



CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006 ; 6 : 392-401.
2. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001 ; 411 : 366-74.
3. Epstein EH. Basal cell carcinomas: attack of the hedgehog. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 743-54.
4. Gorlin RJ. Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome. *Genet Med* 2004 ; 6 : 530-9.
5. Goldstein AM, Bale SJ, Peck GL, DiGiovanna JJ. Sun exposure and basal cell carcinomas in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1993 ; 29 : 34-41.
6. Gailani MR, Stahle-Backdahl M, Leffell DJ, et al. The role of the human homologue of *Drosophila* patched in sporadic basal cell carcinomas. *Nat Genet* 1996 ; 14 : 78-81.
7. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, et al. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 1996 ; 272 : 1668-71.
8. Uden AB, Zaphiropoulos PG, Bruce K, Toftgard R, Stahle-Backdahl M. Human patched (PTCH) mRNA is overexpressed consistently in tumor cells of both familial and sporadic basal cell carcinoma. *Cancer Res* 1997 ; 57 : 2336-40.
9. Van Scott EJ, Reinertson RP. The modulating influence of stromal environment on epithelial cells studied in human autotransplants. *J Invest Dermatol* 1961 ; 36 : 109-31.
10. Sneddon JB, Zhen HH, Montgomery K, et al. Bone morphogenetic protein antagonist gremlin 1 is widely expressed by cancer-associated stromal cells and can promote tumor cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 14842-7.
11. Valin A, Barnay-Verdier S, Robert T, et al. PTCH1^{-/-} dermal fibroblasts isolated from healthy skin of Gorlin syndrome patients exhibit features of carcinoma associated fibroblasts. *PLoS ONE* 2009 ; 4 : e4818.
12. Yauch RL, Gould SE, Scales SJ, et al. A paracrine requirement for hedgehog signalling in cancer. *Nature* 2008 ; 455 : 406-10.
13. Brellier F, Bergoglio V, Valin A, et al. Heterozygous mutations in the tumor suppressor gene PATCHED provoke basal cell carcinoma-like features in human organotypic skin cultures. *Oncogene* 2008 ; 27 : 6601-6.
14. Delmas V, Larue L. How keratinocytes instruct melanocytes to deliver the pigment. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 147-8.
15. Basset-Seguin N, Soufir N. Patched/Sonic Hedgehog pathway and basal cell carcinoma. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 899-903.

NOUVELLE

Nétrine et cellules souches, attirance ou répulsion ?

Audrey Petit

University of Washington,
Department of neurosurgery,
325, 9th avenue, Box 359655,
Seattle, WA 98104, États-Unis.
petit.audrey@gmail.com

> On dénombrerait à l'échelle de la planète quelque 2,5 millions de personnes atteintes d'une lésion handicapante de la moelle épinière (ME) causée par un accident. Chaque année, on compte plus de 130 000 nouvelles victimes, principalement de jeunes adultes. Les handicaps fonctionnels varient selon le niveau de la blessure. Malgré des progrès importants dans la compréhension des mécanismes de ces lésions, celles-ci demeurent permanentes, offrant très peu d'espoir de réhabilitation [1].

Un traumatisme de la ME produit un kyste, c'est-à-dire une zone nécrosée remplie de liquide, isolée du tissu sain par une cicatrice gliale, barrière physique et moléculaire formée par les astrocytes réactifs qui s'opposent à la régénération axonale et au remplacement des cellules neurales perdues [2]. Les recherches actuelles visent à neutraliser les actions inhibitrices de la cicatrice gliale et à combler la zone cystique par la création d'un substrat permissif [3].

Cellules souches neurales dans le système nerveux central et la moelle épinière

La découverte de l'existence de cellules souches neurales (CSN) dans la ME des mammifères adultes, y compris l'espèce humaine, a suscité de nouvelles perspectives thérapeutiques [4, 5]. Les CSN, douées d'autorenouveaulement, peuvent, *in vitro*, donner naissance aux trois principaux types cellulaires composant le système nerveux central (SNC) : les neurones et les cellules gliales, astrocytes et oligodendrocytes (Figure 1A). Dans la ME, ces CSN sont localisées autour du canal épendymaire et elles se différencient exclusivement en cellules gliales. Les études effectuées chez l'animal démontrent que les CSN ont la faculté de se reproduire à l'épicentre d'une hémisection de la ME, mais ne se fixent pas dans cette zone inhospitalière et vont plutôt s'en éloigner [6], obstacle de taille à l'usage de ces cellules en médecine régénérative.

