

■■■ **Des souris humanisées pour les pharmacologues.** Les cytochromes P450 3A sont des enzymes responsables du métabolisme des xénobiotiques. Leur expression peut être augmentée *via* un mécanisme transcriptionnel lié à l'activation d'un récepteur nucléaire, le PXR (*pregnane X receptor*), capable de reconnaître des séquences spécifiques sur le promoteur de ce gène. Une des particularités de ce récepteur est la grande diversité de ses ligands (pesticides, médicaments, dérivés stéroïdiens, stéroïdes à hautes concentrations, molécules extraites de plantes...). Toutefois, il peut exister une grande différence dans la sensibilité des différentes espèces pour un ligand donné : ainsi, la rifampicine (médicament anti-tuberculeux) est un activateur classique du PXR humain (appelé aussi SXR pour *steroid and xenobiotic receptor*) mais pas du récepteur de la souris (mPXR) ou du rat. Au contraire, un ligand classique du mPXR, la pregnenolone-16 α -carbonitrile, ne semble pas avoir d'effet majeur sur le hPXR. Il s'avère en effet que l'homologie entre récepteurs de différentes espèces est faible ce qui pourrait expliquer cette différence. L'équipe de Ron Evans, qui avait isolé le récepteur humain en 1998 [1], vient de réaliser l'invalidation du gène mPXR chez la souris. Les souris ont un phénotype normal hormis l'absence d'expression du récepteur dans le foie et d'induction du cytochrome P450 3A par la prégnénolone-16 α -carbonitrile [2]. Compte tenu des spécificités d'induction des cytochromes P450 3A entre l'homme (rifampicine) et la souris (prégnénolone-16 α -carbonitrile), les auteurs ont cherché à « humaniser » les souris *mPXR*^{-/-} en introduisant un transgène humain *hPXR*. Ils espéraient ainsi provoquer un profil d'induction de type humain chez la souris. Comme prévu, l'expression du cytochrome P450 3A n'est plus induite par la prégnénolone-16 α -carbonitrile, mais par la rifampicine. Ce phénomène ne s'observe pas chez les souris *mPXR*^{-/-} non transgéniques et dépend donc

de la présence du récepteur humain [2]. Nul doute que ce modèle de souris, plus « proche » de l'homme, soit largement utilisé par les pharmacologues afin de détecter les molécules activatrices du récepteur humain, molécules susceptibles de provoquer des interactions médicamenteuses du fait de l'induction des cytochromes P450 3A.

[1. Blumberg B, *et al. Genes Dev* 1998 ; 12 : 3195-205.]

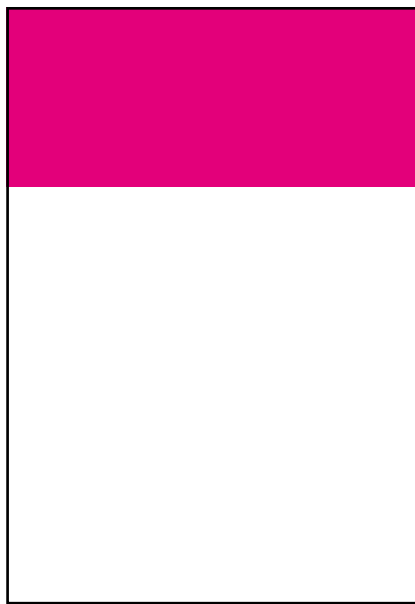
[2. Xie W, *et al. Nature* 2000 ; 406 : 435-9.]

