc et de la partie inférieure de l'abdomen, complètement paralysés, présentaient des contractions rythmiques [...] Le rythme de ces mouvements ne correspondait ni à celui du pouls, ni à celui de la respiration (P. = 75 ; Resp. = 16 : mouvements abdominaux = 32). On faisait apparaître presque constamment ces mouvements abdominaux rythmés en répétant une excitation cutanée ou profonde sur l'abdomen [...] les mouvements du membre inférieur étaient moins fréquents, mais indéniables. Le déplacement passif du tronc suffisait à les déclencher". Ces données chiffrées significatives suggèrent que le générateur spinal de la locomotion battrait à 2 Hz., valeur tout à fait convenable.

Lorsque les auteurs examinent les blessés à sections incomplètes, ils retrouvent au début l'effet du choc spinal mais la récupération est plus rapide et en phase tardive ; on note la perception de certaines sensations et l'apparition de quelques mouvements volontaires (8). On a là entre les travaux expérimentaux de Graham Brown et ceux de nos neurologues, un faisceau de preuve qui n'ont pas eu de prolongements.

Il faut attendre 1970 pour qu'enfin on parle à nouveau de réseaux moteurs spinaux, alors que ces travaux pionniers les avaient démontrés bien longtemps auparavant !

En résumant à grand trait la physiologie de la moelle épinière au cours des siècles passés, nous avons voulu montrer l'apport scientifique de ces époques pionnières et l'oubli souvent très dommageable de certains travaux. Attention aux modes et aux idées toutes faites ! Pourquoi certains sont-ils oubliés trop longtemps ? Dans son œuvre magistrale publiée en français en 1911, Cajal ne disait-il pas déjà la même chose ? "La mode ! Mais les savants en sont aussi bien esclaves que le vulgaire ! Qu'une idée soit fautive ou qu'un fait soit inexact, peu importe ! Il est simple, elle est géniale, un savant illustre les a lancés ; la mode, ce je-ne-sais-quoi fait de la paresse de jugement et d'action, de respect de l'autorité et d'abdication totale du moi, s'en empare, en suggestionne les autres savants, et partout dans leurs travaux, on ne lit que reflets de la mode qui les guide, que preuves du fait et confirmation de l'idée" (Tome I, p. 25). ■

¹ Voir au sujet de Jean Lhermitte : <http://www.baillement.com/lettres/lhermitte.html>.
Nous remercions le Dr. Olivier Walusinski pour la reproduction de la photographie de J. Lhermitte.

- (1) C'est F. Vicq d'Azyr (1784-1794) qui, anatomiste comparé a commencé par décrire les structures internes du cerveau en usant de coupes histologiques fixées à l'alcool et suivant des coupes coronales perpendiculaires aux coupes classiques. Il montre dans la moelle épinière, la présence des colonnes postérieures et latérales de substance blanche ainsi que la commissure antérieure.
- (2) Il est admis que c'est le tchèque Jiri Prochaska (1749-1820) qui a définitivement décrit le réflexe dans son ouvrage de 160 pages le *De functionibus systematis nervosi commentatio*. Il y mettait en évidence deux principes généraux, l'un sur le "sensorium commune" qui correspond à l'intégration des sensations dans les centres avant d'induire une réponse motrice et la notion de "vis nervosa" qui déclenchée par l'application d'un stimulus, décrit la force nerveuse qui parcourt les nerfs.
- (3) La grenouille a été utilisée pour la première fois par Jan Swammerdam (1637-1680). Le rôle de la moelle épinière dans le réflexe a été confirmé par Robert Whytt (1714-1766) qui, chez une grenouille décapitée en utilisant une aiguille fine introduite dans le canal rachidien, détruisait la substance nerveuse et rendait l'animal totalement flasque, incapable de réagir.
- (4) C'est en 1870 que W.H. Erb (1840-1921) démontre le premier, l'utilité du réflexe tendineux chez un patient en utilisant un marteau à percussion. Carl Friedrich Otto Westphal (1833-1890) décrira aussi ce phénomène mais lui ne saura pas l'interpréter, croyant, vu la rapidité de la réponse, que c'était une réponse musculaire directe.
- (5) Charcot s'intéressera à toutes les pathologies motrices et aura des malades célèbres. À cette époque, la syphilis faisait rage et bien des artistes présentent vers la cinquantaine des atteintes sérieuses comme le tabes. À ce niveau se trouvent des fibres nerveuses qui transmettent au cerveau les sensations profondes en relation directe avec la position des articulations et du corps dans l'espace. Charcot voulant soigner son ami A. Daudet (1840-1897) lui infligera un traitement très douloureux et inefficace en le suspendant en l'air pendant quatre minutes. De tels étirements devaient aider le malade... l'effet sera désastreux.
- (6) Cette méthode qui compare les observations accumulées sur le patient aux données histologiques réalisées après autopsie, a été particulièrement efficace pour la sclérose latérale amyotrophique -SLA-, elle n'apportera rien par contre sur le Parkinson, ni sur toutes les pathologies rattachées à l'hystérie !
- (7) L'article de Philippon (Philippon, M., 1905. L'autonomie et la centralisation dans le système nerveux des animaux. Travaux du Laboratoire de Physiologie, Institut Solway. Bruxelles VII : 1-208) comme les deux de Graham-Brown (Graham Brown, T., 1911 The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. Proc. Royal Soc. London B. 84,308-319. et Graham Brown T., 1914. On the nature of fundamental activity of the nervous centres: Together with an analysis of the conditioning of rhythmic activity in progression and a theory of the evolution of function in the nervous system. J. Physiol. (London). 48,18-46.) démontrent la présence d'un programme locomoteur spinal. Ce n'est que dans les années 1970 que ces notions seront reprises. On oublie entre-temps les données obtenues par Lhermitte.
- (8) Lhermitte est surtout connu par son "signe" décrit en 1927 au cours d'une communication devant la Société de Neurologie et correspondant à la description d'un nouveau symptôme étudié dans trois cas de sclérose en plaques. "Sensation de décharge électrique parcourant de haut en bas le rachis et les membres et déterminée par la flexion de la nuque". Si le patient en fléchissant la nuque souffrait de douleurs caractéristiques, Lhermitte considérait cette réponse comme la conséquence d'une lésion démyélinisante des cordons postérieurs de la moelle cervicale.

Références

- Babinski, J., 1896. Sur le réflexe cutané plantaire dans certaines affections organiques du système nerveux central. C.R. Soc. Biol. 48, 207-208.
- Barbara, J.G. (2007) Louis Ranvier (1835-1922): the contribution of microscopy to physiology and the renewal of French general anatomy. J Hist Neurosci. 16(4):413-31.
- Bonduelle, M., Gelfand, T., Goetz, C.G., (1976). Charcot, un grand médecin dans son siècle. Michalon, Paris.
- Charcot, J. M., Jaffroy, A., 1869. Deux cas d'atrophie musculaire progressive avec lésions de la substance grise et des faisceaux antéro-latéraux de la moelle épinière. Archiv. Physiol. Neurol. Path. 2, 354-367. 629-650. et 745-760.
- Clarac, F., Massion, J., Smith, A., (2009). Duchenne, Charcot and Babinski, three neurologists of La Salpêtrière Hospital, and their contribution to concepts of the central organization of motor synergy Journal of Physiology (Paris) 103 (6), 361-376.
- Cambier, J. (1993). Le signe de Lhermitte. La Presse Médicale; 22; 32; 1611-1614.
- Duchenne de Boulogne, G., 1867. Physiologie des mouvements démontrée à l'aide de l'expérimentation électrique et de l'observation clinique et applicable à l'étude des paralysies et des déformations. Paris. Baillière.
- Fearing, F., (1970) Reflex action. Edition. M.I.T. Press, Boston., Réédition d'un ouvrage de 1930.
- Gasser, J., (1995). Aux origines du cerveau moderne. Fayard. Paris. pp.335.
- Grossmann, S., Maeder, I., M., Dollfus, P., 2006. Treatise on the spinal marrow and its diseases (anatomy, functions and general considerations on its diseases) by Ollivier d'Angers CP (1796-1845). Spinal Cord. 44 (12), 700-707.
- Hall, M., (1855) Aperçu sur le système spinal. Librairie de Victor Masson. Paris.
- Lhermitte, J (1919). La section totale de la moelle dorsale. Paris, Maloine.
- Pearce, J.M.S. (2008). The development of spinal cord anatomy. Eur. Neurol. 59, 286-291.
- Roussy, G., Lhermitte, J (1918) Les blessures de la moelle épinière et de la queue de cheval. Collection Horizon. Masson et Cie, éditeurs. Paris.
- Sherrington, CS, (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension reflex, and reflex stepping and standing. J. Physiol. (London). 40, 28-121.
- Tournay, A. (1967). La vie de Babinski. Elsevier Pub. Company. Amsterdam, London.

SOUTIENS AUX COLLOQUES

En 2010, la Société des Neurosciences apportera un soutien financier aux manifestations suivantes :

NEUROBIOLOGY FROM MOLECULES TO SYSTEMS

Montpellier, 8-9 février 2010

Contact : Jean-Philippe Pin

SYMPOSIUM INAUGURAL

JOURNÉE DE LA RECHERCHE PRÉCLINIQUE

Paris, 3-4 juin 2010

Contact : Sylvie Guigon

ENP STEM CELLS CONFERENCE

Yvelines, 17-19 juin 2010

Contact : Kim Nguyen-Ba-Charvet

TOWARDS TRANSLATIONAL RESEARCH IN MOTONEURONS

Paris, 9-13 juillet 2010

Contact : Daniel Zytnicki, Dider Orsal

PLASTICITÉ DES SYSTÈMES NEUROENDOCRINIENS

Tours, 9-10 juillet 2010

Contact : Yves Tillet

SUBSTANCES PSYCHOACTIVES, MALADIES PSYCHIATRIQUES ET NEUROGENÈSE

Tours, 3-5 septembre 2010

Contact : Catherine Belzung

Point de vue critique sur trois disciplines émergentes des neurosciences : la neuro-robotique, la neuro-théologie et la neuro-économie

par Gabriel Gandolfo

Mon objectif est de faire le point sur trois nouvelles disciplines qui se situent à la confluence entre les neurosciences d'une part et, d'autre part, l'intelligence artificielle (neuro-robotique), les sentiments et pratiques relevant du domaine religieux (neurothéologie) et les facteurs cognitifs et émotionnels mis en jeu dans la prise de décision (neuro-économie). Quelles sont leur origine ? Quels types de recherches impliquent-elles et pour quels résultats ? Quelles peuvent en être les applications et/ou les dérives potentielles ?

Depuis plusieurs années, le champ d'investigation des neurosciences n'a cessé de s'élargir surtout grâce aux progrès des nanotechnologies et de l'imagerie cérébrale. Celle-ci a notamment permis de mieux comprendre les mécanismes anatomophysiologiques sous-tendant l'aspect psycho-affectif de nos comportements et, en conséquence, aux sciences du cerveau de s'émanciper enfin du cadre rigide et réducteur du matérialisme positiviste dans lequel elles étaient encore naguère confinées. De nouvelles disciplines virent ainsi le jour. Nous nous attacherons plus particulièrement à trois d'entre elles : la neuro-robotique, la neurothéologie et la neuro-économie.

La neuro-robotique : le retour de l'Homme-machine ?

La neuro-robotique dérive de la neurobionique (cette contraction des termes de biologie et de technique désigne l'analyse des lois de la nature et leur transposition dans le domaine technologique) et de la neurocybernétique (du grec *neuron* : nerf et *kubernân* : art de gouverner), qui étudie les mécanismes de communication dans les neurones. En les combinant, l'objectif devient alors le contrôle par le cerveau d'une machine (robot) ou l'inverse. En fait, tout a commencé par les recherches sur la neuroplasticité⁽¹⁾, montrant la fantastique adaptabilité du cerveau, et l'ambition de créer des "neuroprothèses". Paul Bach-y-Rita (1934-2006) fait à cet égard figure de pionnier quand il a réussi dès 1969⁽²⁾ à substituer une stimulation tactile à la vision défaillante chez un aveugle, grâce à un système muni d'une caméra capable de transformer une image visuelle en une sensation sur la peau du dos du sujet sur laquelle 400 points de stimulations ont été appliqués : les informations tactiles sont alors traitées par le cerveau comme si elles venaient de la rétine. Pour s'affranchir du fauteuil et de l'ordinateur de l'expérience d'origine qui empêchaient le patient d'être autonome, le système fut ensuite⁽³⁾ amélioré par le port d'une paire de lunettes équipée d'une mini-caméra et la

sollicitation des récepteurs de la langue pour la substitution sensorielle.

La recherche s'est ensuite orientée vers les neuroprothèses motrices. L'expérience menée en 2003 par Miguel Nicolelis⁽⁴⁾ à l'Université de Duke (Caroline du Nord) a été décisive. Dans un premier temps, deux singes ont reçu un implant cérébral formé d'électrodes aussi fines qu'un cheveu (jusqu'à 320 fils actifs). Une partie de ces électrodes a été reliée à un ordinateur enregistrant les signaux émis par le cerveau du singe, et une autre partie à un bras mécanique robotisé que l'animal pouvait contrôler par une manette. En échange d'une gorgée de jus de fruits, le singe a été alors entraîné à manipuler la manette pour saisir divers objets avec le bras mécanique. Progressivement, son cerveau réussit à incorporer cet élément externe dans son propre espace neuronal, comme s'il était devenu une extension naturelle de son corps. Dans un second temps, la manette a été débranchée et le bras robotisé ne pouvait être manipulé que par les signaux cérébraux transmis à l'ordinateur. Après une chute initiale de ses performances, l'animal a été capable de contrôler le bras mécanique uniquement par ses signaux cérébraux, donc par sa seule pensée. La porte était alors ouverte à une application chez l'Homme. À Boston, un tétraplégique, auquel une puce électronique de cent électrodes nommée *Brain Gate* (mise au point par John Donoghue à l'Université Brown de Rhode Island) a été implantée dans le cortex moteur en 2004, a ainsi pu se servir de son ordinateur sans l'aide du clavier ou de la souris, mais par sa seule pensée⁽⁵⁾. Chez d'autres paralysés ou amputés, l'étape suivante a été de s'affranchir de l'encombrement dû aux câbles d'enregistrement par une technique de transmission sans fil.

À côté de ces applications cliniques, le champ de la neuro-robotique concerne aussi la mise au point de robots humanoïdes. Si le Japon excelle déjà dans ce domaine, l'Europe a lancé le projet RobotCub dans lequel six robots de la taille d'un enfant de trois ans et capables de voir et entendre, d'être sensible au toucher, de bouger

tête, yeux, bras et mains, ont été répartis sur le continent, dont l'un à l'Université Claude Bernard de Lyon⁽⁶⁾, qui a pour ambition de le rendre plus humain en lui "greffant" la représentation de soi pour se localiser, analyser sa propre action, identifier son environnement, auto-développer sa capacité d'agir et de coopérer avec les hommes : les machines de Vaucanson deviendraient-elles ainsi réalité ?

Ce type de recherche sur les interfaces cerveau-machine est souvent financé par les armées dans l'espoir de modéliser le soldat du futur (contrôle à distance dans le cadre d'opérations à risque comme le déminage, ajustement par la pensée de la puissance de feu des armes, etc.). D'où l'émergence dans certains pays comme la France de comités d'éthique, car si "nous sommes faits de l'étoffe de nos rêves" (Shakespeare), il ne faudrait pas que la confluence des neurosciences, des nanotechnologies et de la génétique ne les transforme soudainement en cauchemars...

La neurothéologie : la réconciliation entre la Science et la Religion ?

La neurothéologie est l'étude de l'interaction entre le divin (*theos*) et l'humain (*neuron*). Son objectif est d'analyser les mécanismes cérébraux qui sous-tendent les phénomènes religieux : foi, méditation, prière, extase et autres manifestations hautement spirituelles, comment procèdent-elles du fonctionnement du cerveau ? À l'Université de Pennsylvanie⁽⁷⁾, des IRM (imagerie par résonance magnétique) furent pratiquées sur des moines bouddhistes en méditation et des religieuses en recueillement, en leur demandant, quand ils pensaient en avoir atteint le sommet, de tirer sur une cordelette, ce qui déclenchait les enregistrements. A été ainsi mise en évidence, l'implication du lobe pariétal de l'hémisphère droit, celui de la symbolique, dans les processus conduisant à l'extase (*figure 1*). Il existe en fait deux voies possibles de méditation. La *via positiva* consiste à concentrer son attention sur un objet affectivement chargé (un tableau sacré, une image pieuse, un objet béni) ou bien sur une image mentale (les feux de l'enfer, les joies du paradis, le martyr des saints). Le lobe pariétal droit du cerveau reçoit alors les messages parvenant de l'extérieur (dans le cas d'un objet à fixer) depuis le cortex visuel, mais aussi des souvenirs stockés depuis le cortex associatif (lequel est la seule source d'activation dans le cas d'une image mentale). Images réelles et images gravées en mémoire augmentent ensuite l'activité de l'hippocampe droit, une structure cérébrale impliquée dans plusieurs fonctions cognitives. Ce dernier active à son tour les noyaux de l'hypothalamus qui contrôlent le cœur et les poumons par le système nerveux autonome, d'où un ralentissement du rythme cardiaque et de la respiration,

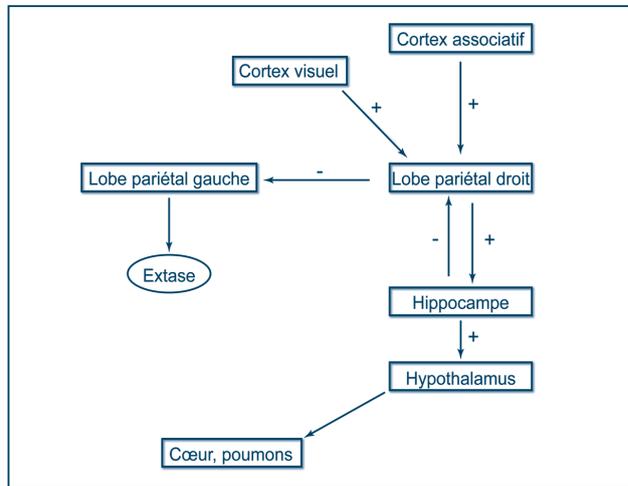


Figure 1
Les voies cérébrales de l'extase : voir texte (extrait de la réf. 8, p. 541).

propre à l'état de méditation. L'hippocampe, par ses connexions inhibitrices, "débranche" progressivement le lobe pariétal droit, qui traite les informations sur l'espace et sur le temps, d'où les sensations de silence, de vide absolu, d'espace sans frontières éprouvées par le méditant. Les neurones, privés alors de leurs informations habituelles, se désynchronisent et court-circuitent le lobe pariétal gauche qui, lui, est chargé de maintenir la coupure entre soi et les autres : le cerveau, ne faisant plus cette distinction primordiale, n'a pas d'autre choix que de percevoir le soi comme un tout sans fin, lié à toute chose. C'est donc l'extase, l'atteinte du nirvana, la quiétude béate. La seconde voie de méditation, la *via negativa*, exige, de son côté, de ne penser à rien, de "se vider entièrement la tête". L'inattention volontaire provoque alors une modification profonde dans le cortex associatif (qui contient l'aire de l'attention), d'où les mêmes réactions en cascade sur les lobes pariétaux droits puis gauches. Le neuropsychiatre Joseph Rhawn⁽⁹⁾ avait déjà montré que la sur-activation de certaines structures cérébrales comme l'amygdale, l'hippocampe et les régions temporales sous-corticales donne le sentiment de flotter au-dessus de la réalité et provoque rappel de souvenirs, hallucinations, création de flash lumineux et sécrétion de neurotransmetteurs procurant sensation d'euphorie, de paix et d'harmonie. Pour le généticien Dean Hamer⁽¹⁰⁾, c'est la variation de la production par le cerveau des monoamines (dont la dopamine, un neuromédiateur impliqué dans les mécanismes émotionnels) qui fait que certains individus sont dotés d'un naturel mystique et ont la foi, et que d'autres, ancrés dans la rationalité la plus matérialiste, ne peuvent pas comprendre les précédents.