Chez les rongeurs adultes, ces cellules ont une migration très limitée *in vivo*.

Dans le système nerveux central, seules deux voies de migration ont été définies : les cellules progénitrices nées des CSN de la zone sous-ventriculaire migrent suivant le courant de migration rostrale, route unidirectionnelle menant aux bulbes olfactifs, et celles nées de la zone sous-granulaire migrent sur une courte distance dans la couche de cellules granulaires du gyrus dentelé [7]. Les mécanismes et les signaux qui orientent la migration des CSN adultes sont peu connus. Toutefois, lors du développement du SN, la migration des neuroblastes est régulée par l'intégration spatiotemporelle de signaux moléculaires attractifs ou répulsifs, dont les protéines des familles nétrines, slit, éphrines et sémaphorines [8, 9]. Or ces molécules continuent d'être exprimées chez l'adulte.

Guidage et migration des cellules souches neurales de la moelle épinière

Dans notre laboratoire, nous avons cherché à analyser la réponse des CSN de la ME adulte à ces signaux de guidage

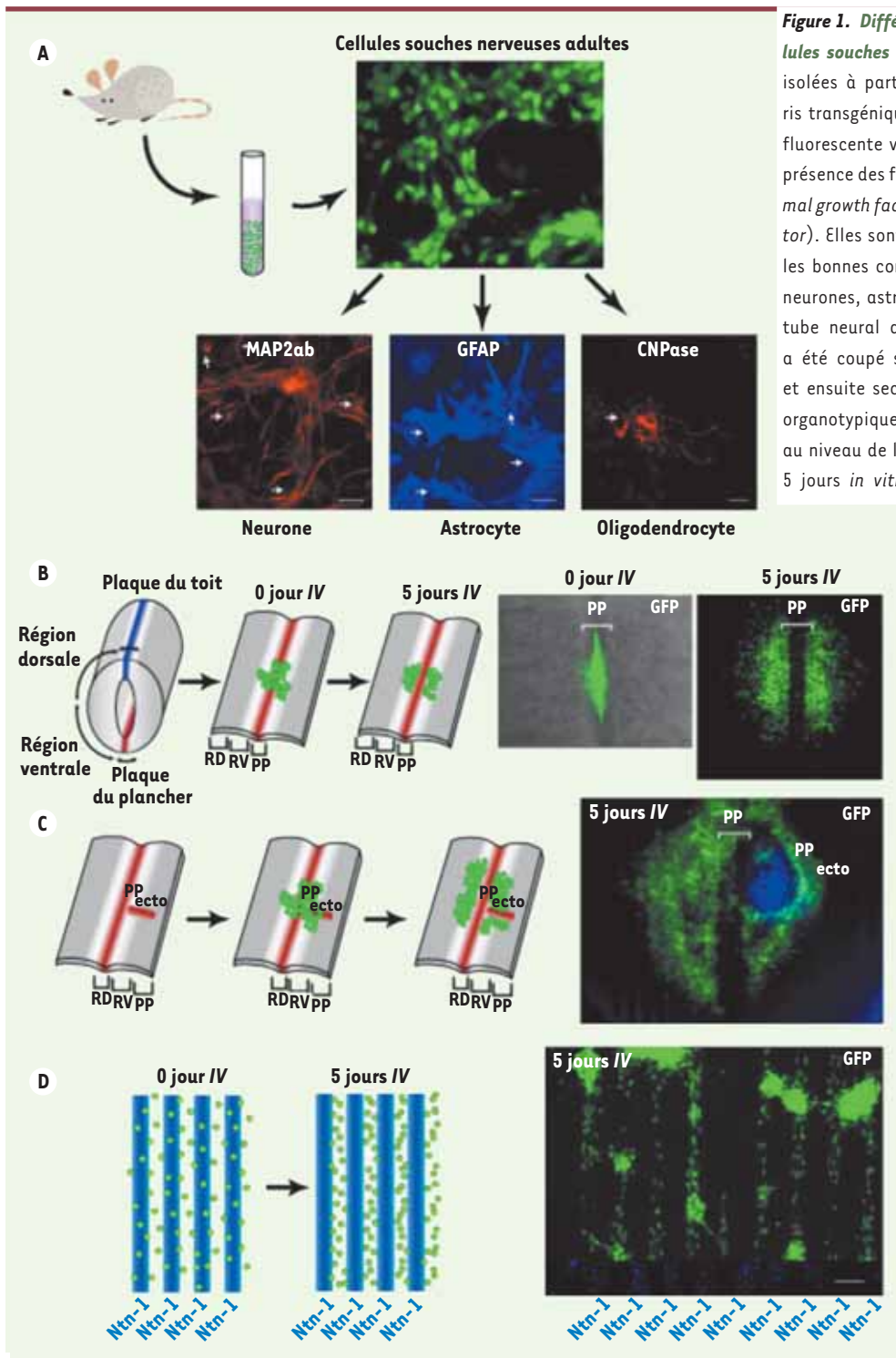


Figure 1. Différenciation et migration des cellules souches neurales adultes. **A.** Les CSN sont isolées à partir de la moelle épinière de souris transgéniques adultes exprimant la protéine fluorescente verte (GFP). Les CSN prolifèrent en présence des facteurs de croissance EGF (*epidermal growth factor*) et FGF (*fibroblast growth factor*). Elles sont multipotentes et, cultivées dans les bonnes conditions, elles se différencient en neurones, astrocytes ou oligodendrocytes. **B.** Le tube neural d'embryons de souris de 12 jours a été coupé suivant la ligne médiane dorsale et ensuite sectionné pour obtenir des tranches organotypiques. Les CSN ont été positionnées au niveau de la plaque du plancher (PP); après 5 jours *in vitro* (IV), elles migrent de chaque côté de la PP. **C.** Lorsque des explants de la PP sont placés dans des positions ectopiques (ecto), les CSN établissent invariablement un nouveau chemin de migration. **D.** Les CSN cultivées sur un substrat de nétrine-1 (Ntn-1) disposé en rayures alternantes sont repoussées lorsqu'elles entrent en contact avec cette protéine. Échelle : 100 µm.

qui interviennent lors du développement neural [10]. L'expression de plusieurs de ces molécules varie en réponse à une lésion, mais leurs fonctions et les conséquences de ces variations restent méconnues. La plaque du plancher (PP) du tube neural (TN) est une région clé

de l'expression de ces signaux au cours du développement. Nous avons établi un modèle simple de coculture de tranches organotypiques du TN embryonnaire de la souris et de CSN adultes pour tester les réactions de celles-ci aux signaux endogènes (Figure 1B). Les CSN adultes

étudiées ont été isolées à partir de la ME complète de souris transgéniques exprimant la protéine fluorescente verte (GFP). D'emblée, nous avons observé dans ce système que les CSN s'éloignaient de la PP, en suivant un chemin de migration invariable, latéral à la PP.

