



## **Transversale Santé** de Paris Technopole

*Synthèse de la Transversales Santé du 16 mai 2006*

### ***Décrypter les pathologies : Les nouvelles voies interdisciplinaires***

**Intervenants** : Alain Teggui, Catherine Oppenheim, Christian Boitard, Daniel louvard

**Grand Témoin** : Cécile Julier

*Pour comprendre les « mécanismes » à l'origine des pathologies multifactorielles et inventer de nouvelles thérapeutiques, les scientifiques et les médecins doivent unir leurs forces et collaborer par-delà les frontières disciplinaires en croisant les informations obtenues au stade préclinique et en clinique. Cela passe aussi bien par des recherches fondamentales sur des cellules et chez l'animal, à l'exemple de l'association entre biologie du développement et cancérologie, ou entre immunologie et biologie vasculaire, que par des développements technologiques demandant d'appréciables compétences en physique et en ingénierie, à l'instar de l'utilisation de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) pour la visualisation de la composition des plaques d'athérome.*

Illustrations avec quatre exposés transdisciplinaires, sous le regard de Cécile Julier, responsable de l'Unité mixte Institut Pasteur-Inserm « Génétique des Maladies Infectieuses et Autoimmunes » (Institut Pasteur, Unité Inserm 730).

## → De l'embryon au cancer

L'association des recherches en biologie de l'embryon et en cancérologie va devenir une réalité début 2008 à Paris avec l'ouverture d'un pôle de biologie du développement sur le site de l'Institut Curie. Ce pôle rassemblera 120 chercheurs et techniciens, dont 40 permanents, sur environ 2 500 m<sup>2</sup>. Objectif : déterminer les molécules communes aux processus de développement et aux mécanismes de cancérisation, afin de découvrir de nouvelles cibles anticancéreuses (voir l'article dans le dossier cancérologie).

**Daniel Louvard**, membre de l'Académie des sciences, directeur du Centre de Recherche de l'Institut Curie dont il dirige l'équipe « Morphogenèse et signalisation cellulaires » au sein du laboratoire « Compartimentation et dynamique cellulaire » (UMR 144 CNRS), coordonne ce projet.

La complexité des êtres vivants est liée à la façon dont les gènes sont « lus », rappelle-t-il. Or le cancer constitue une situation de « miroir inversé » par rapport au développement d'un embryon. Celui-ci illustre l'harmonie de l'expression des gènes dans le temps et dans l'espace, qui permet un contrôle du nombre de cellules nécessaires et des formes en développement. A l'inverse, un tissu cancéreux se caractérise par une prolifération accélérée des cellules, la perte de contrôle de leur position et de leur nombre. Par exemple, dans le cancer du côlon, l'altération du gène APC (un « suppresseur » de tumeurs), puis l'intervention séquentielle d'autres événements aboutissent à une cellule au comportement anormal, ayant perdu ses relations spatiales, et capable de former des métastases.

Au cours des vingt dernières années, on a identifié chez diverses espèces (mouche drosophile, le ver *Caenorhabditis elegans*, mammifères) des gènes « architectes » et des gènes de la communication intra et intercellulaire qui sont à l'origine de cancers divers lorsqu'ils sont altérés, alors qu'ils jouent dans leur version normale un rôle essentiel dans la construction de l'embryon.

Par ailleurs, il n'existe pas de développement sans cellules souches : ce sont des cellules pluripotentes, capables de s'auto-renouveler, rares, au rythme de division faible, et qui vivent très longtemps. Elles donnent naissance à des cellules « progénitrices » qui se différencient en cellules spécialisées. Or on a des raisons de penser que des cellules souches adultes, sous l'action d'événements externes et ou de mutations spontanées, deviennent tumorales.