On peut dater le "divorce" entre science et religion depuis 1662, quand le Saint-Siège a mis à l'index les œuvres de Descartes, lequel, en dissociant l'esprit

Point de vue critique sur trois disciplines émergentes des neurosciences... (suite)

conscient de la matière inconsciente, pensait pourtant soustraire les travaux scientifiques à l'autorité de l'Eglise. Cet habile mais vain subterfuge a néanmoins eu pour conséquence durable de placer les phénomènes mentaux à l'extérieur de la réalité physique ordinaire, donc hors du domaine des sciences biologiques. En réintégrant l'esprit dans son champ d'étude, les neurosciences ont ainsi créé la neurothéologie, qui connaît actuellement son plein essor outre-Atlantique, au risque de voir s'y engouffrer mouvements sectaires et fondamentalistes à l'affût d'une justification scientifique.

La neuro-économie : une résurgence humaniste ?

Apparu en 2003 dans un ouvrage de l'Américain Paul Glimcher intitulé "Decisions, uncertainty and the brain : the science of neuroeconomics" (MIT Press, Cambridge), le terme de neuro-économie désigne une nouvelle discipline située au croisement des neurosciences et de l'économie comportementale, laquelle cherche à isoler les paramètres d'une décision individuelle ou collective (investissement, achat, prise de risque, consommation). Le développement des techniques d'imagerie cérébrale a permis de mieux analyser les mécanismes cérébraux qui sous-tendent nos comportements socio-économiques et nos prises de décisions, quand on balance entre raison (sous le contrôle du cortex frontal qui évalue les processus de rationalité) et émotions (traitement rapide et instinctif du problème par le système limbique). Il en ressort⁽¹⁾ que, contrairement au postulat de l'économie classique, l'individu est moins porté sur la maximisation de ses intérêts et qu'il est capable de les sacrifier dès lors qu'il peut rétablir une justice sociale : il en éprouvera même du plaisir, dans une sorte de réflexe atavique lié à la recherche d'un équilibre de la collectivité. Le regret est un apprentissage émotionnel à la suite d'un mauvais choix et qui fonctionne comme un marqueur somatique nous orientant vers un choix différent si la situation se reproduit : en empruntant les mêmes circuits cérébraux que l'empathie (capacité de partager les états émotionnels d'autrui), on peut même se projeter dans le futur et éprouver des regrets anticipés. Voudrait-on rendre meilleurs les hommes dans une société où seuls l'économie et le profit immédiat priment ?

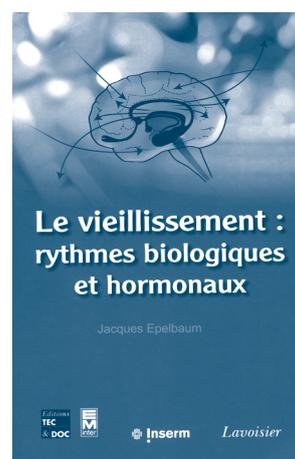
Une application plus ou moins sérieuse de la neuro-économie a vu le jour sous le nom de neurofinance (*neuromarketing* en anglais) concernant la prise de décision en matière de placements et d'emprunts. Mais la manipulation est latente quand on pense, par exemple, que le livre "Your money and your brain" (Simon & Schuster, 2007) de Jason Zweig a été traduit en français en 2008 (Ed. Gutenberg) sous le titre racoleur de "Gagner en bourse grâce à la neuro-économie".

La science, sous quelque espèce qu'elle soit, a toujours été janusienne. Si elle a engendré d'incontestables progrès sociaux, elle a aussi été à l'origine de non moins indéniables dérives. Puisse le XXI^e siècle être réellement celui de la bioéthique ! ■

gandolfo@unice.fr

Références

1. Gandolfo G. et Grammont F. Les divers aspects de la neuroplasticité. *Biologie-Géologie*, 2 : 291-312, 2005.
2. Bach-y-Rita P. Vision substitution by tactile image projection. *Nature*, 221 : 963-964, 1969.
3. Bach-y-Rita P. et Kerrel S.W. Sensory substitution and the human-machine interface. *Cognitive sciences*, 7: 541-546, 2003.
4. Lebedev M.A. et Nicolelis M.A.L. Brain machine interfaces: past, present and future. *Trends in Neurosciences*, 29: 536-546, 2006.
5. Hochberg L.R., Serruya M.D., Gerhard M., Friesch G.M., Mukand J.A., Maryam Saleh M., Caplan A.H., Branner A., David Chen D., Penn R.D., John P. et Donoghue J.P. Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia. *Nature*, 442: 164-171, 2006.
6. <http://www.rhone-alpes-auvergne.inserm.fr/raa/fr/home/icub.html>
7. Newberg A., d'Aquili E. et Rause V. Pourquoi "Dieu" ne disparaîtra pas : quand la science explique la religion. Ed. Sully, 2003.
8. Gandolfo G. À quoi sert le cerveau ? Petite synthèse des grandes fonctions cérébrales. *Biologie-Géologie*, 3 : 513-545, 2004.
9. Rhawn J. *Neuropsychology, neuropsychiatry and behavioral neurology*. Kluwer Academic Publications, 1990.
10. Hamer D. *The God Gene*. Anchor, 2005.
11. Gironde S. *La neuro-économie ou comment le cerveau gère mes intérêts*. Plon, 2008.



LE VIEILLISSEMENT : RYTHMES BIOLOGIQUES ET HORMONAUX

Jacques Epelbaum

Éditions Lavoisier
en collaboration
avec l'INSERM,
Tec & Doc, 2009.

L'allongement de la durée de la vie depuis la fin du 19^e siècle représente une des réussites les plus remarquables de la science, de la médecine et de l'hygiène. Cette révolution démographique nécessite aujourd'hui la prise en compte du vieillissement. Ce phénomène complexe affecte l'organisme à tous les niveaux, du plus moléculaire jusqu'aux organes entiers, sans que ses mécanismes en soient encore complètement élucidés.

Cellules souches et cerveau : où ? Comment ? Pourquoi ?

coordonné par David blum et Carine Cleren

La mise en évidence d'une neurogenèse et de l'existence de cellules souches dans le système nerveux adulte de différentes espèces a révolutionné la neurobiologie et ouvert la porte à de nouvelles voies de recherches. Malgré tout, si les thérapies cellulaires sont au cœur de milliers d'essais cliniques (plus de 16000 répertoriés sur le site www.clinicaltrials.gov), finalement seuls quelques protocoles proposent l'utilisation de cellules souches pour le traitement des maladies neurodégénératives. Mais finalement, connaît-on bien ces cellules souches ? Quelles sont les limites actuelles de leur utilisation en terme clinique et éthique ? Ce dossier vise à faire le point sur ces différentes questions, de leur biologie aux contraintes éthiques posées par leur utilisation.

LES CELLULES SOUCHES DANS LES SCIENCES DU CERVEAU

par Nicole Le Douarin, Secrétaire perpétuelle honoraire
de l'Académie des Sciences

La découverte de cellules souches neurales a tout d'abord concerné celles qui sont dérivées de la crête neurale et qui subsistent chez l'adulte dans la gaine des nerfs et les ganglions du système nerveux périphérique, y compris les plexus intra-muraux du tube digestif. Le fait qu'il existe aussi des cellules souches dans le système nerveux central et le cerveau lui-même a été une surprise qui battait en brèche le dogme de l'absence de production de neurones dans le cerveau après la naissance chez les vertébrés supérieurs. Ce sont les travaux de l'éthologiste Fernando Nottebohm sur le chant des oiseaux qui ont permis de montrer l'existence d'un renouvellement neuronal dans le centre vocal supérieur qui contrôle le chant chez le canari mâle adulte. Par la suite, des observations réalisées chez les rongeurs ont montré que certains neurones du bulbe olfactif sont capables de régénération. Ce processus a également été observé dans diverses autres régions du cerveau chez les mammifères, notamment le gyrus denté de l'hippocampe qui joue un rôle important dans la mémoire. La localisation des cellules souches neurales dans le cerveau a aussi été l'objet de recherches actives. Elles sont notamment présentes dans la zone sous-ventriculaire des ventricules latéraux du cerveau. Ces cellules sont capables de migration dans le cerveau sain pour rejoindre par exemple le bulbe olfactif. Elles peuvent être cultivées *in vitro* et fournir, dans certaines conditions de culture, des Neurosphères, contenant des cellules souches pluripotentes et capables d'autorenouvellement. Elles produisent, lorsque les conditions de culture le permettent, des neurones de différents types, des cellules gliales et de nouvelles cellules souches.

Ces cellules souches neurales sont l'objet de nombreux travaux et représentent un espoir thérapeutique pour pallier à la disparition de certains types de neurones dans plusieurs maladies neurodégénératives.

nicole.ledouarin@academie-sciences.fr

Auteur de : *Les Cellules Souches, Porteuses d'Immortalité*. Odile Jacob, 2007.

DES CELLULES SOUCHES NEURALES CHEZ L'ADULTE

par Pierre-Marie Lledo et Gilles Gheusi

Chez les oiseaux et les mammifères adultes, des milliers de nouvelles cellules nerveuses apparaissent chaque jour dans le cerveau. Cette capacité du cerveau adulte à produire en permanence de nouveaux neurones repose sur l'existence de cellules souches neurales et concerne principalement l'hippocampe et le bulbe olfactif. La neurogenèse adulte désigne ainsi la division, la survie, la différenciation, l'intégration et l'acquisition de propriétés fonctionnelles d'un contingent permanent de nouveaux neurones. De ce fait, elle contribue, parallèlement à d'autres mécanismes moléculaires et synaptiques déjà connus, aux changements structuraux et au fonctionnement de circuits neuronaux spécifiques. Les avancées dans ce domaine ont de ce fait quelque peu modifié l'idée d'une relative stabilité des composants structuraux du cerveau et enrichi, par la même occasion, l'éventail des possibles en matière de thérapies des maladies neurodégénératives. Historiquement, la découverte d'une neurogenèse chez les mammifères adultes émergea avec difficulté⁽¹⁾, mais la reconnaissance tardive dont elle bénéficia lui assura néanmoins un succès certain dès lors que l'intérêt suscité s'étend aujourd'hui des domaines fondamentaux du fonctionnement cérébral aux domaines cliniques des maladies neurodégénératives et de certains troubles du comportement.

La neurogenèse adulte, qualifiée aussi de secondaire (par opposition à la neurogenèse primaire relative à la construction du cerveau embryonnaire), complète l'arsenal déjà conséquent des mécanismes cérébraux de plasticité en réponse aux sollicitations diverses des facteurs environnementaux. Cette production continue de neurones montre que les capacités d'adaptation du système nerveux ne se limitent pas aux variations fonctionnelles des connexions synaptiques ou à la régulation de l'expression de certains gènes. La neurogenèse secondaire prend forme dans quelques territoires bien précis qui ont pour caractéristiques communes : 1) d'avoir des fonctions liées à l'apprentissage et la mémoire et ; 2) de contribuer au traitement et à l'analyse des signaux d'entrée, en particulier les processus de décorrélacion visant à accentuer le contraste et optimiser le codage pour des

stimuli similaires. À ce titre, la neurogenèse secondaire pourrait jouer un rôle de premier plan dans la mise à jour et l'acquisition d'informations quotidiennes de part les remaniements morphologiques et fonctionnels permanents qu'elle apporte au sein des circuits pré-existants. Néanmoins, la question de la signification précise de cette production neurale demeure encore posée⁽²⁾. Nous dresserons ici un bref inventaire des avancées réalisées dans ce champ des Neurosciences.

Des cellules souches neurales nichées dans le cerveau adulte

Des cellules non différenciées particulières ont été caractérisées ces dernières années dans le système nerveux central des mammifères. Dénommées "cellules souches", elles présentent des propriétés singulières d'auto-renouvellement et de multipotence. En d'autres termes, elles ont la capacité de générer par division asymétrique, dans des conditions précises de différenciation, les trois types cellulaires majeurs du système nerveux : les neurones, les oligodendrocytes et les astrocytes⁽³⁾. Un des résultats les plus surprenants dans ce domaine fut de découvrir la nature gliale de ces cellules souches neurales adultes⁽⁴⁾. Cette observation initialement rapportée dans les années 80 chez l'oiseau, fut par la suite confirmée chez les rongeurs au début des années 90, puis chez l'homme en 1998⁽⁵⁾.

Les neurobiologistes s'accordent aujourd'hui pour considérer qu'il existe dans le cerveau adulte au moins deux régions germinatives qui abritent constitutivement ces cellules souches. Il s'agit de la zone sous-ventriculaire (ZSV) située sur les parois des ventricules latéraux et de la zone sub-granulaire (ZSG) du gyrus denté de l'hippocampe. Les données accumulées sur l'architecture, l'organisation et le fonctionnement de ces zones germinatives ont permis de préciser que ces régions particulières tirent leurs propriétés uniques du microenvironnement cellulaire et moléculaire local dans lequel les cellules souches sont hébergées. Cet environnement particulier est qualifié de niche, terme emprunté à l'écologie, pour signifier toute l'importance des interactions physico-chimiques entre les cellules souches et leur environnement proche⁽⁶⁾. Les études récentes sur les propriétés de ces territoires conduisent à leur attribuer deux caractéristiques fondamentales : ils constituent un environnement *permissif* au maintien de la zone neurogénique chez l'adulte (propriétés issues des divisions cellulaires asymétriques), et instructif dans la mesure où ils confèrent aux précurseurs cellulaires locaux le potentiel de se différencier en un sous-type de neurone bien défini. En plus des études de transplantation de précurseurs cellulaires dans différentes régions cérébrales, la découverte de l'existence de

cellules progénitrices quiescentes et isolées depuis d'autres régions cérébrales non neurogéniques a notamment contribué à étayer l'idée du rôle déterminant joué par le microenvironnement sur les compétences des cellules souches neurales⁽⁷⁾. Le concept de niche permissive et instructrice est riche de sens dans la mesure où il conduit désormais à rechercher les déterminants moléculaires aptes à transformer des territoires non neurogéniques en territoires neurogéniques, ou encore à formuler des hypothèses sur l'induction et la réversibilité de conditions permissives à une neurogenèse au sein de zones faisant l'objet de processus neuropathologiques^(8;9;10).

Au cours du développement cérébral, les propriétés des niches neurogéniques ont une existence qui s'efface au fur et à mesure que les nouveaux territoires achèvent leur maturation. Elles demeurent en revanche au sein de la ZSV et de la ZSG adultes et font l'objet de régulations permanentes par l'intermédiaire de facteurs internes (facteurs de croissance, neurotransmetteurs, facteurs de transcription, hormones, etc.) et externes (apprentissage, milieu enrichi, exercice physique, interactions sociales, etc.) dont la liste ne cesse aujourd'hui de croître. Alors que le sujet fait encore débat chez l'homme^(11;12), les nouvelles cellules issues de la ZSV empruntent un courant de migration pour atteindre, au terme de quelques millimètres chez les rongeurs, le bulbe olfactif où les neuroblastes se différencient en interneurons inhibiteurs. Dans le cas de l'hippocampe, les neurones générés à partir de la ZSG migrent sur une plus courte distance (tout au plus quelques centaines de micromètres) avant d'intégrer le gyrus denté pour exercer une fonction excitatrice.

La neurogenèse secondaire ne récapitule pas l'embryogenèse

Nous savons aujourd'hui que les capacités à produire de nouveaux neurones relèvent de mécanismes uniques et adaptés au cerveau adulte. Ceux-ci diffèrent des processus mis en œuvre au cours de l'embryogenèse. Bien que le détail des processus moléculaires à partir desquels un précurseur neural acquiert progressivement les caractéristiques d'un véritable neurone nous échappe encore, nous savons que les néo-neurones sont non seulement capables de s'intégrer au sein d'un réseau déjà en place selon des mécanismes différents de ceux à l'œuvre durant l'embryogenèse, mais aussi et surtout, qu'ils sont le support pour des fonctions qu'ils doivent à leurs propriétés physiologiques spécifiques, transitoires et différentes des neurones pré-existants⁽¹³⁾.

Chez le rat, de 5 000 à 10 000 nouvelles cellules naissent chaque jour dans l'hippocampe et participent de manière significative à différentes formes d'apprentissages classiques

ou instrumentaux, ou encore à l'expérience et l'expression de réactions émotionnelles⁽¹⁴⁾. À l'inverse des travaux menés sur l'hippocampe, les études relatives aux conséquences fonctionnelles du renouvellement des neurones bulbaires ont été entreprises plus tardivement. Trente milles neurones rejoignent quotidiennement les couches granulaire et périglomérulaire du bulbe olfactif chez la souris, et un déficit de leur migration s'accompagne de difficultés substantielles à discriminer des odeurs⁽¹⁵⁾. Chez cette même espèce, l'aptitude à mémoriser un panel croissant d'odeurs stimule la production de nouveaux neurones dans le système olfactif. Sous une forme constitutive ou induite, l'addition et le remplacement de neurones posent la question de savoir comment sont alors préservées des aptitudes comme la perception, la discrimination et la reconnaissance de composés odorants.