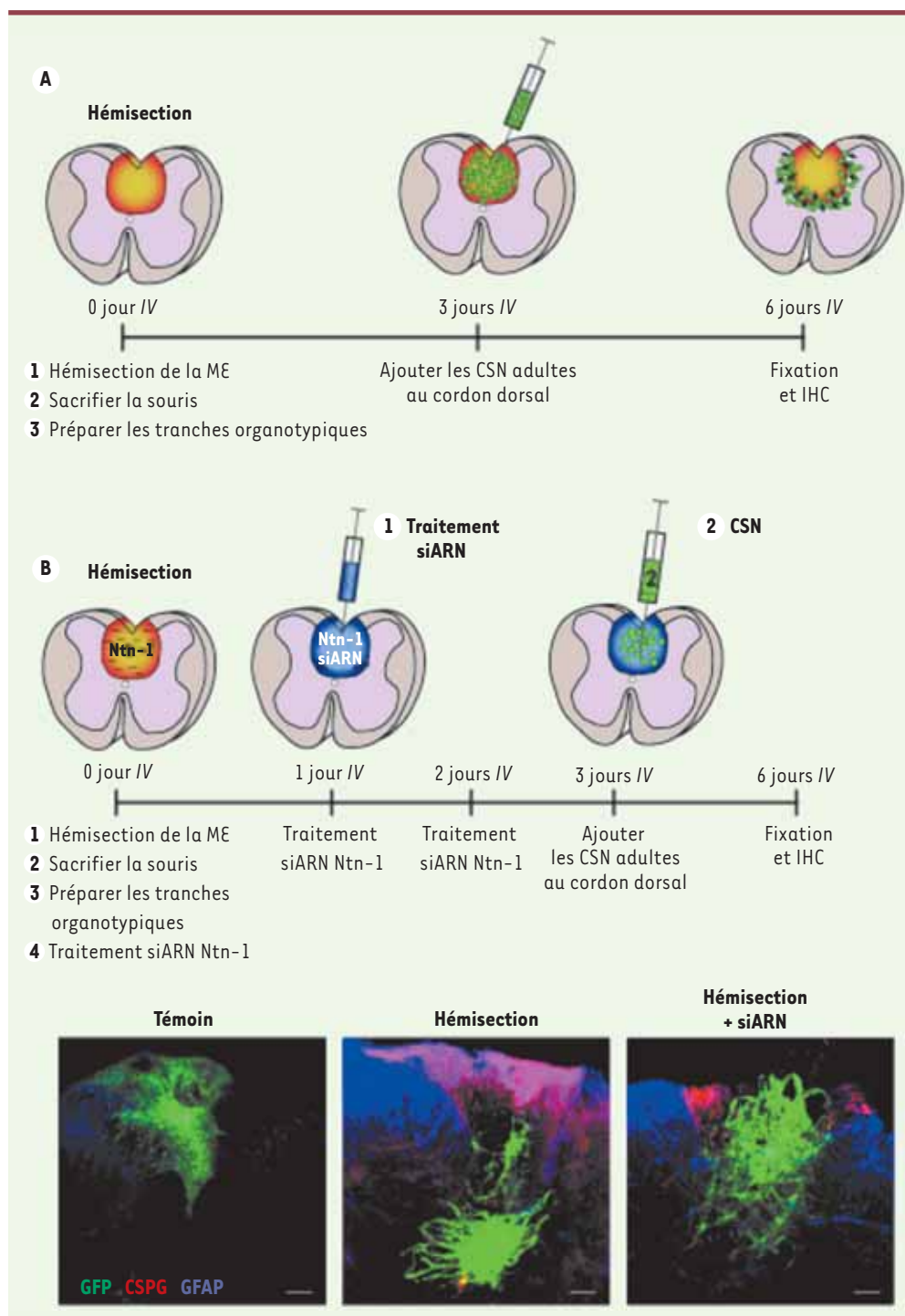


Figure 2. Un modèle in vitro de lésion de la moelle épinière (ME). **A.** Après hémisection de la ME de souris adultes, la ME a été disséquée et sectionnée pour obtenir des tranches organotypiques en coupe transversale. Les CSN sont positionnées au niveau du cordon dorsal et migrent hors de la zone de lésion. **B.** Après hémisection, un traitement des tranches organotypiques avec des ARN interférents (si-ARN) contre Ntn-1 bloque la répulsion des CSN par la zone lésée, région délimitée par les astrocytes réactifs (*glial fibrillary acidic protein*) et l'expression de chondroïtine sulfate (*chondroitin sulfate proteoglycan*, CSPG). L'absence de répulsion dans la situation témoin est en accord avec notre démonstration d'une intervention de Ntn-1 dont l'expression augmente au site de la lésion après une hémisection. IHC : immunohistochimie. Échelle : 100 µm.

Nous proposons deux explications à cette migration : soit les CSN sont soumises à une action répulsive de la PP, soit elles sont attirées par le neuroépithélium ventral. En plaçant les explants de la PP dans des positions ectopiques, nous avons démontré que l'hypothèse de la répulsion des CSN par la PP doit être

retenue (Figure 1C). Les CSN répondent donc à un signal répulsif exprimé dans la PP.

Identification de la nétrine à l'origine d'un signal répulsif

Afin d'identifier les molécules en cause, nous avons perturbé l'expression de