■■■ **Comment vasculariser un organe artificiel ?** Dans la fièvre actuelle qui nous saisit à la pensée de pouvoir fabriquer demain toutes sortes d'organes artificiels à partir de cellules souches, certains, comme l'équipe de JS Pober, anticipent et pensent déjà à vasculariser ces structures [1]. Or un vaisseau est un tube creux bordé de cellules endothéliales, et ce processus de vasculogenèse est très difficile à mimer expérimentalement *in vitro* ou même *in vivo*. Un premier obstacle est la sensibilité des cellules endothéliales à l'apoptose, un second notre méconnaissance des mécanismes transformant un tapis de cellules endothéliales plates et adhérentes en un réseau d'artérioles et de veines capables de supporter les contraintes rhéologiques du flux sanguin. En se fondant sur des observations déjà anciennes obtenues *in vitro*, qui démontraient que la formation de tubes par les cellules endothéliales est en partie sous le contrôle de la matrice extracellulaire, JS Pober a mis en culture des cellules endothéliales, isolées à partir de la veine ombilicale, dans un gel associant collagène et fibronectine, deux constituants de la membrane basale. Certes des ébauches de tubes se forment, mais se désintègrent rapidement *in vitro*; l'inclusion de ces gels *in vivo* sous la peau de souris immunodéficientes permet cependant d'observer la mise en place d'un réseau vasculaire qui se connecte à la vascularisation murine en un mois. L'utilisation de cellules

qui résistent à l'apoptose par la surexpression d'un mutant de *bcl-2* résistant à l'inactivation par les caspases facilite les expériences. On observe alors la formation de vaisseaux collatéraux, et surtout le recrutement de cellules mésenchymateuses murines (provenant donc de l'hôte), qui s'organisent en un manchon périvasculaire de cellules proches des péricytes dont on connaît le rôle crucial dans la stabilité et l'intégrité des vaisseaux matures adultes (*m/s* 2000, n°2, p.281). Nous n'en sommes pas encore à l'application clinique, il faut d'abord trouver les conditions cliniquement acceptables pour la survie des cellules endothéliales, et confirmer que l'injection *in vivo* des seules cellules endothéliales permet bien le recrutement de péricytes et la maturation du vaisseau (l'identification des facteurs qui y contribuent serait un progrès important !). Mais déjà I. Yannas remarque dans le commentaire publié avec l'article [2] que cette approche pourrait être très utile dans certaines pathologies cutanées chroniques, comme les ulcères, provoquées par un défaut de vascularisation.

[1. Schechner JS, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 9191-6.]

[2. Yannas IV, *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 9354-6.]



■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Cultiver des neurones : une recette de cuisine infantine !** Martin Raff a identifié dans les années 1986 des précurseurs qui, spontanément et après un nombre précis de divisions (horloge mitotique), se différencient soit en oligodendrocytes (O) post-mitotiques, soit en astrocytes (A) de type 2 (d'où leur nom de O2A). *In vitro*, le choix est dicté par la composition du milieu de culture, l'addition de sérum de veau fœtal et de BMP (*bone morphogenic protein*) engageant les précurseurs dans la voie astrocytaire. Dans un article de *Nature*, M. Raff montre qu'il suffit de manipuler, à un moment précis, la composition du milieu en sérum de veau fœtal et en cytokines PDGF (*platelet-derived growth factor*) et bFGF (*basic fibroblast growth factor*) pour que ces précurseurs O2A acquièrent de nouveau une multipotentialité, et donc la capacité de se différencier en neurones [1]. La recette classique pour engager la différenciation de précurseurs O2A (issus du nerf optique de

rat) dans l'une des deux lignées, O ou A, consiste d'abord à les amplifier 5 jours en présence de PDGF ; si à J5, on remplace le PDGF par du bFGF, on obtient des oligodendrocytes post-mitotiques. Si à J5 on introduit 15 % de sérum de veau fœtal (ou la BMP), on obtient des astrocytes de type-2 en 3 jours. Si dans ces dernières conditions, on retire à J5+3 le sérum de veau (ou la BMP), et qu'on ajoute du bFGF, les cellules prolifèrent à nouveau et on obtient 6 jours plus tard... des neurones et des neurosphères caractéristiques de cellules souches multipotentes. Les marqueurs des neurones (MAP2, *microtubule associated protein*, et neurofilaments) sont exprimés alors que ceux des oligodendrocytes et des astrocytes disparaissent. Si les cellules sont exposées non plus 6 jours mais 2 mois au bFGF, leur « dé-différenciation » se poursuit, comme en témoignent (1) la perte de l'expression de neurofilaments par ces cellules, et (2) leur capacité à se différencier en oligodendro-