Entre deux et quatre semaines après leur naissance, une large proportion des neurones nouvellement générés est éliminée. La survie de nombre d'entre-eux sera, à ce stade de leur développement, suspendue en partie au degré d'activité régnant dans les systèmes hippocampique et olfactif. Une série d'expériences conduites pour examiner les effets de l'apprentissage sur la survie des nouveaux neurones montre les effets complexes de l'activité sur la survie neuronale. Dans l'hippocampe, l'apprentissage conduit les plus jeunes neurones (âgés d'une à deux semaines) à la mort cellulaire tandis que la survie des néo-neurones plus âgés (trois à quatre semaines) est favorisée⁽¹⁶⁾. Pour des raisons encore inconnues, cette relation est inversée dans le bulbe olfactif⁽¹⁷⁾ : l'apprentissage d'odeurs facilite la survie des jeunes neurones mais au détriment des plus matures. Dans les deux cas, la fenêtre temporelle critique durant laquelle l'apprentissage peut sauver ou éliminer des nouveaux neurones correspond au moment où les nouvelles cellules immatures commencent à se différencier et recevoir des contacts synaptiques provenant des réseaux dans lesquels

elles s'intègrent. Il reste à définir précisément la nature de cette information qui peut favoriser, selon l'âge de la cellule, la survie ou la mort neuronale.

Conclusions

Depuis les travaux fondateurs réalisés par Hubel et Wiesel dans les années 60⁽¹⁸⁾, nous savons que l'expérience et l'environnement jouent un rôle essentiel dans la maturation du cerveau au cours du développement post-natal, et dans l'ajustement des aptitudes comportementales individuelles. Les remaniements des connexions neuronales qui prennent alors place inscrivent dans les réseaux neuronaux les marques propres à chacun. La neurogenèse secondaire s'inscrit à son tour comme une forme unique de plasticité et comme un processus supplémentaire d'individuation dont la particularité est de demeurer opérationnel durant toute la vie.

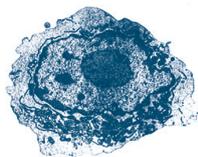
Si la découverte de la neurogenèse secondaire vient enrichir nos connaissances sur les mécanismes et les fonctions fondamentales du système nerveux central, on ne peut manquer d'envisager une exploitation potentielle des propriétés réparatrices endogènes du cerveau qu'elle suggère⁽¹⁹⁾. Dans ce domaine, l'avenir le plus proche est dans la mise en œuvre d'applications visant à transplanter ou détourner depuis leur zone germinative des neurones nouvellement formés sous le contrôle de facteurs moléculaires facilitant leur recrutement, leur différenciation et leur intégration. Ces vingt dernières années ont été, à la fois, celles d'un essor considérable des connaissances sur l'origine, la caractérisation et les propriétés des cellules souches neurales et indéniablement le témoignage d'un domaine de recherche fondamental et clinique voué à un avenir prometteur. ■

pmlledo@pasteur.fr
ggheusi@pasteur.fr

Références, page 26

NICOLE LE DOUARIN

LES CELLULES SOUCHES,
PORTEUSES D'IMMORTALITÉ



LES CELLULES SOUCHES
PORTEUSES
D'IMMORTALITÉ

Nicole le Douarin

Odile Jacob, 2007

FONDATION THÉRÈSE ET RENÉ PLANIOL
POUR L'ÉTUDE DU CERVEAU

En 2010, la Fondation Planiol propose 60 000 € pour l'aide à la recherche et à la formation :

- Prix Jeune Chercheur (moins de 35 ans) : 5 000 €.
- Soutien de programmes de recherches : 37 500 €.
- Aides à la mobilité et à la formation (en France et à l'étranger) : 17 500 €.

Pour toutes ces demandes, la priorité sera donnée aux études portant sur le cerveau humain.

Date limite : 30/09/2010 - Consultez : www.fondation-planiol.fr

SPÉCIFICATION DES CELLULES SOUCHES PLURIPOTENTES EN CELLULES NEURALES : DES NOUVEAUX MODÈLES D'ÉTUDE DU NEURO-DÉVELOPPEMENT NORMAL ET PATHOLOGIQUE.

par Tristan Bouschet, Pierre Vanderhaeghen, Nicolas Gaspard

1. Les cellules souches embryonnaires : une approche réductionniste du développement neural mammifère

L'identification des mécanismes responsables du développement neural est d'une importance capitale pour notre compréhension des maladies neuro-développementales humaines. D'autre part, c'est en maîtrisant ces mécanismes qu'il deviendra possible de générer des cellules neurales exogènes "à la carte", pouvant remplacer les cellules endogènes endommagées.

Pour mettre à jour ces mécanismes, les neurobiologistes du développement cherchent à utiliser ou à développer des modèles simplifiés reproduisant le plus fidèlement possible la complexité du développement neural du mammifère.

Une première option consiste à étudier des organismes plus simples où les plans développementaux fondamen-

taux sont conservés, depuis le nématode jusqu'aux batraciens, mais malgré leurs apports indiscutables, ces modèles ne peuvent rendre compte du saut dans la complexité cérébrale consécutive à l'essor des mammifères.

La seconde alternative consiste donc à développer des modèles minimalistes issus d'espèces mammifères. Dans ce contexte, l'utilisation des cellules souches embryonnaires (ES), qui sont pluripotentes (elles ont la capacité de générer tous les tissus, moins les annexes extra-embryonnaires) ou celle de cellules somatiques reprogrammées vers un état pluripotent, apparaît comme un outil alternatif particulièrement attrayant⁽¹⁾.

En effet, ces cellules, qu'elles soient naturellement ou artificiellement rendues pluripotentes par l'emploi de facteurs de reprogrammation contribuent à l'ensemble des organes lors d'expérience de génération d'embryons chimériques^(2;3), preuve ultime de leur capacité à générer tous les tissus, en tout cas pour les cellules d'origine murine.

Les questions capitales dans le domaine sont dès lors : comment canaliser leur remarquable potentiel développemental pour amener ces cellules pluripotentes vers le destin neural d'intérêt ; dans quelle mesure le cheminement emprunté par ces cellules *in vitro* reflète-t-il celui adopté par les cellules endogènes dans l'organisme en formation ; dans quelle mesure les cellules matures ainsi

Table 1. Spécification des cellules ES murines (mES), humaines (hES) ou reprogrammées (iPS) en différents sous-types neuraux

	mES	hES	iPS
Motoneurones de la moelle	Wichterle et al., 2002 ⁽¹⁰⁾	Li et al., 2005 ⁽³⁸⁾ Hu and Zhang, 2009 ⁽²¹⁾	Hu and Zhang, 2009 ⁽²¹⁾ Ebert et al., 2009 ⁽³¹⁾ Dimos et al., 2008 ⁽³²⁾
Interneurones dorsaux de la moelle	Murashov et al., 2005 ⁽⁹⁾	ND	ND
Cellules rétiniennes	Ikeda et al., 2005 ⁽¹⁵⁾ Osakada et al., 2009 ⁽³⁴⁾	Osakada et al., 2009 ⁽³⁴⁾	Osakada et al., 2009 ⁽³⁴⁾
Cellules corticales	Eiraku et al., 2008 ⁽¹²⁾ Gaspard et al., 2008 ⁽¹⁵⁾	Li et al., 2009 ⁽²⁰⁾ Eiraku et al., 2008 ⁽¹²⁾	ND
Neurones dopaminergiques	Lee et al., 2000 ⁽¹⁴⁾ Kim et al., 2002 ⁽⁴⁰⁾ Andersson et al., 2006 ⁽⁴¹⁾	Perrier et al., 2004 ⁽²²⁾	Wernig et al., 2008 ⁽³⁷⁾
Oreille interne	Li et al., 2003 ⁽⁴²⁾	ND	Nishimura et al., 2009 ⁽³⁵⁾
Oligodendrocytes	Billon et al., 2006 ⁽⁴³⁾	Hu et al., 2009 ⁽²³⁾	
Neurones du cervelet	Su et al., 2006 ⁽⁴⁴⁾	ND	ND
Neurones hypothalamiques	Wataya et al., 2008 ⁽⁶⁾	ND	ND
MSNs du striatum	ND	Aubry et al., 2008 ⁽⁴⁵⁾	ND
Crêtes neurales	Mizuseki et al., 2003 ⁽⁴⁶⁾	Lee et al., 2007 ⁽⁴⁷⁾	ND
Neurones sérotoninergiques	Lee et al., 2000 ⁽¹⁴⁾	Kumar et al., 2009 ⁽⁴⁸⁾	ND

ND : non déterminé.

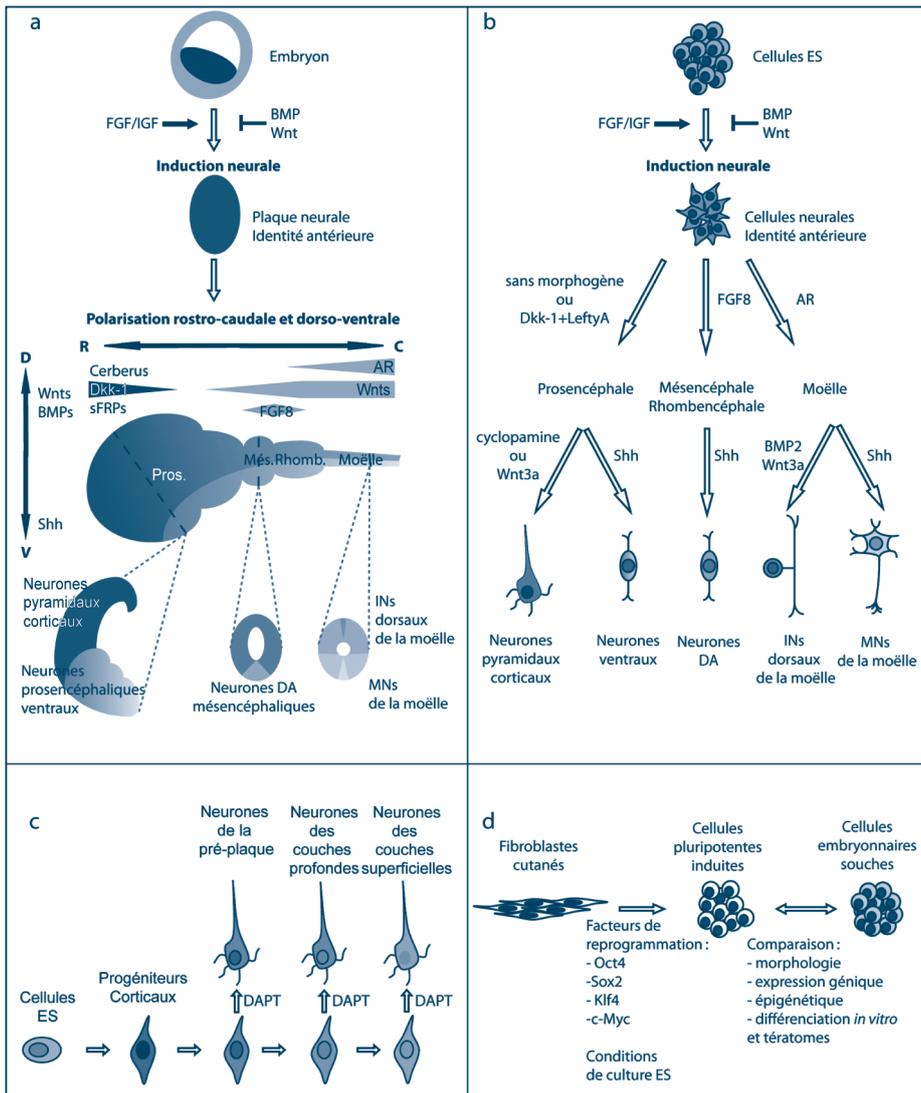


Figure 1
Représentation schématique des méthodes de spécification neurale des cellules souches et de reprogrammation des cellules iPS.

(a) Mécanismes d'induction neurale et de spécification régionale de la plaquette neurale par l'action coordonnée des voies de signalisation BMP, Wnt, FGF/IGF, Shh et de l'acide rétinolique (AR). La plaquette neurale d'identité initialement antérieure est secondairement polarisée selon les axes rostro-caudal et dorso-ventral.

(b) L'induction neurale et la spécification de l'identité des progéniteurs neurales et des neurones dérivés des cellules ES suivent les mêmes voies qu'*in vivo*.

(c) Les progéniteurs corticaux dérivés des cellules ES subissent un changement progressif de compétence qui mène à la génération successive de neurones pyramidaux d'identités différentes selon une séquence précise ; la différenciation des progéniteurs peut être forcée par l'inhibition pharmacologique de la voie Notch (DAPT) et permet d'enrichir la culture en certains sous-types neuronaux.

(d) Génération de cellules iPS à partir de cellules somatiques adultes (fibroblastes cutanés) ; les cellules IPS sont comparables aux cellules ES sur le plan morphologique, épigénétique, transcriptionnel et dans leur potentiel de différenciation *in vitro* et *in vivo*.

généérées sont-elles vraiment semblables aux cellules natives générées au cours du développement *in vivo* ?

Le développement du système nerveux passe par sa subdivision en régions distinctes grâce à l'action de signaux de spécification diffusibles (morphogènes) selon les axes rostro-caudaux et dorso-ventraux (figure 1a). Simultanément, dans la majorité de ces régions et en particulier le cortex cérébral, les différents sous-types neuronaux sont générés dans un ordre temporel spécifique (figure 1c)⁽⁴⁾. En exploitant les connaissances de ces mécanismes de spécification obtenues *in vivo* chez la souris et les vertébrés inférieurs et en les transposant aux cellules ES murines, de multiples sous-types neuronaux ont pu être générés (figure 1a-b et Table 1). À condition que les différents signaux de différenciation soient fournis en quantité appropriée et dans la fenêtre temporelle adéquate, les séquences développementales conduisant à l'apparition de ces différents sous-types neuronaux sont reproduites en culture *in vitro*.

Ainsi, la différenciation des ES dans un milieu dépourvu de tout morphogène exogène mène à la génération de cellules neurales d'identité antérieure^(5,6), en accord avec

le modèle consensuel de différenciation neurale "par défaut"⁽⁷⁾. De même, l'inhibition de signaux caudalisants tels que Wnt et TGF-beta, par des antagonistes lors de la différenciation dans un milieu contenant du sérum ou une alternative de composition chimiquement déterminée, accroissent la proportion de cellules d'identité antérieure⁽⁸⁾. Logiquement, la génération de progéniteurs et de neurones d'identité caudale fait appel à des molécules caudalisantes : acide rétinolique pour les neurones de la moëlle^(9,10), Wnt et FGF-8 (Fibroblast Growth Factor-8) pour le cervelet⁽¹¹⁾ et le mésencéphale (figure 1A-B).

Outre la spécification selon l'axe rostro-caudal, l'identité des cellules neurales peut également être modifiée selon l'axe dorso-ventral. Ainsi, l'inhibition du signal ventralisant Sonic Hedgehog (Shh), un morphogène ubiquitaire le long du tube neural permet l'enrichissement en populations d'identité dorsale, telles les cellules corticales⁽⁵⁾. L'exposition des cellules à des signaux dorsalisants tels que Wnt ou BMP a un effet similaire, aboutissant à la génération de cellules d'identité corticale^(8;12;13) ou des populations neuronales dorsales de la moëlle⁽⁹⁾ alors que Shh promeut les populations d'identité ventrale, telles

que diencephaliques⁽⁸⁾ ou les motoneurones de la moelle⁽¹⁰⁾, ou du mésencéphale⁽¹⁴⁾. Enfin, selon la fenêtre temporelle d'exposition choisie, des manipulations plus fines de l'identité cellulaire peuvent être réalisées. Ainsi, l'identité rostro-caudale de cellules neurales corticales dérivées d'ES peut être modulée en les exposant à des morphogènes tels que FGF-8 ou à leur antagoniste⁽¹²⁾.

Cette approche de transposition est encore limitée par notre connaissance imparfaite des mécanismes *in vivo* et oblige parfois à une approche empirique, telle que celle utilisée pour générer des cellules rétinienne, faisant appel à un composant non identifié du sérum⁽¹⁵⁾. Outre la réponse aux morphogènes, certains comportements intrinsèques des progéniteurs neurales sont reproduits par leurs équivalents *in vitro*. C'est par exemple le cas des progéniteurs corticaux issus des cellules ES qui génèrent de manière séquentielle les différents sous-types neuronaux du cortex cérébral^(5;12) (figure 1c). De manière intéressante, la manipulation de la voie de signalisation Notch-Delta permet d'enrichir la population en un sous-type neuronal particulier⁽¹²⁾ (figure 1c).

L'utilisation des cellules ES présente bien d'autres intérêts (table 2). Cultivées comme de simples lignées cellulaires, elles ont une capacité unique d'auto-renouvellement et peuvent être amplifiées indéfiniment. Grâce à leur capacité à être modifiées génétiquement, elles permettent de réaliser des approches classiques de perte ou de gain de fonction. Finalement, en utilisant des blastocystes issus de souris transgéniques, il est possible de générer des nouvelles lignées de cellules ES transgéniques et de comparer les progéniteurs neurales et neurones dérivés à ceux de la lignée WT. Une telle approche a permis de montrer que Pax6 contrôle l'expression de p75-NTR⁽¹⁶⁾ et que APP et APLP2 participent au développement synaptique⁽¹⁷⁾.

2. De la souris à l'Homme

L'isolation de la première lignée de cellules ES à partir de blastocystes humains en 1998⁽¹⁸⁾ a marqué l'entrée dans une nouvelle ère de recherche. Par-delà, l'intérêt évident d'utiliser ces cellules dans un but de médecine régénérative, les cellules ES humaines (hES) représentent une opportunité unique pour découvrir les mécanismes responsables du développement neural humain. L'utilisation des cellules hES souffre cependant de nombreux obstacles (voir table 2) : éthiques et logistiques d'une part, puisque la dérivation de lignées de cellules hES dépend de la biodisponibilité de blastocystes surnuméraires ; d'autre part, les différentes lignées de cellules hES ont des signatures transcriptionnelles très différentes à l'état non-différencié, traduisant vraisemblablement leur instabilité génomique, les variations impondérables de la

source et de la façon dont ont été produites ces différentes lignées, ainsi que les polymorphismes génétiques (table 2). En conséquence il existe une grande variabilité entre les lignées dans leur capacité à générer du tissu neural^(11;19).

Enfin, le problème majeur est sans doute celui du manque d'étalon auquel comparer le développement des cellules hES. Si les grandes étapes, notamment précoces, du développement cérébral humain sont connues, nous manquons encore d'informations sur les étapes plus tardives et sur les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents, dont certains sont sans doute spécifiques à l'homme ou aux primates.