molécules de guidage dans la PP, dont la Nétrine-1 (Ntn-1), Slit2, l'éphrine-B3 et Sonic hedgehog, ou bien celle de leurs récepteurs, DCC (*deleted in colorectal cancer*), Néogénine, UNC5, Robo, EphB1 et EphB3, par les CSN. Les stratégies de perturbation utilisaient des anticorps, des ARN interférents et des tranches

organotypiques de tissus transgéniques. Parmi ces signaux, seule la Ntn-1 s'est avérée capable de provoquer l'effet répulsif recherché (Figure 1D). Ntn-1 est reconnue pour son rôle majeur dans le guidage axonal au cours du développement neural. Plus récemment, de nouvelles fonctions lui ont été attribuées dans l'expression de diverses propriétés, adhérence, motilité, prolifération, différenciation, survie cellulaires et angiogénèse et, plus récemment, migration des CSN [11].

Ntn-1 s'est révélée être l'élément clé de la migration des CSN puisque son inhibition, à elle seule, freine la formation du chemin de migration des cellules, latéral au PP. Serait-il possible que Ntn-1, dont l'expression augmente au site de la lésion lors d'une hémisection de la ME, participe à la migration des CSN hors du site de la lésion [12] ? Notre modèle *in vitro* de tranches organotypiques préparées à partir de la ME lésée de souris adultes et mises en coculture avec des CSN de la ME reproduit le comportement observé *in vivo*, migrant hors de la région lésée. Si l'on diminue

l'expression de Ntn-1 ou si l'on bloque la fonction de l'un de ses récepteurs, les CSN restent au niveau du site de la lésion démontrant une action directe de Ntn-1 (Figure 2B).