Conséquence thérapeutique : si l'on disposait de médicaments capables d'éliminer les seules cellules souches d'une masse tumorale sans affecter les autres cellules, on pourrait faire disparaître définitivement la tumeur. Alors que si la drogue n'a d'action que sur les cellules différenciées ou progénitrices, on diminue seulement la taille de la tumeur sans empêcher sa réapparition quelques mois ou années plus tard à partir des cellules souches. Il devient donc nécessaire d'identifier des marqueurs spécifiques de cellules souches tumorales en espérant en tirer de nouvelles approches thérapeutiques.

## → L'athérosclérose revisitée par l'immunologie et l'imagerie

La formation de plaques d'athérome dans les vaisseaux, ou athérosclérose, est la première cause d'accidents cardiovasculaires tels que l'infarctus du myocarde, eux-mêmes première cause de mortalité dans les pays industrialisés. Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) sont dus également en grande partie à ces plaques vasculaires, causes de l'obstruction d'artères alimentant le cerveau. Or les développements scientifiques transdisciplinaires permettent d'envisager de mieux prévenir ces accidents grâce à l'alliance de la biologie vasculaire et de l'immunologie, ou de la neurologie et de l'imagerie.

**Alain Tedgui**, chercheur de l'unité Inserm 689 (« Biologie et physiologie moléculaire du vaisseau », Centre de recherche cardiovasculaire Lariboisière / Université Paris 7, directeur : Bernard Lévy), travaille sur le rôle de l'inflammation dans l'athérosclérose, en collaboration notamment avec Ziad Mallat (unité 689), Hervé Groux (Inserm U.576, Hôpital de l'Archet, Nice), David Klatzmann et Benoit Salomon (Unité mixte de Recherche 7087, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière), et Göran Hansson (Karolinska Institute, Stockholm).

Il explique que la pathologiste berlinois Rudolf Virchow avait, dès la fin des années 1850, identifié l'athérosclérose comme un phénomène inflammatoire chronique. Malheureusement, ce n'est qu'à la fin des années 1980 que cette thèse a été redécouverte.

En effet, on a alors montré que le noyau nécrotique et lipidique des plaques d'athérome est riche en macrophages alors que la partie fibreuse (chape) comprend surtout des cellules musculaires lisses. De plus la découverte dans la plaque de lymphocytes T signalait l'existence d'une réaction immunitaire spécifique.

Des expériences menées dans les années 1990 sur des souris génétiquement rendues déficientes en apolipoprotéine E ont permis une « dissection » moléculaire du phénomène à l'origine de la plaque d'athérome. Ces souris développent en effet une athérosclérose en accéléré. Il est apparu que certains lymphocytes T, en réponse à une activation par un antigène présent dans la plaque, produisent des cytokines très inflammatoires, l'Interféron gamma et l'interleukine 4.

Or une sous-population de lymphocytes T régulateurs (qui portent le marqueur CD25) est capable d'inactiver ces cellules T pathogènes en sécrétant de l'interleukine 10 et du TGF bêta. L'équipe d'Alain Tedgui a montré en 2001 que ces deux cytokines sont puissamment anti-athérogènes. Si ces cellules pouvaient être « éduquées » pour répondre à des antigènes présents uniquement dans la plaque d'athérome, et si l'on pouvait les stimuler in vivo, on disposerait d'un procédé de vaccination spécifique contre la formation de plaques d'athérome instables, estiment les chercheurs parisiens. C'est l'objectif d'un projet de recherche qu'ils coordonnent et qui pourrait déboucher sur la création d'une entreprise de biotechnologies. Les chercheurs réfléchissent déjà au mode d'administration du vaccin, qui pourrait prendre la forme de nanotechnologies capables de transporter des peptides.

Approche complémentaire, la visualisation des plaques d'athérome en imagerie par résonance magnétique (IRM) a été présentée par Catherine Oppenheim, neuroradiologue à l'hôpital Sainte-Anne, à Paris. L'IRM, explique-t-elle, pourrait permettre à terme de caractériser le processus d'athérosclérose pour disposer de facteurs pronostiques et traiter les patients de façon plus rationnelle.