Malgré ces limitations, des cellules présentant des propriétés proches de celles de progéniteurs télencéphaliques^(12;20), de motoneurones⁽²¹⁾, de neurones dopaminergiques⁽²²⁾, d'oligodendrocytes⁽²³⁾ (Table 1) ont pu être générées depuis des cellules hES. Les processus de différenciation des hES sont souvent empruntés à ceux déterminés dans les expériences de différenciation des cellules mES. Par exemple, les progéniteurs du télencéphale sont obtenus par défaut depuis les cellules hES⁽²⁰⁾ comme ils le sont depuis les cellules mES⁽⁵⁾. Mais contrairement aux cellules mES qui génèrent une population mixte et proportionnellement équilibrée de progéniteurs ventraux et dorsaux, les hES génèrent majoritairement des cellules d'identité dorsale.

Finalement, le développement de nouveaux outils de transgénèse basé sur les transposons⁽²⁴⁾ ou les nucléases à doigt de Zinc⁽²⁵⁾ permettant d'éditer le génome des cellules hES, devrait grandement faciliter la détermination de la fonction de gènes dans les modèles basés sur le neuro-développement de ces cellules.

3. Les cellules reprogrammées : le futur en remontant le temps ?

Enfin, plus récemment encore, la reprogrammation a ouvert la voie à la création des premiers modèles cellulaires d'études des maladies neurologiques humaines. Le procédé révolutionnaire de reprogrammation, mis au point par Yamanaka⁽²⁶⁾, consiste à inverser le sens des aiguilles de l'horloge développementale pour ramener des cellules somatiques, différenciées, à un état pluripotent ressemblant à celui des cellules ES (figure 1d). Il repose sur la surexpression de facteurs par le biais de vecteurs viraux, plasmidiques, protéiques, de transposons ou par des molécules chimiques. Chacune de ces stratégies présente ses propres avantages et inconvénients⁽²⁷⁾. Toutes conduisent à une reprogrammation cellulaire après quelques semaines de culture^(27;28). De façon importante, les cellules iPS (induced Pluripotent Stem cells) ainsi générées sont pluripotentes, s'auto-renouvellent et sont issues

Table 2. Avantages et inconvénients des cellules ES murines (mES), humaines (hES) ou reprogrammées (iPS)

	mES	hES	iPS
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> • Source illimitée • Potentiel développemental illimité (pluripotence) • Expansion illimitée (autorenouvellement) • Transgénèse • Cribles pharmacologiques • Cribles génétiques • Modèle développemental aisément comparable à l'<i>in vivo</i> • Pas de limitation éthique 	<ul style="list-style-type: none"> • Potentiel développemental illimité (pluripotence) • Expansion illimitée (autorenouvellement) • Transgénèse • Cribles pharmacologiques • Cribles génétiques • Modèle développemental unique • Limitations éthiques 	<ul style="list-style-type: none"> • Source illimitée et identifiée • Potentiel développemental illimité (pluripotence) • Expansion illimitée (autorenouvellement) • Transgénèse • Cribles pharmacologiques • Cribles génétiques • Modélisation de maladies cérébrales rares • Cribles pharmacologiques • Cribles génétiques • Immunohistocompatibilité • Pas de limitation éthique
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> • Différences entre cerveau murin et humain 	<ul style="list-style-type: none"> • Source limitée et mal identifiée • Éthique • Qualité de la source ? • Instabilité génétique ? • Modèle développemental difficilement comparable à l'<i>in vivo</i> • Variabilité interlignée dans la capacité à se différencier en cellules neurales 	<ul style="list-style-type: none"> • Modèle développemental difficilement comparable à l'<i>in vivo</i> • Procédés encore non standardisés pour les cellules humaines • Potentiel neural encore largement inexploré

d'un organisme développé et parfaitement caractérisé, notamment au plan génétique (table 2). Des cellules iPS ont été générées depuis des fibroblastes de patients souffrants d'atteintes neuro-dégénératives comme Huntington et Parkinson⁽²⁹⁾, de dysautonomie familiale⁽³⁰⁾, d'atrophie musculaire spinale⁽³¹⁾ ou de sclérose latérale amyotrophique⁽³²⁾.

Des lignées iPS ont été également générées depuis des fibroblastes de patients souffrant d'atteintes neuro-développementales, comme le syndrome de Rett⁽³³⁾ ou de trisomie 21⁽²⁹⁾. Ces cellules reprogrammées devraient permettre de comprendre respectivement comment les mutations de MECP2, responsables du syndrome de Rett, ou comment une paire excédentaire de chromosome 21 altère la spécification neurale, en comparant les développements *in vitro* de ces cellules à celui de cellules reprogrammées depuis un parent sain. Si un immense effort a été réalisé pour améliorer la technologie de reprogrammation⁽²⁷⁾, nous ne disposons que de peu d'informations sur la propension de ces cellules à se différencier en neurones. Il a été néanmoins montré que les cellules reprogrammées issues de patients souffrant de dysautonomie forment des neurones périphériques⁽³⁰⁾ et qu'il est possible de générer des motoneurones depuis des cellules iPS de patients souffrant d'atrophie musculaire spinale⁽³¹⁾ ou de sclérose latérale amyotrophique⁽³²⁾. Des cellules iPS ont été également spécifiées en cellules rétinienne⁽³⁴⁾ ou en neurones de la cochlée⁽³⁵⁾ (voir table 1). Enfin, tout récemment, des fibroblastes ont été directement convertis en neurones, sans passer par l'état iPS, ce qui constitue un saut technologique et conceptuel majeur, même si l'identité fine de ces cellules transdifférenciées reste à déterminer⁽³⁶⁾.

À plus long terme, le développement de ces technologies devrait avoir un impact dans le développement de thérapies cellulaires de remplacement neural pour une série de maladies neurologiques. À cet égard, l'efficacité potentielle de neurones dopaminergiques dérivés d'iPS murines est suggérée par leur capacité à améliorer les paramètres neurologiques dans un modèle murin de maladie de Parkinson⁽³⁷⁾. Un des challenges majeurs dans ce domaine sera de déterminer dans quelle mesure les neurones générés à partir de cellules pluripotentes sont capables de s'intégrer de façon efficace et utile dans le cerveau greffé, ce qui nécessitera de combiner analyse de l'identité des neurones *in vitro* et étude de leurs projections axonales et connexions *in vivo*⁽⁵⁾.

Conclusions

Les cellules ES et iPS murines et humaines représentent des modèles alternatifs qui offrent un espoir légitime dans l'optique d'identifier les processus développementaux responsables du développement neural normal et pathologique. Le processus de reprogrammation désormais bien maîtrisé et qui ne nécessite pas une infrastructure démesurée devrait permettre de prendre en considération des maladies rares, notamment celles caractérisées par des délétions chromosomiques de grande taille qui sont difficiles à reproduire par génie génétique, ouvrant la voie à une nouvelle approche physiopathologique des syndromes développementaux humains. ■

tristan.bouschet@ulb.ac.be
ngaspard@ulb.ac.be
pvdhaegh@ulb.ac.be

Références, page 26

LA RÉSURGENCE DE LA TRANSPLANTATION COMME THÉRAPIE POTENTIELLE DE MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

par Afsaneh Gaillard

La transplantation neuronale : actualités, limites et espoirs

Les pathologies du système nerveux central (SNC), qu'elles soient d'origine traumatique, vasculaire ou dégénérative, sont caractérisées par des pertes de neurones et de circuits neuronaux. Une façon de remplacer les neurones détruits est la transplantation cellulaire.

La démonstration d'un effet fonctionnel de greffes intracérébrales de tissu neural a été apportée pour la première fois dans le cadre de la maladie de Parkinson (MP) ^(1;2). Il a été observé que la transplantation intrastriale de neurones dopaminergiques du mésencéphale ventral (MV) améliorerait les symptômes fonctionnels consécutifs à une lésion induite dans un modèle animal de cette maladie. Ces travaux ont ouvert la voie à de nombreuses études de transplantations dans des modèles animaux présentant diverses maladies neurodégénératives.

Thérapie cellulaire dans l'atteinte corticale

La perte des neurones corticaux est une caractéristique commune de nombreuses conditions neuropathologiques telles que les lésions (traumatiques, vasculaires...) ou les maladies neurodégénératives (sclérose latérale amyotrophique, maladies d'Huntington, d'Alzheimer...). La repousse axonale joue un rôle important dans la récupération fonctionnelle des circuits moteurs endommagés. Nous avons récemment montré les capacités inattendues de développement axonal de neurones immatures transplantés dans le SNC adulte ^(3;4). Afin de tester la possibilité de la reconstruction des voies motrices endommagées, des cellules embryonnaires corticales, issues de souris transgéniques exprimant une protéine fluorescente, la Green Fluorescent Protein (GFP), ont été transplantées au sein du cortex moteur préalablement lésé de souris adultes. L'utilisation de souris transgéniques, dont les cellules expriment la GFP, permet de distinguer le greffon de l'hôte et de suivre la connectivité des neurones transplantés au niveau de leurs cibles. Avec cette approche expérimentale, nous avons montré que des neurones embryonnaires du cortex moteur transplantés immédiatement après la lésion du cortex moteur, chez un receveur adulte, développent des projections vers des cibles normales du site cortical dans lequel ils sont placés. De plus, nous avons montré que des neurones embryonnaires issus d'autres régions corticales que le cortex moteur sont



incapables de réparer des voies motrices endommagées. En effet, des neurones embryonnaires du cortex visuel transplantés dans le cortex moteur projettent vers les cibles du cortex visuel et non pas vers les cibles du cortex moteur. Dans ce cadre, les recherches en cours sur l'intérêt des cellules souches pour la transplantation devraient se focaliser sur les facteurs et les signaux, et qui non seulement vont promouvoir la maturation des cellules souches en neurones mais surtout en un phénotype neuronal spécifique et approprié en fonction de la région à réparer. Sans cela, le risque est potentiellement important d'obtenir des projections non spécifiques et aberrantes.

Tout récemment, l'équipe de Pierre Vanderhaeghen en Belgique, a mis en évidence une nouvelle voie *in vitro* de différenciation intrinsèque, par laquelle des cellules souches embryonnaires (ES) murines, peuvent être efficacement spécifiées en cellules corticales fonctionnelles ⁽⁵⁾. De plus, nous avons montré que les neurones différenciés à partir de cellules ES, une fois greffés dans du cortex moteur de souris nouveau-nées, récapitulent un profil de connectivité similaire à celui de neurones corticaux natifs, envoyant des projections vers le cortex, le striatum et plusieurs régions sous-corticales spécifiques (thalamus, mésencéphale, tronc cérébral). De façon intéressante, le profil de connectivité observé représente une assez large diversité de neurones, correspondant potentiellement à diverses couches corticales. De plus, ces neurones présentent un profil de projections axonales spécifique en termes d'aires corticales. En effet, la plupart des neurones greffés projettent vers des cibles sélectivement visuelles et limbiques, et ne projettent pas ou peu vers les cibles des autres aires corticales. Des résultats similaires ont été obtenus par Eiraku et al, 2008 ⁽⁶⁾ qui ont montré que des neurones corticaux dérivés de cellules ES murines greffés dans le cortex de souris nouveau-nées, envoient des projections vers le cortex, striatum, noyau du pont et les pédoncules cérébraux ⁽⁶⁾.

Ces résultats montrent que des cellules ES peuvent être efficacement spécifiées en neurones corticaux fonctionnels. Sur la base de ces résultats, il est important d'examiner la potentialité de neurones corticaux dérivés de cellules ES à restaurer les voies corticales lésées dans des modèles animaux de lésion corticale d'un point de vue neuroanatomique et fonctionnel.

Thérapie cellulaire dans la maladie de Parkinson

La MP est une maladie caractérisée par la perte de neurones dopaminergiques de la substance noire qui projettent vers le striatum. Une des approches thérapeutiques expérimentales dans la MP, consiste à greffer des neurones dopaminergiques de mésencéphale ventral foetal au niveau du striatum, la région cible de neurones dopaminergiques. Cette approche a donné lieu à des travaux intensifs ces deux dernières décennies et a abouti à des essais cliniques chez des patients parkinsoniens. Les expériences de greffe, dans des modèles animaux de la MP, ont montré que les cellules transplantées survivent longtemps au sein du striatum, établissent des connexions synaptiques fonctionnelles avec les neurones du striatum, libèrent la dopamine et améliorent certains comportements moteurs. Chez l'homme, des essais cliniques de transplantation intrastriatale de neurones dopaminergiques de MV foetal ont ainsi apporté la démonstration de l'innocuité et surtout du potentiel thérapeutique d'une telle approche pour les patients atteints par la MP. Néanmoins, il est peu probable que la transplantation des neurones dopaminergiques de MV humains devienne un traitement de routine de la MP, en raison de problèmes d'approvisionnement et de standardisation de tissus pour la transplantation et d'amélioration des fonctions motrices qui n'a été observée que chez un pourcentage restreint de patients. L'avenir de ces greffes dépend donc de l'obtention de sources alternatives de tissus. L'utilisation de neurones dérivés de cellules souches apparaît comme une excellente alternative, si l'on parvient à maîtriser leur différenciation en neurones dopaminergiques du type nigral. En vue d'une application clinique, une source cellulaire alternative devrait présenter une innocuité et un potentiel thérapeutique au moins équivalent au tissu foetal, qui constitue la référence en matière de greffe.

La première étude de transplantation de neurones dopaminergiques dérivés de cellules ES a été effectuée en 2000⁽⁷⁾. Dans un modèle animal de la MP, des neurones dopaminergiques produits *in vitro* à partir de cellules ES de souris ont été greffés dans le striatum de souris, trois jours après la lésion de la voie nigrostriée induite par l'administration de 6-hydroxy dopamine (6-OHDA). Environ 22 % des cellules dopaminergiques présentes dans la culture cellulaire utilisée pour la greffe ont survécu après transplantation. Cependant, dans cette étude, la fonctionnalité des cellules greffées n'a pas été examinée. La démonstration d'un effet fonctionnel de greffes de neurones dopaminergiques, dérivés des cellules ES, a été apportée pour la première fois par l'équipe de Mc Kay⁽⁸⁾. Des rats, ayant subi des lésions unilatérales de la voie nigrostriatale à la 6-OHDA, ont reçu dans le striatum, des

transplants de neurones dopaminergiques produits *in vitro* à partir de cellules ES de souris. Les neurones transplantés induisent une récupération fonctionnelle, établissent des synapses fonctionnelles avec les neurones de l'hôte et possèdent les caractéristiques électrophysiologiques de neurones dopaminergiques mésencéphaliques⁽⁸⁾. Des résultats similaires ont été obtenus par Rodríguez-Gómez et al., 2007⁽⁹⁾, qui ont montré que les neurones dopaminergiques dérivés de cellules ES survivent à long terme (32 semaines). Le comportement rotatoire induit par l'amphétamine chez ces rats est inversé par les transplants après 4 mois et cela reste stable jusqu'à 32 semaines après la greffe. Cet effet fonctionnel est corrélé à l'augmentation des niveaux de transporteurs de dopamine dans le striatum⁽⁹⁾.

Dans un contexte clinique, les neurones dopaminergiques dérivés de cellules souches, doivent être probablement d'origine humaine. De nombreuses études ont démontré la possibilité de différencier les cellules ES humaines en neurones dopaminergiques du mésencéphale^(10;11). Plus encore, la transplantation de neurones dopaminergiques dérivés de cellules ES humaines, dans un modèle animal de la MP, a mis en évidence la capacité de ces neurones à survivre et à améliorer certains symptômes moteurs^(12;13;14).

Depuis leur découverte, les cellules souches pluripotentes induites ou *induced-pluripotent stem cells* (iPS) constituent une avancée majeure dans le domaine de la recherche sur les cellules souches, car elles permettent d'obtenir des cellules souches pluripotentes à partir de cellules directement prélevées sur le patient. Pour les applications thérapeutiques, c'est un avantage majeur car les greffes ne présenteront pas de problèmes d'immunocompatibilité. En 2009, Soldner et al.⁽¹⁵⁾ ont obtenu des neurones dopaminergiques, à partir de fibroblastes prélevés chez cinq patients atteints de la MP.

Bien que les expériences réalisées jusqu'à présent soient très encourageantes, des études complémentaires restent nécessaires, avant que cette approche thérapeutique puisse être utilisée en clinique. En particulier, il est nécessaire de contrôler l'absence de cellules souches pluripotentes dans la préparation destinée à la greffe, à cause du risque de transformation cancéreuse qu'elles présentent. De plus, les essais cliniques de greffes de neurones dérivés de cellules souches seront conditionnés par une évaluation rigoureuse et contrôlée à long terme sur des modèles animaux qui se rapprochent au mieux de la situation pathologique rencontrée chez l'homme. ■

afsaneh.gaillard@univ-poitiers.fr

Références, page 27

QUEL AVENIR THÉRAPEUTIQUE POUR LES CELLULES SOUCHES DANS LE TRAITEMENT DES MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES ?

par Philippe Hantraye, Anselme L. Perrier

Introduction

Depuis un peu plus de 10 ans, le domaine des cellules souches et celui de la compréhension de leur biologie connaît de très grandes avancées. Ces découvertes permettent maintenant de fonder de vrais espoirs sur une utilisation clinique de la thérapie cellulaire, pour le traitement de plusieurs maladies neurodégénératives mais de nombreux travaux restent encore nécessaires afin de combler les incertitudes qui subsistent encore, quant à leur mise en œuvre dans des essais cliniques.

Dans un tel contexte de recherche translationnelle, plusieurs types de cellules ont ainsi été identifiés, démontrant des "qualités intrinsèques" différentes pour une utilisation en thérapie humaine. Par ailleurs, en l'état de nos connaissances, l'ensemble des maladies neurodégénératives ne sera pas accessible pour une thérapie cellulaire, et seules pour quelques-unes de ces pathologies, il sera possible de développer une stratégie d'implantation cellulaire efficace et durable. Pour une grande partie, la problématique actuelle est d'identifier le type cellulaire adéquat en regard d'une utilisation pour une pathologie donnée.

Cellules souches disponibles pour des applications dans le système nerveux central (SNC)

Plusieurs types de cellules souches humaines ont été identifiés, chacun faisant l'objet d'intenses efforts de recherche afin d'en étudier d'une part, la biologie particulière et d'autre part, d'en explorer le potentiel thérapeutique dans les contextes d'allo- ou d'auto-greffe. On peut ainsi distinguer : les cellules souches embryonnaires humaines dérivées de la masse interne de blastocystes d'embryons surnuméraires issus de la fécondation *in vitro* ; les cellules souches neurales fœtales extraites de tissus nerveux de fœtus humain ; les cellules souches neurales adultes, présentes dans certaines régions du cerveau normal et récupérées soit à partir de matériel post-mortem, soit à partir de biopsies et enfin, les cellules souches non-neurales issues de tissus non nerveux tels que la moelle osseuse ou la peau ou encore du sang de cordon. Plus récemment, des cellules souches particulièrement prometteuses, générées à partir de cellules somatiques adultes, manipulées ("reprogrammées") par transgénèse multiple *in vitro* pour "retrouver" un état prolifératif et pluripotent très proche de celui des cellules souches embryonnaires (cellules pluripotentes induites, iPSC), ont été décrites.