cytes et en astrocytes de type 1 en présence des cytokines et hormones adéquates. Ainsi, l'addition de PDGF restaure en 2 jours l'expression des neurofilaments et induit *GAD65* (*glutamic acid decarboxylase*) responsable de la synthèse de GABA. Les résultats sont d'autant plus convaincants que la multipotentialité de ces cellules « dédifférenciées » a été prouvée à l'échelon clonal. On ne peut qu'être fasciné par ce pouvoir qu'a une seule cytokine de modifier le destin d'une cellule multipotente, et aussi un peu inquiet que cela soit si facile... puisque récemment, un groupe prétendait induire l'expression de marqueurs neuronaux par la seule adjonction de mercaptoéthanol à des cellules stromales... médullaires ! [2]. Pour l'instant, on ne trouve quand même au menu que du neurone... en boîte !

[1. Kondo T, *et al. Nature* 2000 ; 289 : 1754-56.]

[2. Woodbury D, *et al. J Neurosci Res* 2000 ; 61 : 364-70.]

CONFÉRENCES DE PHILOSOPHIE ET HISTOIRE DE LA MÉDECINE

Année universitaire 2000-2001

Les Mardis de 17 h 30 à 19 h (Accès libre)

15, rue de l'École-de-Médecine - 75006 Paris, Pavillon 4 (Professeur R. Zittoun - ☎ 01 42 34 69 48 / 01 42 34 69 65)

DATES	PHILOSOPHIE : AUTONOMIE ET SANTÉ 17 h 30-19 h 00	DATES	HISTOIRE DE LA MÉDECINE 17 h 30-19 h 00
14 novembre	Représentation de la santé et demande d'euthanasie volontaire Anita Hocquard	21 novembre	Hodgkin : un nom, une maladie, un homme Bernard Hoerni
28 novembre	Identité et autonomie Daniel François-Wachter	5 décembre	Roentgen et la découverte des rayons X Guy Pallardy
12 décembre	Enfant, sujet du dialogue Stanislas Tomkiewicz	19 décembre	Le baron Larrey : chirurgien Jean-Noël Fabiani
9 janvier	Gérontométrie : un danger pour l'autonomie des personnes âgées Bernard Cassou	16 janvier	Histoire et philosophie de l'expérimentation animale Georges Chapouthier
23 janvier	Du symptôme à la nomination de soi-même Pierre Férida	30 janvier	De l'alcoolisme vice à l'alcoolisme maladie Alain Segal
6 février	Médecin, malade, maladie : quelle autonomie ? Bernard-Marie Dupont	27 février	La découverte des alcoïdes et leurs premiers développements thérapeutiques François Chast
6 mars	« C'est vous qui voyez, docteur ». Une étude empirique sur la place du patient dans la décision en cardiologie Dominique Broclain	27 mars	Ramon y Cajal, fondateur de l'histologie du système nerveux Olivier Robain
3 avril	Les droits du patient ou la création d'un espace contradictoire Dominique Thouvenin	24 avril	Histoire du patient Armelle Debru
22 mai	Autonomie des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales Anne Langlois	15 mai	Morgagni : l'anatomie pathologique confrontée à la clinique Jacques Diebold
5 juin	Débat final sur autonomie et santé Animateur : Alain Berkovitz	29 mai	La médecine dans l'Encyclopédie Daniel Teysire
		12 juin	Le concept de nihilisme thérapeutique à travers l'œuvre d'Arthur Schnitzler Gérard Danou