Ces résultats établissent clairement le rôle de Ntn-1 en tant qu'agent répulsif des CSN. Nous proposons donc une approche novatrice pour remodeler le centre de la lésion chez les souris : bloquer l'expression de Ntn-1 afin de permettre aux CSN de demeurer au site de la lésion. Le centre de la lésion serait alors occupé par des CSN ayant la capacité de se différencier en cellules gliales créant un microenvironnement favorable à la survie neuronale et à la régénération axonale. Dans l'ensemble, nos travaux contribuent à mieux comprendre les mécanismes d'action des molécules de signalisation endogène qui affectent la mobilité des CSN adultes dans le SNC sain ou lésé. ♦

Netrin-1 and stem cells, attraction or repulsion?

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Schwab JM, Bregtel K, Mueller CA, et al. Experimental strategies to promote spinal cord regeneration—an integrative perspective. *Prog Neurobiol* 2006 ; 78 : 91-116.
- Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci* 2004 ; 5 : 146-56.
- Eftekharpour E, Karimi-Abdolrezaee S, Fehlings MG. Current status of experimental cell replacement approaches to spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 2008 ; 24 : E19.
- Weiss S, Dunne C, Hewson J, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J Neurosci* 1996 ; 16 : 7599-609.
- Dromard C, Guillon H, Rigau V, et al. Adult human spinal cord harbors neural precursor cells that generate neurons and glial cells *in vitro*. *J Neurosci Res* 2008 ; 86 : 1916-26.
- Ke Y, Chi L, Xu R, et al. Early response of endogenous adult neural progenitor cells to acute spinal cord injury in mice. *Stem Cells* 2006 ; 24 : 1011-9.
- Hagg T. Molecular regulation of adult CNS neurogenesis: an integrated view. *Trends Neurosci* 2005 ; 28 : 589-95.
- Tessier-Lavigne M, Goodman CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996 ; 274 : 1123-33.
- Chedotal A, Renaud J. Nucleus translocation in migrating neurons: key control by Sema6A and plexin A2. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 797-8.
- Petit A, Sellers DL, Liebl DJ, et al. Adult spinal cord progenitor cells are repelled by netrin-1 in the embryonic and injured adult spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 17837-42.
- Mehlen P, Rama N. Netrin-1 and axonal guidance: signaling and asymmetrical translation. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 311-5.
- Wehrle R, Camand E, Chedotal A, et al. Expression of netrin-1, slit-1 and slit-3 but not of slit-2 after cerebellar and spinal cord lesions. *Eur J Neurosci* 2005 ; 22 : 2134-44.

NOUVELLE

Les antibiotiques induisent la capture de gènes de résistance par les bactéries

Émilie Guérin, Guillaume Cambray, Sandra Da Re, Didier Mazel, Marie-Cécile Ploy

E. Guérin, S. Da Re : Université de Limoges, EA3175 ; Inserm, équipe Avenir Inserm, faculté de médecine, Limoges, France.
G. Cambray, D. Mazel : Institut Pasteur, unité Plasticité du génome bactérien, Paris, 28, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.
M.C. Ploy : Université de Limoges, EA3175, Équipe Avenir Inserm, Limoges, France.
marie-cecile.ploy@unilim.fr

► Les bactéries multirésistantes (BMR) aux antibiotiques ont été découvertes dans les années 1950 avec la mise en évidence des plasmides, vecteurs génétiques hébergeant plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques et pouvant diffuser entre bactéries. Pendant de nombreuses années, la découverte régulière de nouvelles molécules anti-

biotiques a permis de contrôler ce phénomène. Nous connaissons aujourd'hui une période plus critique avec l'augmentation de la résistance des bactéries à de nombreux antibiotiques, avec parfois de véritables « monstres » résistants à toutes les molécules disponibles, conduisant les cliniciens dans de véritables impasses thérapeutiques [1]. Ce

phénomène de multirésistance est donc désormais un véritable enjeu de santé publique. Pour lutter contre ce fléau, les mesures d'hygiène et des règles de bon usage d'utilisation des antibiotiques sont nécessaires pour limiter la sélection de ces BMR et leur dissémination. Cependant, compte tenu du faible nombre de molécules antibiotiques innovantes pour