À l'heure actuelle, les données de la littérature montrent qu'aucune de ces cellules ne possède l'ensemble des caractéristiques permettant de répondre – de façon idéale - aux multiples besoins thérapeutiques. Néanmoins, les cellules souches pluripotentes humaines (hESC pour "cellules souches embryonnaires humaines" et ou iPSC pour "cellules souches pluripotentes induites") dont les deux propriétés canoniques sont la pluripotence et l'auto-renouvellement sont, par définition, celles qui possèdent le plus grand potentiel à générer, en quantités importantes, des types cellulaires pertinents tels que des neurones dopaminergiques⁽¹⁾, des motoneurones⁽²⁾ ou des neurones GABAergiques striataux⁽³⁾. Les progénies de ce type de cellules semblent particulièrement prometteuses pour développer des stratégies de remplacement cellulaire ou de reconstruction de circuits neuronaux spécifiques. Les cellules souches embryonnaires humaines (hESC) sont actuellement les cellules souches pluripotentes humaines les mieux caractérisées et les plus susceptibles d'être rapidement utilisées comme source cellulaire pour des essais cliniques de thérapie cellulaire dans le cadre des maladies neurodégénératives. Des lignées de hESC de grade clinique sont déjà disponibles ou sur le point de l'être et plusieurs demandes d'autorisation d'essai clinique de thérapie cellulaire à partir de progénies de hESC sont en cours ou prêtes à être examinées par différentes agences réglementaires nationales (Geron – FDA). Pour ce qui concerne l'autre source de cellules souches pluripotentes humaines, les cellules souches pluripotentes induites humaines (h-iPSC), la technologie de production (reprogrammation) étant beaucoup plus récente^(4;5), ce dernier type cellulaire reste encore bien moins caractérisé. Les perspectives d'utilisation clinique de ce type cellulaire apparaissent pour le moment plus lointaines même si l'accès aisé à des cellules haplotypées, voire autologues (h-iPSC patient - spécifiques), suscite un enthousiasme très important. Les technologies de reprogrammation les plus couramment utilisées impliquent les expressions transgéniques intégratives d'un oncogène et de plusieurs gènes "régulateurs maîtres" de la pluripotence. Après implantation de telles cellules *in vivo*, la technologie telle que maîtrisée actuellement (avec une répression transcriptionnelle de l'oncogène encore imparfaite) exacerbe trop les risques de formation de tumeurs et n'est donc pas pour le moment adaptée pour des applications cliniques. Cependant, les techniques de reprogrammation font l'objet de recherches très intenses et pourraient dans un avenir, sans doute proche, fournir un moyen de produire des iPSC humaines compatibles avec une utilisation en clinique.

Comparées aux cellules souches pluripotentes, les cellules souches fœtales, qui ne sont que "multipotentes", montrent un potentiel prolifératif plus limité, sans perdre leur potentiel de différenciation *in vitro/in vivo* en cellules

neuronaux pertinentes. En revanche, même si leur utilisation pratique pose des problèmes logistiques particulièrement épineux (approvisionnement, standardisation, amplification des produits cellulaires à greffer), dans certaines circonstances expérimentales, les cellules souches fœtales peuvent ou pourraient générer en nombres suffisants des neurones (striataux, dopaminergiques, etc.) ou des cellules gliales (astrocytes, oligodendrocytes), potentiellement capables – après transfert de gène *in vitro* ou non – de produire *in situ*, un agent d'intérêt thérapeutique.

Les stratégies d'interventions envisageables en thérapie cellulaire

Les possibilités d'utilisation de cellules souches en thérapie cellulaire dépendent largement des types de cellules disponibles et de leurs propriétés biologiques. Deux grandes catégories de stratégies pour une utilisation clinique ont été testées *in vivo* grâce aux neuroblastes fœtaux avec des utilisations précliniques et cliniques nombreuses dans le contexte de la maladie de Parkinson et de la maladie de Huntington. La première stratégie – réparatrice – vise à compenser la perte des neurones atteints de dégénérescence par l'implantation *in situ* de cellules capables de les remplacer dans les circuits neuronaux. On parle alors aussi de thérapie cellulaire substitutive. Cette stratégie suppose que les cellules greffées puissent non seulement survivre mais aussi s'intégrer anatomiquement dans un environnement peu favorable (le cerveau adulte) et fonctionnellement dans des circuits neuronaux pré-existants tout en normalisant le fonctionnement de ceux-ci (6;7). Dans le cas de neuroblastes fœtaux, de nombreuses données pré-cliniques ont montré qu'une telle intégration anatomo-fonctionnelle est possible et que les cellules greffées dans le cerveau du receveur sont non seulement capables d'une différenciation terminale en neurones adultes, mais également de s'intégrer dans le circuit neuronal interrompu par le processus dégénératif en restaurant certaines fonctions perdues. En particulier, les cellules greffées présentent la capacité d'établir des contacts synaptiques fonctionnels avec les cellules du receveur, ces dernières rétro-régulant les activités des premières. La faisabilité de cette reconstruction de circuit neuronal, largement établie au stade pré-clinique dans différents modèles animaux a également trouvé une démonstration clinique dans le cas de la maladie de Huntington (8;9). En couplant la mesure des fonctions cognitives à l'utilisation des techniques d'imagerie par tomographie par émission de positons, il a ainsi été possible de mettre en évidence après greffe intrastriale de neuroblastes striataux, une restauration de l'activité métabolique (18F-Fluorodeoxyglucose), non seulement au site d'implantation des cellules (striatum) mais également – à

distance – dans le cortex préfrontal des patients rendu hypométabolique par le processus dégénératif (10).

Les applications thérapeutiques envisageables

Dans le cadre d'applications thérapeutiques, disposer de cellules souches aux propriétés différentes mais potentiellement complémentaires, peut permettre des utilisations différentes en fonction de l'effet thérapeutique recherché. Néanmoins, il convient surtout de considérer les différentes pathologies qui pourraient bénéficier d'une thérapie cellulaire, car toutes ne semblent pas – loin s'en faut – pouvoir bénéficier d'une telle approche.

Parmi les maladies neurodégénératives pouvant bénéficier d'une thérapie cellulaire, il est nécessaire de différencier celles caractérisées par des lésions restreintes localement (tout au moins aux stades précoces de la maladie) pour lesquelles un traitement ponctuel (implantation locale de cellules) pourrait être développé (par ex. maladie de Parkinson, maladie de Huntington, etc.) et celles associées à des atteintes lésionnelles plus diffuses (par ex. maladie d'Alzheimer, stades avancés des maladies de Parkinson ou de Huntington) pour lesquelles une stratégie thérapeutique plus globale devrait être recherchée (implantations multiples de greffons de cellules potentiellement migratrices ou aux propriétés trophiques).

De nombreux exemples pré-cliniques et quelques exemples d'essais cliniques de phase I-II utilisant des neuroblastes fœtaux ont ainsi permis d'établir le potentiel thérapeutique de la thérapie cellulaire pour différentes maladies neurodégénératives.

Maladie de Parkinson

L'hypothèse formulée dans ces essais était celle d'une stratégie de restauration de la neurotransmission dopaminergique au niveau post-synaptique striatal. Dans cette approche, l'objectif n'est pas de reconstruire le circuit nigrostriatal dopaminergique affecté par le processus neurodégénératif de la maladie, mais plutôt de restaurer au niveau post-synaptique (c'est-à-dire dans le striatum), des concentrations physiologiques en dopamine extracellulaire. En dépit de l'absence de la récupération d'une libération de dopamine contrôlée "synaptiquement", les données pré-cliniques et cliniques générées ont permis de montrer une certaine efficacité thérapeutique de cette stratégie de "dopamine replenishment" (11;12;13). D'autres approches complémentaires – à visée neuroprotectrice – ont également été mises en œuvre afin de délivrer *in situ* des molécules aux propriétés trophiques et/ou neuroprotectrices comme le glial neurotrophic factor (GDNF). Après de premiers essais limités d'infusion intracérébrale directe (14), des stratégies mettant en œuvre des cellules souches génétiquement modifiées pour exprimer *in situ* le

facteur neurotrophique⁽¹⁵⁾ pourraient donner lieu à des applications cliniques. Des stratégies de transfert de gène direct (thérapie génique *in vivo*) pourraient néanmoins présenter une bonne alternative à ces approches cellulaires⁽¹⁶⁾, en permettant de minimiser les risques de prolifération cellulaire non maîtrisée associés à l'utilisation de certaines cellules souches.

Maladie de Huntington

Cette pathologie qui résulte initialement d'une dégénérescence sévère des neurones GABAergiques striataux associée à des atteintes plus limitées d'autres régions cérébrales ne semble être sensible qu'à une stratégie de type "remplacement cellulaire" ou "reconstruction de circuit". De nombreuses études précliniques ont ainsi permis de montrer que, plus que de restaurer une simple déficience striatale en GABA, il est nécessaire de rétablir un fonctionnement normal de la circuiterie striato-pallido-corticale⁽¹⁷⁾ pour obtenir une récupération fonctionnelle (motrice et cognitive) dans cette pathologie^(8;9;10). Si les données générées par le suivi des greffes de neuroblastes striataux chez les patients ont permis de montrer la faisabilité et l'efficacité thérapeutique de l'approche, elles ont également mis en évidence que dans le long-terme, le processus dégénératif qui persiste, résulte en une déafférentation progressive du greffon. Ceci imposera à terme la combinaison de stratégies de reconstruction et neuroprotectrices comme celles utilisant des cellules génétiquement modifiées pour délivrer *in situ* un agent d'intérêt thérapeutique tel que le ciliary neurotrophic factor^(18;19). Ces mêmes stratégies visant à délivrer *in situ* des cytokines ou des facteurs neurotrophiques capables d'accélérer de manière endogène la récupération fonctionnelle associée à certains processus dégénératifs, pourraient également être mises en œuvre afin de mettre à profit les propriétés de certaines cellules, comme les cellules souches adultes, mobilisables *in vivo* par manipulation génétique et/ou surexpression locale d'agents attracteurs. De telles approches⁽²⁰⁾, pourraient trouver à terme une application clinique si le potentiel de transformation *in situ* en neurones, pouvait être augmenté d'une manière significative.

Conclusion

De nombreux essais précliniques et cliniques ont d'ores et déjà démontré la faisabilité d'une thérapie cellulaire pour le traitement de certaines maladies neurodégénératives. Ces essais ont été, pour leur plus grande part, réalisés en utilisant des neuroblastes fœtaux, seules cellules disponibles au moment de leur démarrage. À l'heure actuelle, les avancées majeures réalisées dans la compréhension et la maîtrise des cellules souches humaines, en particulier, celles qui sont pluripotentes, laissent augurer

qu'il sera possible un jour d'utiliser certaines d'entre-elles pour le traitement de maladies du système nerveux. Par comparaison avec les neuroblastes fœtaux, les cellules souches humaines présentent l'avantage compétitif de pouvoir – au moins en théorie – être différenciées en des types cellulaires précis qui pourront être sélectionnés et purifiés à volonté – permettant d'optimiser la composition cellulaire du greffon pour une pathologie donnée⁽²¹⁾. ■

philippe.hantraye@cea.fr
aperrier@istem.genethon.fr

Références, page 27

CELLULES SOUCHES ET MALADIES GÉNÉTIQUES : EXEMPLE DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE

Claude A. Dechesne, Didier F. Pisani et Christian Dani

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est provoquée par des mutations, souvent de grandes délétions, dans le gène de la dystrophine. Cette protéine, située sous la membrane de la fibre musculaire squelettique, lie le cytosquelette d'actine à la matrice extracellulaire. L'absence de dystrophine provoque la dégénérescence des fibres musculaires et *in fine* une perte progressive irréversible du tissu musculaire. Les stratégies de thérapie cellulaire ont pour but de restaurer l'expression de la dystrophine par l'apport de cellules myogéniques non déficientes en dystrophine. L'utilisation des cellules myogéniques les plus étudiées est présentée ci-dessous. Certaines de ces cellules sont l'objet de modifications génétiques pour augmenter leur performance et envisager leur utilisation en thérapie autologue.

Les myoblastes

Les premières cellules testées furent les myoblastes qui forment l'essentiel des cellules précurseurs du lignage musculaire. Les myoblastes sont issus de la prolifération des cellules satellites, cellules quiescentes intimement associées à la fibre musculaire squelettique et activées en réponse aux lésions musculaires. La restauration de la dystrophine a pu être ainsi réussie par transfert de myoblastes de souris sauvages dans le muscle de la souris *mdx*, souche déficiente en dystrophine à cause d'une mutation non-sens. Cette restauration a permis d'inverser le phénotype pathologique. Rapidement, des essais cliniques humains ont été mis en place mais malheureusement les transferts de myoblastes de sujets sains dans les muscles de patients DMD ont révélé à ce jour une efficacité thérapeutique limitée. L'amélioration de la survie et de la migration des myoblastes dans le muscle du receveur reste un défi majeur à résoudre.

Les cellules souches myogéniques

La thérapie cellulaire nécessite des cellules pouvant proliférer de façon importante *in vitro* sans subir de modifications et capables de se différencier en fibres musculaires. La thérapie d'une maladie génétique contraint à utiliser soit des cellules hétérologues compatibles avec le receveur, essentiellement par le recours à un traitement immunosuppresseur, soit des cellules autologues modifiables pour corriger le défaut génétique. Enfin les spécificités de la DMD demandent des cellules capables de migrer dans tous les muscles, donc en pratique véhiculées par voie sanguine. Les cellules souches ou progénitrices multipotentes offrent des réponses prometteuses à un tel cahier des charges et plusieurs types cellulaires humains font actuellement l'objet d'actives recherches.

Les cellules d'origine vasculaire ou sanguine

Il a été montré que les péricytes extraits de la paroi des microvaisseaux des muscles squelettiques DMD sont capables, après correction génétique de l'absence de dystrophine et transfert par voie artérielle, d'améliorer significativement la fonction motrice de souris immunodéficientes *scid-mdx* grâce à l'expression d'une mini-dystrophine humaine dans une partie des fibres musculaires⁽¹⁾. Ces péricytes pourraient appartenir au même lignage que les mésoangioblastes embryonnaires ou post-nataux qui ont été utilisés pour obtenir une réparation musculaire significative chez le modèle canin de la DMD⁽²⁾.

Une population cellulaire sanguine et musculaire exprimant l'antigène CD133 a donné lieu à des résultats similaires, après correction de l'absence de dystrophine grâce à la technique du saut d'exon puis transfert par injection intramusculaire⁽³⁾.

Les cellules souches mésenchymateuses

Les cellules souches mésenchymateuses (CSMs) adultes ont donné lieu au plus grand nombre de travaux depuis la découverte du potentiel myogénique des CSMs de moelle osseuse. Nous nous sommes tout particulièrement intéressés aux CSMs trouvées dans le tissu adipeux, qui présente les avantages de disponibilité relativement abondante et d'accès peu traumatisant. Le tissu adipeux contient une importante fraction adipocytaire mais également une fraction stromale vasculaire riche en éléments cellulaires variés dont des CSMs isolables grâce à leurs propriétés d'adhésion et d'auto-renouvellement⁽⁴⁾.

Les CSMs ont en fait un potentiel myogénique faible *in vitro*, même cultivées en présence de myoblastes.

Nous l'avons observé avec des populations de CSMs de tissu adipeux obtenues au laboratoire et appelées cellules hMADS (pour "human multipotent adipose-derived stem"). Par contre, ces cellules sont capables de contribuer à la formation de nouvelles fibres musculaires dans un muscle en régénération. Initialement, il avait été montré que les cellules de la fraction stromale vasculaire, greffées de façon autologue dans un muscle de lapin, contribuaient à la régénération musculaire⁽⁵⁾. Puis il fut montré chez la souris que les CSMs portaient ce potentiel de réparation musculaire⁽⁶⁾. Nous l'avons établi chez l'homme par transfert de cellules hMADS dans le muscle de souris *mdx*, qui est le siège d'une intense régénération musculaire, et dans le muscle de souris immunodéficientes après induction expérimentale de la régénération musculaire^(7;8).

Modifications génétiques des CSMs

Les CSMs se sont révélées assez facilement modifiables par des vecteurs viraux. Cette propriété a été mise à profit pour augmenter le pouvoir myogénique de ces cellules et pour compléter des CSMs de patients DMD en dystrophine dans le but de greffes autologues.

L'expression d'un gène clef de la myogenèse, tel que MyoD, dans des CSMs de moelle osseuse ou de tissu adipeux augmente considérablement les capacités de différenciation myogénique^(8;9). Lorsqu'elles sont cultivées avec des myoblastes de patients DMD, les CSMs issues de sujets sains et modifiées par MyoD fusionnent en quantité avec les myoblastes DMD pour former des myotubes exprimant la dystrophine. Non seulement, ces CSMs génétiquement modifiées ne perturbent pas le processus de fusion cellulaire mais assurent également le remplacement du gène défectueux à l'origine de la DMD. Un autre avantage de la modification par MyoD est de réduire la multipotentialité des CSMs à la monopotentialité myogénique ou du moins, d'inhiber des potentialités indésirables comme la différenciation en adipocytes. Ce résultat, établi avec les cellules hMADS, a toute son importance dans des perspectives thérapeutiques puisque les muscles dystrophiques sont souvent envahis d'adipocytes, qui créent un environnement fortement adipogénique, donc susceptible de faire dévier la différenciation de cellules souches vers l'adipogenèse. Enfin, nous avons également vérifié *in vivo* chez la souris que les CSMs exprimant MyoD améliorent considérablement leur capacité de réparation musculaire, sans effets secondaires apparents ni formation de tumeurs⁽⁸⁾.

En combinaison avec la modification par MyoD, les CSMs ont pu être également modifiées pour exprimer une dystrophine recombinante dans une perspective de thérapie cellulaire autologue⁽⁹⁾. De telles CSMs modifiées

se sont révélées capables de fusionner avec des myoblastes DMD (donc dépourvus de dystrophine) pour former des myotubes exprimant la dystrophine recombinante. Les CSMs pourraient donc être utilisées comme des cellules vecteurs apportant la dystrophine dans des fibres musculaires hybrides provenant de la fusion des CSMs et des myoblastes DMD.

Conclusions

Les recherches en thérapie cellulaire de la DMD ont fortement augmenté notre connaissance des cellules souches ou progénitrices qui partagent le potentiel myogénique des cellules satellites du muscle squelettique. Les stratégies de thérapie cellulaire ont pour objet d'utiliser ce potentiel à la réparation du muscle dystrophique et doivent tenir compte des spécificités d'une maladie génétique telle que la DMD.

Actuellement, des résultats prometteurs ont été obtenus avec plusieurs types de cellules souches, dont certains ont été évoqués ci-dessus. Des travaux supplémentaires sont encore nécessaires pour obtenir confirmation par d'autres équipes des rendements élevés de nouvelles fibres musculaires obtenues à partir des péricytes et des cellules CD133+ ou de l'efficacité des CSMs modifiées génétiquement. ■

claude.dechesne@unice.fr
didier.pisani@unice.fr
christian.dani@unice.fr

Références, page 27

UTILISATION DES CELLULES SOUCHES EN THÉRAPIE, CONSIDÉRATIONS ÉTHIQUES

par Hervé Chneiweiss

Existe-il des questions éthiques particulières à l'utilisation des cellules souches en neurosciences ? L'origine des cellules, en particulier lorsqu'elles sont embryonnaires et humaines, ne soulève aucune question spécifique lorsque ces cellules sont différenciées en cellules neurales. Vaut-il mieux utiliser des cellules embryonnaires ou des iPS (pour "cellules souches pluripotentes induites") est une question technique. L'origine de la vie humaine et savoir si un embryon *in vitro* sans projet parental reste ou non une personne humaine potentielle est hors du propos de ce dossier. Nous devons toutefois ne pas céder à une vision mécanique et déterministe du système nerveux, la cellule n'étant ici vue que comme une pièce de rechange et le cerveau comme une horloge ou un moteur. Toute activité cognitive est le fruit de l'activation de multiples réseaux interconnectés, eux-mêmes sculptés au cours d'une histoire individuelle. Comprendre l'origine, la mise en

place et le renouvellement partiel tout au long de la vie de cette architecture implique des moyens d'intervention nouveaux, pour le meilleur, le soin de maladies gravement invalidantes, ou le pire, la privation d'autonomie. Envisager des greffes exige non seulement des garanties de sécurité et d'efficacité, mais aussi de comprendre les conséquences de la mise en place de nouveaux circuits. Pour le dire autrement, un cerveau greffé sera-t-il simplement remis à neuf, permettant à l'individu greffé de reprendre le cours de sa vie, ou sera-t-il un nouveau cerveau, créant un nouvel individu.

Qui parle de thérapeutique commence par l'antique adage du serment d'Hippocrate "Primum non nocere" ("d'abord, ne pas nuire"). Quelle que soit la gravité de la pathologie à traiter, le remède ne doit pas être pire que le mal. En matière de cellules souches le premier défi est d'obtenir une différenciation réelle en neurones matures, complète, durable et stable. Le risque est donc double, d'un côté une insuffisance du traitement si la différenciation est partielle ou transitoire, de l'autre un risque de transformation tumorale. Il est important de noter que le risque de tumorigenèse dépend à la fois de l'état de différenciation de la cellule-souche, les cellules indifférenciées ou dédifférenciées étant à l'origine des tumeurs^(1;2), et de facteurs issus de l'environnement du greffon, c'est-à-dire l'état du tissu nerveux environnant⁽³⁾. Imaginons que ce défi soit relevé, un second risque de toxicité est celui des immunosuppresseurs nécessaires pour une greffe allogénique, c'est-à-dire tant que les iPS ne seront pas utilisées pour cette approche. La question éthique est ici la substitution d'un handicap, à un processus thérapeutique imposant un traitement de suite lourd, les immunosuppresseurs, parfois mal tolérés et dangereux, et irréversible. Il convient enfin d'aborder des questions qui ne sont pas spécifiques des cellules souches mais s'y appliquent directement dès qu'il s'agit de thérapeutique dans le système nerveux central. Un prérequis des essais cliniques chez l'homme est constitué par leurs résultats chez l'animal. Mais de nombreuses maladies neurologiques humaines, par exemple la sclérose en plaques, et plus encore psychiatriques, n'ont pas de bons modèles animaux utilisables. Le seul vrai modèle sera donc l'homme où il conviendra d'évaluer l'efficacité du traitement, mais aussi son impact sur d'autres fonctions essentielles du cerveau, en particulier cognitives. Il apparaît aujourd'hui que ces troubles sont fréquents lors des opérations pour implantation d'électrodes de stimulation à haute fréquence, obligeant parfois à retirer le dispositif implanté. Qu'en sera-t-il pour les greffes ? Pour ces essais cliniques il convient donc d'élaborer de nouvelles règles respectant l'essentiel mais obligeant les agences réglementaires à tenir compte de la spécificité du traitement et de la maladie visée⁽⁴⁾.

La question suivante est celle de la stratégie thérapeutique qui doit s'adapter au contexte particulier du système nerveux, son architecture, son activité en réseau. Les tentatives d'utiliser des cellules plus ou moins souches comme thérapeutique de maladies neurodégénératives, sont anciennes, au moins depuis le début des années 1980. Cellules chromaffines de la surrenale, neurones fœtaux, fibroblastes modifiés furent mis à contribution, parfois avec des premiers résultats encourageants⁽⁵⁾. L'idée en vue de soigner la maladie de Parkinson était de substituer à l'apport de dopamine exogène une cellule capable de produire cette dopamine *in situ*. Mais, si la cellule était greffée dans la substance noire, elle était loin de sa cible striatale, et si elle était greffée dans le striatum, elle était loin de ses afférences. Reconstituer un réseau est donc bien plus qu'implanter une cellule. De plus, il est apparu naïf de penser que le processus pathologique se limitait aux cellules du patient. Il apparaît aujourd'hui, par exemple sur des modèles de maladie de Parkinson, que les agrégats type corps de Levy se propagent aux cellules greffées⁽⁶⁾. Inversement, un traitement d'une maladie du système nerveux n'exige pas forcément une stratégie d'implantation de cellules souches dans le système nerveux comme le montrent les résultats encourageants récents des essais sur l'adrenoleucodystrophie⁽⁷⁾.

La question éthique finale n'est donc pas la cellule souche, ou même la pathologie, mais la personne à soigner. Rétablir une fonction motrice coordonnée et autonome chez un jeune atteint de sclérose en plaques ou chez une sexagénaire frappée par la maladie de Parkinson demande surtout de ne pas affecter d'autres fonctions, par exemple l'humeur ou le comportement social intimement liés aux circuits dopaminergiques. Plus aiguë sera la question de soigner des troubles diffus comme dans la maladie de Huntington. Qu'en sera-t-il enfin lorsque cette stratégie thérapeutique sera appliquée à l'hippocampe ou aux régions atteintes dans la maladie d'Alzheimer ? Les circuits de mémoire effacés auront-ils gardé une trace de la personnalité antérieure ou la greffe donnera-t-elle naissance à une personne dotée de facultés de mémoire mais ayant tout perdu de son histoire antérieure ? Notre cerveau est évidemment bien plus qu'un simple assemblage de cellules et de circuits. Il est le fruit d'une sculpture de chaque instant de notre vie. Parions que le caractère distribué de toute fonction cérébrale intégrée protégera notre intégrité cognitive du risque de "remise à zéro" d'une greffe de cellules souches par ailleurs porteuses de bien des espoirs. ■

herve.chneiweiss@inserm.fr

Références, page 27



COLLOQUE FRANCO-ARGENTIN

Le Conseil d'administration de la *Société des Neurosciences Française* a donné récemment une nouvelle impulsion à ses relations avec les *Sociétés de Neurosciences des pays d'Amérique latine*. Dans ce cadre de coopération internationale, les Sociétés Argentine et Française ont décidé d'organiser conjointement leur premier Symposium Franco-Argentin de Neurosciences dont le thème sera : "Synapse et plasticité synaptique, intrinsèque et fonctionnelle". Lors de ce premier symposium binational, un hommage sera rendu au Professeur Hersch Gerschenfeld qui a grandement contribué au développement des Neurosciences dans les deux pays et en particulier dans le domaine de la Neurobiologie de la synapse.

Le programme scientifique de ce symposium inclut Philippe Ascher (*Paris*), Daniel Choquet (*Bordeaux*), Belen Elgoyhen (*Buenos Aires*), Christian Giaume (*Paris*), Isabel Llano (*Paris*), Fernando Marengo (*Buenos Aires*), Antonia Marin-Burgin (*Buenos Aires*), Alain Marty (*Paris*), Gustavo Murer (*Buenos Aires*), Santiago Quiroga (*Cordoba*), Marcelo Rubinstein (*Buenos Aires*), Enrico Stefani (*UCLA*) et Osvaldo Uchitel (*Buenos Aires*).

Cette rencontre, à laquelle s'associent également l'ambassade de France à Buenos Aires et le Conseil régional d'Amérique Latine de l'IBRO, aura lieu au siège de l'Alliance Française à Buenos Aires, fin novembre 2010. Nous espérons que cette première rencontre franco-argentine promouvra des coopérations scientifiques entre chercheurs des deux pays, ainsi que des échanges d'étudiants et de post-doctorants.



SOCIÉTÉ BRÉSILIENNE DE NEUROSCIENCES SOCIÉTÉ DES NEUROSCIENCES

La Société Brésilienne de Neurosciences et Comportement (SBNeC) associée à la *Société des Neurosciences* offre un prix de 2000 euros pour un doctorant brésilien afin de participer à la *Journée Alfred Fessard* le 11 mai 2010. Cette initiative conjointe permettra aussi au lauréat de visiter des laboratoires de neurosciences en France en vue d'établir un projet post-doctoral.

Informations sur le site :

<http://blog.sbnec.org.br/2010/02/sbnec-oferece-auxilio-para-participacao-de-estudante-em-simposio-na-franca/>

DES CELLULES SOUCHES NEURALES...

(P.-M. Lledo et G. Gheusi)

- Gross C G. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Neurosci*, 2000, 1: 68-73.
- Zhao C, Deng W and Gage FH. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell*, 2008, 132: 645-660.
- Le Douarin N. Les cellules souches, porteuses d'immortalité. Ed Odile Jacob, 2007, 408 p.
- Doetsch F. The glial identity of neural stem cells. *Nat Neurosci*, 2003, 6: 1127-1134.
- Kriegstein A and Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Ann Rev Neurosci*, 2009, 32: 149-184.
- Riquelme P A, Drapeau E and Doetsch F. Brain microecologies: neural stem cell niches in the adult mammalian brain. *Phil Trans R Soc B*, 2008, 363: 123-137.
- Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat Neurosci*, 2007, 8: 481-488.
- Ninkovic J and Götz M. Signaling in adult neurogenesis: from stem cell niche to neuronal networks. *Curr Opin Neurobiol*, 2007, 17: 1-7.
- Tavazoie M, Van der Veken L, Silva-Vargas V, Louissaint M, Colonna L, Zaidi B, Garcia-Verdugo J M and Doetsch F. A specialized vascular niche for adult neural stem cells. *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 279-288.
- Shen Q, Wang Y, Kokovay E, Lin G, Chuang SM, Goderie S K, Roysam B and Temple S. Adult SVZ stem cells lie in a vascular niche: a quantitative analysis of niche cell-cell interactions. *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 289-300.
- Sanai N, Tramontin A D, Quinones-Hinojosa, Barbaro N M, Gupta N, Kunwar S, Lawton MT, McDermott M W, Parsa A T, Manuel-Garcia Verdugo J, Berger M S and Alvarez-Buylla A. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*, 2004, 19: 740-744.
- Curtis M A, Kam M, Nanmark U, Anderson M F, Axel M Z, Wikkelsjö C, Holtas S, van Roon-Mom W M C, Björk-Eriksson T, Nordborg C, Frisén J, Dragunow M, Faul R L M and Eriksson P S. Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science*, 2007, 315: 1243-1249.
- Nissant A, Bardy C, Katagiri H, Murray K and Lledo P M. Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat Neurosci*, 2009, 12: 728-730.
- Abrous N, Koehl M and Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev*, 2005, 85: 523-569.
- Lledo P M, Gheusi G and Vincent J D. Information processing in the mammalian system. *Physiol Rev*, 2005, 85: 281-317.
- Dupret D, Fabre A, Döbrössy M D, Panatier A, Rodriguez J J, Lamarque S, Lemaire V, Olié S H R, Piazza PV and Abrous D N. Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. *Plos Biol*, 2007, 5: e214.
- Mouret A, Gheusi G, Gabelle M M, de Chaumont F, Olivio-Marin J C and Lledo P M. Learning and survival of newly generated neurons: when time matters. *J Neurosci*, 2008, 28: 11511-11516.
- Hubel D H and Wiesel T N. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J Physiol*, 1962, 160: 106-154.
- Martino G and Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells. *Nat Neurosci*, 2006, 7: 395-406.

SPÉCIFICATION DES CELLULES SOUCHES...

(T. Bouschet, P. Vanderhaeghen, N. Gaspard)

- Gaspard, N., and Vanderhaeghen, P. (2010). Mechanisms of neural specification from embryonic stem cells. *Curr Opin Neurobiol*.
- Boland, M.J., Hazen, J.L., Nazor, K.L., Rodriguez, A.R., Gifford, W., Martin, G., Kupriyanov, S., and Baldwin, K.K. (2009). Adult mice generated from induced pluripotent stem cells. *Nature* 461, 91-94.
- Smith, A.G. (2001). Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol* 17, 435-462.
- Falk, S., and Sommer, L. (2009). Stage- and area-specific control of stem cells in the developing nervous system. *Curr Opin Genet Dev* 19, 454-460.
- Gaspard, N., Bouschet, T., Hourez, R., Dimidschstein, J., Naeije, G., van den Aemele, J., Espuny-Camacho, I., Herpoel, A., Passante, L., Schiffmann, S.N., et al. (2008). An

intrinsic mechanism of corticogenesis from embryonic stem cells. *Nature* 455, 351-357.

- Wataya, T., Ando, S., Muguruma, K., Ikeda, H., Watanabe, K., Eiraku, M., Kawada, M., Takahashi, J., Hashimoto, N., and Sasai, Y. (2008). Minimization of exogenous signals in ES cell culture induces rostral hypothalamic differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 11796-11801.
- Levine, A.J., and Brivanlou, A.H. (2007). Proposal of a model of mammalian neural induction. *Dev Biol* 308, 247-256.
- Watanabe, K., Kamiya, D., Nishiyama, A., Katayama, T., Nozaki, S., Kawasaki, H., Watanabe, Y., Mizuseki, K., and Sasai, Y. (2005). Directed differentiation of telencephalic precursors from embryonic stem cells. *Nat Neurosci* 8, 288-296.
- Murashov, A.K., Pak, E.S., Hendricks, W.A., Owensby, J.P., Sierpinski, P.L., Tatko, L.M., and Fletcher, P.L. (2005). Directed differentiation of embryonic stem cells into dorsal interneurons. *FASEB J* 19, 252-254.
- Wichterle, H., Lieberam, I., Porter, J.A., and Jessell, T.M. (2002). Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons. *Cell* 110, 385-397.
- Adewumi, O., Aflatoonian, B., Ahrlund-Richter, L., Amit, M., Andrews, P.W., Beighton, G., Bello, P.A., Benvenisty, N., Berry, L.S., Bevan, S., et al. (2007). Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative. *Nat Biotechnol* 25, 803-816.
- Eiraku, M., Watanabe, K., Matsuo-Takasaki, M., Kawada, M., Yonemura, S., Matsumura, M., Wataya, T., Nishiyama, A., Muguruma, K., and Sasai, Y. (2008). Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. *Cell Stem Cell* 3, 519-532.
- Watanabe, K., Ueno, M., Kamiya, A., Matsumura, M., Wataya, T., Takahashi, J.B., Nishikawa, S., Muguruma, K., and Sasai, Y. (2007). A ROCK inhibitor permits survival of dissociated human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 25, 681-686.
- Lee, S.H., Lumelsky, N., Studer, L., Auerbach, J.M., and McKay, R.D. (2000). Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 18, 675-679.
- Ikeda, H., Osakada, F., Watanabe, K., Mizuseki, K., Haraguchi, T., Miyoshi, H., Kamiya, D., Honda, Y., Sasai, N., Yoshimura, N., et al. (2005). Generation of Rx+Pax6+ neural retinal precursors from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 11331-11336.
- Nikolopoulou, V., Plachta, N., Allen, N.D., Pinto, L., Gotz, M., and Barde, Y.A. (2007). Neurotrophin receptor-mediated death of misspecified neurons generated from embryonic stem cells lacking Pax6. *Cell Stem Cell* 1, 529-540.
- Schrenk-Siemens, K., Perez-Alcala, S., Richter, J., Lacroix, E., Rahuel, J., Korte, M., Muller, U., Barde, Y.A., and Bibel, M. (2008). Embryonic stem cell-derived neurons as a cellular system to study gene function: lack of amyloid precursor protein APP and APLP2 leads to defective synaptic transmission. *Stem Cells* 26, 2153-2163.
- Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., and Jones, J.M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145-1147.
- Osafune, K., Caron, L., Borowick, M., Martinez, R.J., Fitzgerald, C.S., Sato, Y., Cowan, C.A., Chien, K.R., and Melton, D.A. (2008). Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines. *Nat Biotechnol* 26, 313-315.
- Li, X.J., Zhang, X., Johnson, M.A., Wang, Z.B., Lavaute, T., and Zhang, S.C. (2009). Coordination of sonic hedgehog and Wnt signaling determines ventral and dorsal telencephalic neuron types from human embryonic stem cells. *Development* 136, 4055-4063.
- Hu, B.Y., and Zhang, S.C. (2009). Differentiation of spinal motor neurons from pluripotent human stem cells. *Nat Protoc* 4, 1295-1304.
- Perrier, A.L., Tabar, V., Barberi, T., Rubio, M.E., Bruses, J., Topf, N., Harrison, N.L., and Studer, L. (2004). Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 12543-12548.
- Hu, B.Y., Du, Z.W., and Zhang, S.C. (2009). Differentiation of human oligodendrocytes from pluripotent stem cells. *Nat Protoc* 4, 1614-1622.
- Lacoste, A., Berenshteyn, F., and Brivanlou, A.H. (2009). An efficient and reversible transposable system for gene delivery and lineage-specific differentiation in human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell* 5, 332-342.
- Hockemeyer, D., Soldner, F., Beard, C., Gao, Q., Mitalipova, M., DeKaveler, R.C., Katibah, G.E., Amora, R., Boydston, E.A., Zeitler, B., et al. (2009). Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol* 27, 851-857.
- Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663-676.
- Saha, K., and Jaenisch, R. (2009). Technical challenges in using human induced pluripotent stem cells to model disease. *Cell Stem Cell* 5, 584-595.
- Yamanaka, S. (2009). A fresh look at iPSC cells. *Cell* 137, 13-17.
- Park, I.H., Arora, N., Huo, H., Maherali, N., Ahfeldt, T., Shimamura, A., Lensch, M.W., Cowan, C., Hochedlinger, K., and Daley, G.Q. (2008). Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 134, 877-886.
- Lee, G., Papapetrou, E.P., Kim, H., Chambers, S.M., Tomishima, M.J., Fasano, C.A., Ganat, Y.M., Menon, J., Shimizu, F., Viale, A., et al. (2009). Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* 461, 402-406.
- Ebert, A.D., Yu, J., Rose, F.F., Jr., Mattis, V.B., Lorson, C.L., Thomson, J.A., and Svendsen, C.N. (2009). Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 457, 277-280.
- Dimos, J.T., Rodolfa, K.T., Niakan, K.K., Weisenthal, L.M., Mitsumoto, H., Chung, W., Croft, G.F., Saphier, G., Leibel, R., Goland, R., et al. (2008). Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 321, 1218-1221.
- Hotta, A., Cheung, A.Y., Farra, N., Vijayaragavan, K., Seguin, C.A., Draper, J.S., Pasceri, P., Maksakova, I.A., Mager, D.L., Rossant, J., et al. (2009). Isolation of human iPSC cells using EOS lentiviral vectors to select for pluripotency. *Nat Methods* 6, 370-376.
- Osakada, F., Jin, Z.B., Hiram, Y., Ikeda, H., Danjo, T., Watanabe, K., Sasai, Y., and Takahashi, M. (2009). In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction. *J Cell Sci* 122, 3169-3179.
- Nishimura, K., Nakagawa, T., Ono, K., Ogita, H., Sakamoto, T., Yamamoto, N., Okita, K., Yamanaka, S., and Ito, J. (2009). Transplantation of mouse induced pluripotent stem cells into the cochlea. *Neuroreport* 20, 1250-1254.
- Vierbuchen, T., Ostermeier, A., Pang, Z.P., Kokubu, Y., Sudhof, T.C., and Wernig, M. (2010). Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*.
- Wernig, M., Zhao, J.P., Pruszak, J., Hedlund, E., Fu, D., Soldner, F., Broccoli, V., Constantine-Paton, M., Isacson, O., and Jaenisch, R. (2008). Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 5856-5861.
- Li, X.J., Du, Z.W., Zarnowska, E.D., Pankratz, M., Hansen, L.O., Pearce, R.A., and Zhang, S.C. (2005). Specification of motoneurons from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 23, 215-221.
- Osakada, F., Ikeda, H., Mandai, M., Wataya, T., Watanabe, K., Yoshimura, N., Akaike, A., Sasai, Y., and Takahashi, M. (2008). Toward the generation of rod and cone photoreceptors from mouse, monkey and human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 26, 215-224.
- Kim, J.H., Auerbach, J.M., Rodriguez-Gomez, J.A., Velasco, I., Gavin, D., Lumelsky, N., Lee, S.H., Nguyen, J., Sanchez-Pernaute, R., Bankiewicz, K., et al. (2002). Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 418, 50-56.
- Andersson, E., Tryggvason, U., Deng, Q., Friling, S., Alekseenko, Z., Robert, B., Perlmann, T., and Ericson, J. (2006). Identification of intrinsic determinants of midbrain dopamine neurons. *Cell* 124, 393-405.
- Li, H., Roblin, G., Liu, H., and Heller, S. (2003). Generation of hair cells by stepwise differentiation of embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 13495-13500.
- Billon, N., Jolicœur, C., and Raff, M. (2006). Generation and characterization of oligodendrocytes from lineage-selectable embryonic stem cells in vitro. *Methods Mol Biol* 330, 15-32.
- Su, H.L., Muguruma, K., Matsuo-Takasaki, M., Kengaku, M., Watanabe, K., and Sasai, Y. (2006). Generation of cerebral neuron precursors from embryonic stem cells. *Dev Biol* 290, 287-296.
- Aubry, L., Bugi, A., Lefort, N., Rousseau, F., Peschanski, M., and Perrier, A.L. (2008). Striatal progenitors derived from human ES cells mature into DARPP32 neurons in vitro

and in quinolinic acid-lesioned rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 16707-16712.

46. Mizuseki, K., Sakamoto, T., Watanabe, K., Muguruma, K., Ikeya, M., Nishiyama, A., Arakawa, A., Suemori, H., Nakatsujii, N., Kawasaki, H., et al. (2003). Generation of neural crest-derived peripheral neurons and floor plate cells from mouse and primate embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 5828-5833.
47. Lee, G., Kim, H., Elkabetz, Y., Al Shamy, G., Panagiotakos, G., Barberi, T., Tabar, V., and Studer, L. (2007). Isolation and directed differentiation of neural crest stem cells derived from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 25, 1468-1475.
48. Kumar, M., Kaushalya, S.K., Gressens, P., Maiti, S., and Mani, S. (2009). Optimized derivation and functional characterization of 5-HT neurons from human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev* 18, 615-627.

LA RÉSURGENCE DE LA TRANSPLANTATION...

(A. Gaillard)

1. Bjorklund, A., and Stenevi, U. (1979). Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res* 177, 555-560.
2. Perlow, M. J., Freed, W. J., Hoffer, B. J., Seiger, A., Olson, L., and Wyatt, R. J. (1979). Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 204, 643-647.
3. Gaillard A, Prestoz L, Dumartin B, Cantereau A, Morel F, Roger M, Jaber M. (2007) Reestablishment of damaged adult motor pathways by grafted embryonic cortical neurons. *Nat Neurosci*. 10 (10):1294-9.
4. Gaillard A & Jaber M. (2007) Is the outgrowth of transplant-derived axons guided by host astrocytes and myelin loss? *Cell Adh Migr*. 1 (4):161-4.
5. Gaspard N, Bouschet T, Hourez R, Dimidschstein J, Naeije G, van den Aemele J, Espuny Camacho I, Herpoel A, Passante L, Schiffmann SN, Gaillard A, Vanderhaeghen P. (2008) An intrinsic mechanism of corticogenesis from embryonic stem cells. *Nature* 455 (7211):351-357.
6. Eiraku M, Watanabe K, Matsuo-Takasaki M, Kawada M, Yonemura S, Matsumura M, Wataya T, Nishiyama A, Muguruma K, Sasai Y. (2008) Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. *Cell Stem Cell* 3 (5):519-532.
7. Kawasaki H, Mizuseki K, Nishikawa S, Kaneko S, Kuwana Y, Nakanishi S, et al. (2000) Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Neuron* 28:31-40.
8. Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, Lee SH, Nguyen J, Sanchez-Pernaute R, Bankiewicz K, McKay R. (2002) Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 418:50-6.
9. Rodriguez-Gomez JA, Lu JQ, Velasco I, Rivera S, Zoghbi SS, Liow JS, Musachio JL, Chin FT, Toyama H, Seidel J, Green MV, Thanos PK, Ichise M, Pike VW, Innis RB, McKay RD. (2007) Persistent dopamine functions of neurons derived from embryonic stem cells in a rodent model of Parkinson disease. *Stem Cells* 25:918-28.
10. Perrier AL, Tabar V, Barberi T, Rubio ME, Bruses J et al. (2004) Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(34): 12543-12548.
11. Friling S, Andersson E, Thompson LH, Jönsson ME, Hebsgaard JB, Nanou E, Alekseenko Z, Marklund U, Kjellander S, Volakakis N, Hovatta O, El Manira A, Björklund A, Perlmann T, Ericson J. (2009) Efficient production of mesencephalic dopamine neurons by Lmx1a expression in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad*
12. Sonntag, K. C., Pruszkak, J., Yoshizaki, T., van Arensbergen, J., Sanchez-Pernaute, R., and Isacson, O. (2007) Enhanced yield of neuroepithelial precursors and midbrain-like dopaminergic neurons from human embryonic stem cells using the bone morphogenic protein antagonist noggin. *Stem Cells* 25, 411-418.
13. Roy NS, Cleren C, Singh SK, Yang L, Beal MF, Goldman SA. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes. *Nat Med*. 2006 Nov;12(11):1259-68. Epub 2006 Oct 22.
14. Cho MS, Lee YE, Kim JY, Chung S, Cho YH, Kim DS, Kang SM, Lee H, Kim MH, Kim JH, Leem JW, Oh SK, Choi YM, Hwang DY, Chang JW, Kim DW. (2008) Highly efficient and large-scale generation of functional dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105, 3392-3397.
15. Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG, Hargus G, Blak A, Cooper O, Mitalipova M, Isacson O, Jaenisch R. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* 2009;138:964-77.

QUEL AVENIR THÉRAPEUTIQUE POUR LES CELLULES SOUCHES...

(P. Hantraye, A.L. Perrier)

1. Perrier AL, Tabar V, Barberi T, Rubio ME, Bruses J et al. (2004) Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(34): 12543-12548.
2. Lee H, Al Shamy G, Elkabetz Y, Schoefeld CM, Harrison NL et al. (2007) Directed Differentiation And Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Motoneurons. *Stem Cells*.
3. Aubry L, Bugi A, Lefort N, Rousseau F, Peschanski M et al. (2008) Striatal progenitors derived from human ES cells mature into DARPP32 neurons in vitro and in quinolinic acid-lesioned rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(43): 16707-16712.
4. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T et al. (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131(5):861-872.
5. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL et al. (2007) Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318(5858): 1917-1920.
6. Campbell K, Victorin K, Björklund A. Neurotransmitter-related gene expression in intrastriatal striatal transplants-I. Phenotypical characterization of striatal and non-striatal graft regions. *Neuroscience*. 1995 Jan;64(1):17-33.
7. Englund U, Björklund A, Victorin K, Lindvall O, Kokaia M. Grafted neural stem cells develop into functional pyramidal neurons and integrate into host cortical circuitry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99:17089-94.
8. Bachoud-Lévi A, Bourdet C, Brugières P, Nguyen JP, Grandmougin T, Haddad B, Jéry R, Bartolomeo P, Boissé MF, Barba GD, Degos JD, Ergis AM, Lefaucheur JP, Lisovski F, Pailhous E, Rémy P, Palfi S, Defer GL, Cesaro P, Hantraye P, Peschanski M. Safety and tolerability assessment of intrastriatal neural allografts in five patients with Huntington's disease. *Exp Neurol*. 2000; 161:194-202.
9. Bachoud-Lévi AC, Gaura V, Brugières P, Lefaucheur JP, Boissé MF, Maison P, Baudic S, Ribeiro MJ, Bourdet C, Remy P, Cesaro P, Hantraye P, Peschanski M 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.
10. Gaura V, Bachoud-Lévi AC, Ribeiro MJ, Nguyen JP, Frouin V, Baudic S, Brugières P, Mangin JF, Boissé MF, Palfi S, Cesaro P, Samson Y, Hantraye P, Peschanski M, Remy P. Striatal neural grafting improves cortical metabolism in Huntington's disease patients. *Brain*. 2004; 127:65-72.
11. Peschanski M, Defer G, N'Guyen JP, Ricolfi F, Monfort JC, Remy P, Geny C, Samson Y, Hantraye P, Jéry R, et al. Bilateral motor improvement and alteration of L-dopa effect in two patients with Parkinson's disease following intrastriatal transplantation of foetal ventral mesencephalon. *Brain*. 1994, 117:487-99.
12. Remi P, Samson Y, Hantraye P, Fontaine A, Defer G, Mangin JF, Fénelon G, Gény C, Ricolfi F, Frouin V, et al. Clinical correlates of [18F]fluorodopa uptake in five grafted parkinsonian patients. *Ann Neurol*. 1995, 38:580-8.
13. Cochen V, Ribeiro MJ, Nguyen JP, Gurruchaga JM, Villafane G, Loch C, Defer G, Samson Y, Peschanski M, Hantraye P, Cesaro P, Remy P. Transplantation in Parkinson's disease: PET changes correlate with the amount of grafted tissue. *Mov Disord*. 2003; 18:928-32.
14. Gill SS, Patel NK, Hutton GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, Brooks DJ, Svendsen CN, Heywood P. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med*. 2003; 9:589-95.
15. Kishima H, Poyat T, Bloch J, Dauguet J, Condé F, Dollé F, Hinnen F, Pralong W, Palfi S, Déglon N, Aebischer P, Hantraye P. Encapsulated GDNF-producing C2C12 cells for Parkinson's disease: a pre-clinical study in chronic MPTP-treated baboons. *Neurobiol Dis*. 2004; 16:428-39.
16. Kordower JH, Emborg ME, Bloch J, Ma SY, Chu Y, Leventhal L, McBride J, Chen EY, Palfi S, Roitberg BZ, Brown WD, Holden JE, Pyzalski R, Taylor MD, Carvey P, Ling Z, Trono D, Hantraye P, Déglon N, Aebischer P. Neurodegeneration prevented by lentiviral vector delivery of GDNF in primate models of Parkinson's disease. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11052933?itool=Entrez_System.2.Pubmed.Pubmed.ResultsPanel.Pubmed.RVDocSum&ordinalpos=7 Science. 2000, 290(5492):767-73.
17. Isacson O, Brundin P, Kelly PA, Gage FH, Björklund A. Functional neuronal replacement by grafted striatal neurons in the ibotenic acid-lesioned rat striatum. *Nature*. 1984; 311:458-60.

18. Emerich DF, Winn SR, Hantraye PM, Peschanski M, Chen EY, Chu Y, McDermott P, Baetge EE, Kordower JH. Protective effect of encapsulated cells producing neurotrophic factor CNTF in a monkey model of Huntington's disease. *Nature*. 1997, 386:395-9.
19. Bloch J, Bachoud-Lévi AC, Déglon N, Lefaucheur JP, Winkel L, Palfi S, Nguyen JP, Bourdet C, Gaura V, Remy P, Brugières P, Boissé MF, Baudic S, Cesaro P, Hantraye P, Aebischer P, Peschanski M. Neuroprotective gene therapy for Huntington's disease, using polymer-encapsulated cells engineered to secrete human ciliary neurotrophic factor: results of a phase I study. *Hum Gene Ther*. 2004; 15:968-75.
20. Lledo PM, Gheusi G. Adult neurogenesis: from basic research to clinical applications. *Bull Acad Natl Med*. 2006; 190:385-400.
21. Isacson O, Kordower JH. Future of cell and gene therapies for Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2008; 64:S122-38.

CELLULES SOUCHES ET MALADIES GÉNÉTIQUES...

(C.A. Dechesne, D. F. Pisani et C. Dani)

1. Dellavalle A, Sampaolesi M, Tolorenzi R, et al. Pericytes of human skeletal muscle are myogenic precursors distinct from satellite cells. *Nat Cell Biol*. Mar 2007;9(3):255-267.
2. Sampaolesi M, Blot S, D'Antona G, et al. Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs. *Nature*. Nov 30 2006;444(7119):574-579.
3. Torrente Y, Belicchi M, Sampaolesi M, et al. Human circulating AC133(+) stem cells restore dystrophin expression and ameliorate function in dystrophic skeletal muscle. *J Clin Invest*. Jul 2004;114(2):182-195.
4. Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, Ailhaud G, Dani C. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie*. Jan 2005;87(1):125-128.
5. Bacou F, el Andaloussi RB, Daussin PA, et al. Transplantation of adipose tissue-derived stromal cells increases mass and functional capacity of damaged skeletal muscle. *Cell Transplant*. 2004;13(2):103-111.
6. Di Rocco G, Iachininoto MG, Tritarelli A, et al. Myogenic potential of adipose-tissue-derived cells. *J Cell Sci*. Jul 15 2006;119(Pt 14):2945-2952.
7. Rodriguez AM, Pisani D, Dechesne CA, et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med*. May 2 2005;201(9):1397-1405.
8. Goudenege S, Pisani DF, Wdziekonski B, et al. Enhancement of myogenic and muscle repair capacities of human adipose-derived stem cells with forced expression of MyoD. *Mol Ther*. Jun 2009;17(6):1064-1072.
9. Gonçalves MA, Swildens J, Halkers M, et al. Genetic complementation of human muscle cells via directed stem cell fusion. *Mol Ther*. Apr 2008;16(4):741-748.

UTILISATION DES CELLULES SOUCHES...

(H. Chneiweiss)

1. Dufour, C., Cadusseau, J., Varlet, P., et al. (2009) Astrocytes reverted to a neural progenitor-like state with transforming growth factor alpha are sensitized to cancerous transformation. *Stem Cells* 27, 2373-82.
2. Jacques, T. S., Swales, A., Brzozowski, M. J., et al. (2009) Combinations of genetic mutations in the adult neural stem cell compartment determine brain tumour phenotypes. *Embo J*.
3. Differentially Impacts Teratoma or Tumor Formation After Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Neural Progenitors. *Stroke*. in press
4. Mathews, D. J., Sugarman, J., Bok, et al. (2008) Cell-based interventions for neurologic conditions: ethical challenges for early human trials. *Neurology*, 71, 288-93.
5. Isacson, O. (2009) Cell therapy ahead for Parkinson's disease. *Science*, 326, 1060.
6. Seminatore, C., Polentes, J., Ellman, D., et al. (2009) The Postischemic Environment
7. Desplats, P., Lee, H. J., Bae, E. J., et al. (2009) Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 13010-5.
8. Cartier, N., Hacein-Bey-Abina S., Bartholomae, et al. (2009) Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science*, 326, 818-23.

Endel Tulving ou la neuropsychologie de la mémoire à l'honneur

par Francis Eustache

Les neurosciences cognitives, qui visent à décrire les substrats cérébraux des processus cognitifs, connaissent des avancées très importantes du fait notamment du développement des techniques d'imagerie cérébrale. Pour ces raisons, elles tiennent une place de plus en plus grande dans la Société des neurosciences. La neuropsychologie fait partie des neurosciences cognitives dont elle constitue la partie clinique. De longue date, elle a mis en correspondance des symptômes et des lésions cérébrales. S'appuyant également sur les techniques d'imagerie cérébrale, elle met en lumière les phénomènes de plasticité et de compensation fonctionnelle qui surviennent au cours de diverses pathologies neurologiques ou psychiatriques. Dans ce cadre, la neuropsychologie de la mémoire a joué un rôle pionnier, amplifié aujourd'hui du fait de l'incidence accrue des pathologies neurodégénératives. L'importance de ce secteur de la recherche a conduit le jury du prix Pasteur-Weizmann/Servier à choisir le thème de la "neuropsychologie de la mémoire" pour son édition 2009. La proclamation de ce prix prestigieux, le 26 novembre dernier à Paris, décerné tous les trois ans à un acteur de premier plan dans les sciences biologiques et médicales, met à l'honneur cette discipline. Elle donne aussi l'occasion de présenter la contribution unique du lauréat, Endel Tulving, à la neuropsychologie et aux neurosciences cognitives de la mémoire humaine.

Endel Tulving est né en Estonie en 1927. Les événements historiques dans ce pays et dans cette partie du monde ont fait qu'il a été séparé de la plupart des membres de sa famille pendant une vingtaine d'années. Emigré aux États-Unis et au Canada (il a la nationalité canadienne), il revient maintenant régulièrement en Estonie et parle de Tallinn comme de la ville qu'il aime le plus au monde.

Endel Tulving a travaillé dans plusieurs Universités Nord-américaines ; il est actuellement Professeur Emérite à l'Université de Toronto où il a réalisé le plus grand nombre de ses recherches et où il a fondé une École scientifique extrêmement productive. Il est auteur de plus de 200 publications (articles et chapitres d'ouvrages) parus dans des revues généralistes (comme Science, PNAS) mais également dans les meilleures revues de différentes spécialités : en neurosciences (Neuron, Journal of Neuroscience, Cerebral cortex), en psychologie (Psychological review, Annual review of psychology), en neurologie et en neuropsychologie (Brain, Neuropsychologia), etc.

Endel Tulving a reçu des prix prestigieux comme le Wilhelm Wundt-William James Award, distinction la plus élevée en psychologie expérimentale. Il est membre associé de plusieurs Académies et Docteur Honoris Causa d'une dizaine d'Universités à travers le monde. Il a été nommé, en 2006, Officier de l'ordre du Canada. Psychologue expérimentaliste de formation, il est considéré dans notre communauté comme le scientifique qui a le plus marqué cette discipline pendant la deuxième partie du 20^e Siècle et dans la première décennie de ce siècle : sa première publication date de 1957 et il a écrit des textes expérimentaux et théoriques très récemment.

Les recherches d'Endel Tulving s'inscrivent dans un champ pluridisciplinaire : sans jamais abandonner les principes et la rigueur de la psychologie expérimentale, il a étendu ses investigations à la neuropsychologie et à la neuro-imagerie fonctionnelle où, dans tous les cas, il a réalisé des découvertes marquantes et ouvert de nouveaux domaines de recherche. Comme c'est le cas pour des auteurs majeurs qui l'ont précédé et auxquels il peut être comparé (Hermann Ebbinghaus, William James), les contributions d'Endel Tulving associent de façon harmonieuse des avancées conceptuelles et des développements méthodologiques parfois totalement inédits. Certains se trouvent maintenant dans nombre de manuels et traités ; d'autres sont même dans le langage courant, dans ce qu'on appelle communément la mémoire sémantique...

Le concept de mémoire épisodique est sans doute le plus emblématique de l'œuvre d'Endel Tulving. Proposé pour la première fois en 1972, l'auteur n'a eu de cesse de raffiner cette mémoire des souvenirs, tout au long de sa carrière, en fournissant de nombreuses données empiriques en psychologie expérimentale, en neuropsychologie (à partir de l'étude de patients atteints d'un syndrome amnésique) et plus récemment, en neuro-imagerie. Il a proposé de nouvelles méthodes d'évaluation de ce système de mémoire, notamment le paradigme "se souvenir/savoir", maintenant utilisé par de nombreuses équipes de recherche de par le monde. Il a véritablement forgé ce concept, "cette merveille de la nature" pour reprendre ses termes, en qualifiant avec une grande précision le niveau de conscience qui accompagne la récupération d'un souvenir épisodique.

Les travaux consacrés à la mémoire implicite et plus précisément à l'amorçage, réalisés avec son élève Daniel Schacter, ont donné lieu à des développements théoriques importants, notamment la distinction entre



de gauche à droite : Michel Poncet, Endel Tulving, Francis Eustache, Robert Jaffard.

amorçage perceptif et amorçage conceptuel, mais aussi des applications cliniques dans la prise en charge des patients atteints d'un syndrome amnésique.

Une attention particulière doit être portée à l'exploration au concept d'encodage grâce à la neuro-imagerie fonctionnelle, approche nouvelle où Endel Tulving a fait des contributions majeures. En 1994, il révèle un phénomène inédit : le cortex préfrontal gauche est impliqué préférentiellement dans les processus d'encodage en mémoire épisodique alors que son homologue droit est préférentiellement impliqué dans les processus de récupération en mémoire épisodique. Il s'agit à cette époque de la plus grande découverte faite grâce à l'imagerie fonctionnelle, connue sous l'acronyme HERA pour *Hemispheric Encoding Retrieval Assymetry*.

Endel Tulving aime forger et créer des concepts (ecphorie, autoanéstésie...). Le dernier né, à ma connaissance, est celui de chronesthésie. Dans le cadre de la récupération en mémoire épisodique et du niveau de conscience qualifié d'autoanéstésie qui l'accompagne, ce nouveau concept permet d'insister sur la dimension temporelle de la mémoire (le voyage dans le temps) : vers le passé, vers le futur, le retour vers le présent. Cette chronesthésie serait, selon lui, l'un des témoins majeurs de l'évolution de l'Humanité. Au-delà, le vecteur allant du futur au passé, transgressant nombre de lois de la nature, serait spécifique à l'Humanité.

Les préoccupations de ce théoricien ont toujours été de proposer une vision d'ensemble de la mémoire, en adoptant une conception "multi-systèmes" très large, exposée dans des textes synthétiques qui ont ponctué toute sa carrière. La conception structuro-fonctionnelle distinguant cinq systèmes de mémoire en interaction (la mémoire procédurale, la mémoire perceptive, la mémoire de travail, la mémoire sémantique, la mémoire épisodique) est largement admise par la communauté des chercheurs en neurosciences cognitives.

Ces quelques données factuelles, concernant les contributions scientifiques d'Endel Tulving à la "neuropsychologie de la mémoire", ne suffisent pas pour saisir la puissance, l'intensité et l'importance de son œuvre. Endel Tulving a commencé sa carrière par des travaux de psychologie expérimentale. La rigueur et l'exigence de cette discipline ne l'ont jamais quitté. Mais il a eu l'audace, le talent et aussi le courage de réintégrer dans le concept de mémoire, qui avait été vidé de son sens par plus de cinquante ans de béhaviorisme, la dimension subjective : l'impression de reviviscence qui accompagne un souvenir, la notion de voyage dans le temps, les liens entre mémoire, conscience et identité. Endel Tulving a inventé l'étude objective, via la phénoménologie, d'une mémoire éminemment subjective. Il a formé de nombreux élèves, directement ou indirectement. Son œuvre est un guide pour toute une communauté de chercheurs et de cliniciens. Ses avancées conceptuelles et méthodologiques autorisent des progrès dans les thérapies des maladies de la mémoire, objectifs ultimes de la neuropsychologie.

La remise de ce Prix prestigieux à Endel Tulving, qui récompense l'ensemble de son œuvre, est aussi une chance et une reconnaissance pour les neurosciences cognitives et tout particulièrement, la neuropsychologie de la mémoire. ■

neuropsych@chu-caen.fr



CRÉATION DU CLUB FRANÇAIS DE NEURO-IMMUNOLOGIE (CFNI)

La Neuro-immunologie est une discipline frontière à l'interface entre les Neurosciences et l'Immunologie. Explorer les interactions entre les systèmes nerveux et immunitaire est crucial pour la compréhension des dérèglements autoimmuns (sclérose en plaques), des processus neurodégénératifs d'origine infectieuse (prion, rage, méningite) ou non (Alzheimer, Parkinson, SLA), des proliférations malignes (gliomes, métastase cérébrales), etc.

Les objectifs du Club CFNI sont de :

- favoriser l'interaction entre les différents Chercheurs travaillant dans le domaine d'interface de la Neuro-immunologie,
- partager connaissances et compétences relatives aux maladies et/ou modèles expérimentaux,
- faire connaître et valoriser cette discipline au regard des Neurosciences et de l'Immunologie,
- créer de nouvelles ressources pédagogiques spécifiques.

Première réunion annuelle du club : jeudi 27 mai 2010 à Paris
 Informations : Sylvain Fisson - sylvain.fisson@crc.jussieu.fr
<http://www.sfi-immunologie.fr>

Un demi-siècle d'acoustique physiologique : de la membrane basilaire aux molécules

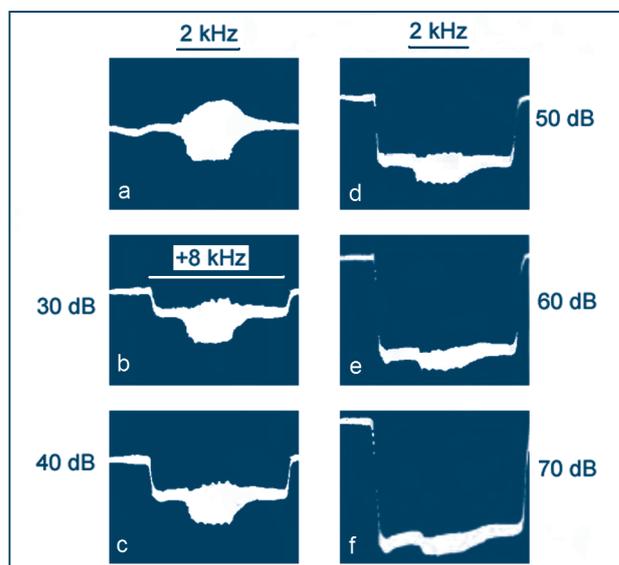
par Paul Avan

L'acoustique physiologique étudie le fonctionnement du système auditif périphérique, notamment la cochlée et les étapes préneurales du codage des sons : analyse en fréquences, filtrage et débruitage, amplification, ajustement de la gamme dynamique et finalement transduction pour aboutir aux potentiels d'action dans les voies auditives. L'immense majorité des surdités neurosensorielles est d'origine cochléaire d'où l'intensité des efforts consacrés à comprendre sa physiologie. On doit l'introduction en France de l'acoustique physiologique au neurophysiologiste Jean-Paul Legoux (1922-2009), créateur et, en tant que directeur de recherches au CNRS, directeur du Laboratoire de Physiologie Auditive au Collège de France jusqu'en 1987. C'est en 1951-52 que, thésard et jeune médecin, il s'était initié au sujet chez Hallowell Davis dans son prestigieux laboratoire du Central Institute for the Deaf à Saint Louis (Mo), pour à son retour, décider de se consacrer à cette thématique alors embryonnaire.

En 1950, Békésy venait d'élucider la manière dont le son se propage au sein des liquides de l'oreille interne, mais seulement aux très forts niveaux. Le développement des radiotransmissions véhiculant de la parole plus ou moins dégradée avait propulsé la psychophysique au rang de discipline scientifique capable de mettre en évidence la sensibilité du système auditif, sa précision dans l'analyse des fréquences et sa résistance au bruit. Mais on ignorait tout de la manière dont les cellules sensorielles auditives transformaient les messages sonores en signaux électriques, ni d'où émergeaient les extraordinaires performances de l'audition : ceci a été le défi de l'acoustique physiologique jusqu'au milieu des années 80.

À l'arrivée de J.P. Legoux chez Davis, la seule manifestation électrique détectable de la réponse de la cochlée au son était un potentiel électrique issu de la spirale cochléaire. Il reproduisait fidèlement la structure temporelle fine du son, d'où son nom de "microphonique". Tasaki, Davis et Legoux caractérisèrent ses sources et leur distribution spatiale en relation avec les processus d'analyse des fréquences. La méthode, particulièrement délicate à appliquer, consistait à placer des électrodes en vis-à-vis à des endroits répartis tout au long des rampes vestibulaire et tympanique du Cobaye, modèle idéal en raison de la grande taille de ses structures auditives. Un couplage différentiel permettait de ne détecter que les cellules situées entre les électrodes en annulant les

contributions lointaines. Jusqu'aux années 1975-80 et au développement des enregistrements intracellulaires unitaires et des mesures vibrométriques par laser, l'enregistrement du potentiel microphonique perfectionné par J.P. Legoux est resté un des moyens les plus directs pour disséquer le fonctionnement de l'oreille interne *in vivo*. Le microphonique est produit par l'un des deux types de cellules sensorielles de l'organe de Corti, les cellules ciliées externes, dont les années 80 ont élucidé le rôle essentiel : par leur électromotilité, elles entretiennent sur la membrane basilaire une résonance active qui confère à la cochlée sa dynamique en intensité et sa sélectivité en fréquences. C'est pourquoi le microphonique conserve en 2010 un statut particulièrement intéressant pour compléter *in vivo* les études atteignant désormais l'échelle moléculaire. Par exemple sa persistance dans les neuropathies auditives, identifiées en 1996, a démontré la non-implication des cellules ciliées externes.



Cet extrait, d'après le travail de Legoux et coll. (*J. Acoust. Soc. Am.*, 1973, 53, 409-419) montre les formes d'onde de microphonique cochléaire (avec les moyens de l'époque : photographies d'écran d'oscilloscope !) en réponse à un son de 2 kHz soit seul (courbe a), soit en présence d'un son de 8 kHz (de b à f, le niveau croît de 30 à 70 dB au dessus du seuil auditif de l'animal). Le son de 8 kHz (présenté pendant l'intervalle de temps marqué par le trait horizontal blanc) supprime progressivement la réponse à 2 kHz (le son de 2 kHz étant présenté pendant l'intervalle de temps marqué par le trait horizontal bleu, haut de l'image). Ceci illustre le phénomène de masquage simultané. Legoux l'interprétait comme dû à un biais du point d'opération des cellules car il recréait ce résultat en remplaçant le son de 8 kHz par une surpression hydrostatique dans la cochlée. La question reste actuelle en 2010.

10^e COLLOQUE DE LA SOCIÉTÉ DES NEUROSCIENCES

MARSEILLE, 24-27 MAI 2011

L'inventivité de J.P. Legoux et son activité inlassable d'enseignant lui ont permis de rester leader d'un domaine enfin reconnu en France avec le développement dans les années 60-70 d'autres laboratoires. Parmi les techniques alors développées, on retient l'électrocochléographie, adaptée à l'homme et recueillant non seulement le microphonique, mais aussi un potentiel continu dit de sommation présent pendant toute la durée du stimulus et un potentiel dit d'action composite ayant pour origine le nerf cochléaire. Les otoémissions acoustiques émises par les cellules ciliées externes, découvertes en 1978 par Kemp, ont soulevé en France un grand intérêt avec à la clé les premières applications cliniques au dépistage auditif. L'approche de l'acoustique physiologique a été rapidement complétée par des études de développement, de neuromédiateurs et de chimie des liquides labyrinthiques, alors que le terrain de la psychoacoustique restait très actif. Les ouvrages didactiques collectifs suscités et publiés par J.P. Legoux au Collège de France avant qu'il ne soit relayé par la Société Française d'Acoustique, attestent du dynamisme des synergies créées.

D'emblée J.P. Legoux s'était interrogé sur la question toujours très brûlante de l'origine des nonlinéarités et distorsions cochléaires, évidentes dans le microphonique et qui sous-tendent les mécanismes de masquage et de débruitage. Legoux a aussi initié de nombreuses recherches sur les effets auditifs des expositions à risque, génératrices de millions de cas de surdités dont la prévention et la prise en charge restent des challenges très actuels : bruit, barotraumatismes, hypoxie, substances ototoxiques. Les gènes de nombreuses molécules spécifiques de la cochlée sont désormais connus, ainsi que les conséquences de leurs mutations. Héritière de celui qui l'a introduite en France, l'acoustique physiologique garde une place centrale en apportant à ces données moléculaires des interprétations fonctionnelles capables d'orienter l'ORL dans ses efforts de dépistage, de prévention et d'appareillage des surdités. ■

paul.avan@u-clermont1.fr



En partenariat avec la Société Suisse des Neurosciences

Le programme est en cours d'élaboration et sera disponible sur le site dès cet été. Les inscriptions et soumissions de résumé débiteront en décembre.

Des prix seront alloués aux étudiants français, membres de la Société, souhaitant participer au 10^e Colloque. Ces prix consisteront en l'exonération des frais d'inscription au Colloque.

Pour plus d'informations, nous vous invitons à vous connecter régulièrement : www.neurosciences.asso.fr



VIE DE LA SOCIÉTÉ

Depuis son élection au mois de mai 2009, le Conseil s'est réuni le 26 octobre 2009 pour discuter de la vie de la Société.

Étaient présents : E. Audinat, C. Barthélémy, V. Castellani, J.-F. Demonet, I. Dusart, N. Guérineau, L. Fagni, C. Le Moine, A. Nieoullon, S. Oliet, N. Ravel, M. Savasta, D. Shulz, M. Wassef.

Absents : S. Birman, G. Di Scala, M. Jaber, P. Vernier.

Avril 2010

**La Lettre des Neurosciences est éditée
par la Société des Neurosciences**

Université Victor Segalen Bordeaux 2 • case 67
146, rue Léo-Saignat • 33076 Bordeaux cedex

► Téléphone: 05 57 57 37 40

► Télécopie: 05 57 57 37 50

► Messagerie: info@societe-neurosciences.fr

► Internet: www.neurosciences.asso.fr

Directeur de la publication Yves Tillet
Rédacteur en Chef INRA - PRC - CNRS UMR 6175
Univ. de Tours - HN
Centre de Recherche de Tours
37380 Nouzilly
► Télécopie : 02 47 42 77 43
► Mèl : yves.tillet@societe-neurosciences.fr

Fabrication I. Conjat, J.-M. Israel, J.-F. Renaudon

Concept maquette Mazarine communication

Impression Techniques et Impressions

Comité de rédaction J.-G. Barbara (Paris),
D. Blum (Lille),
L. Dupuis (Strasbourg),
F. Eustache (Caen),
S. Gaillard (Strasbourg),
M. Garret (Bordeaux),
C. Cleren (Nice),
S. Pinto (Aix-en-Provence).

Ont participé à ce numéro T. Bouschet, F. Clarac, C. Dani,
C. Dechesne, A. Gaillard,
G. Gandolfo, N. Gaspard,
G. Gheusi, P. Hantraye, S. Hunot,
N. Le Douarin, P.-M. Lledo,
A.L. Perrier, D. Pisani, D. Shulz,
P. Vanderhaeghen.

Dessins P. Ciofi (philippe.ciofi@inserm.fr)

Rappel *Dates limites pour nous adresser
vos textes et annonces :*
le **31 janvier** pour le numéro
de printemps, et le **1^{er} septembre**
pour le numéro d'hiver.

Photographie de couverture :

Clone de neurones pyramidaux générés par un progéniteur neural
cortical dérivé à partir de cellules ES *in vitro*

Auteur : Pierre Vanderhaeghen