Pendant longtemps, on a mesuré le degré de rétrécissement (sténose) de la lumière de l'artère carotide grâce à différentes techniques : artériographie, puis angioscanner, échographie ou angio-IRM. A la suite d'un premier accident vasculaire cérébral, cette mesure permettait de savoir si le patient devait être opéré de la carotide (endartériectomie carotidienne) afin de supprimer la plaque d'athérome à l'origine de l'AVC et éviter ainsi une récurrence.

Cette opération présentant un risque, les essais thérapeutiques de chirurgie de carotide avaient montré qu'il y avait un rapport bénéfice-risque positif à opérer après un premier AVC quand il existait une sténose supérieure à 70 %. Or la décision d'opérer était difficile à prendre en cas de rétrécissement plus modéré, cause de plus d'un tiers des AVC. Il fallait donc, pour espérer prédire le risque individuel de récurrence, s'intéresser à la structure de la plaque d'athérome. C'est là que l'IRM est entrée en jeu.

Les plaques stables à faible risque vasculaire possèdent une chape fibreuse épaisse ; les plaques instables à fort risque emboligène ont une chape fibreuse fine, un cœur lipidique important et une forte composante inflammatoire (macrophages). Or l'IRM peut caractériser les composants de la plaque ou les risque de rupture de la chape en associant plusieurs types d'images.

Afin de vérifier si ces paramètres sont prédictifs d'un risque individuel de récurrence d'AVC et de valider le concept de « plaque instable » - en liaison avec les paramètres cliniques et biologiques -, Catherine Oppenheim coordonne une étude prospective qui intégrera 350 patients : HIRISC (High Resolution magnetic resonance Imaging in patients with Stenosis of Carotid artery, IRM haute résolution des sténoses athérosclérotiques de l'artère carotide). Financée par un Programme hospitalier de recherche clinique (PHRC), HIRISC réunit sept centres français et des équipes pluridisciplinaires de neurologues et d'imageurs (Sainte-Anne et Hôpital européen Georges Pompidou, Pitié-Salpêtrière, CHRU Lille, hôpitaux de Poitiers, de Rouen, de Nancy, Université technologique de Compiègne).

En clinique, l'imagerie de la plaque peut aussi servir à sélectionner des groupes de patients à risque et à mesurer l'efficacité thérapeutique de candidats médicaments. Au niveau moléculaire, grâce à des agents de contraste tels que des nanoparticules de fer qui se fixent sur les macrophages, elle pourrait également mettre en évidence des processus cellulaires spécifiques des plaques vulnérables. C'est l'un des enjeux du projet ATHIM (Imagerie moléculaire de l'athéromatose) mené dans le cadre du pôle de compétitivité MediTech Santé (partenaires : Guerbet, Mauna Kea Technologies, Inserm U.652, U.689, U.698, U. 660).

## ➔ Résoudre la complexité : le cas du diabète

Les diabètes sont des maladies d'une redoutable complexité dont les mécanismes fondamentaux sont loin d'être compris. **Christian Boitard**, médecin et immunologiste, directeur de l'unité Inserm 561 « Immunologie, génétique et traitement des maladies métaboliques et du diabète » à l'hôpital Cochin-Saint-Vincent de Paul (Paris), rappelle que toute une série de facteurs, comme le cholestérol mais aussi le glucose, abîment la paroi vasculaire. Ils contribuent à ce que le système immunitaire la reconnaisse comme anormale et enclenche un processus inflammatoire.

L'hyperglycémie chronique exerce sa toxicité à plusieurs niveaux : le vaisseau mais aussi sur divers tissus dont le pancréas et ses îlots de Langerhans producteurs d'insuline. D'où un cercle vicieux : plus la glycémie s'élève, moins le pancréas produit d'insuline et plus la glycémie augmente.

Dans le diabète de type 2, le tissu adipeux sécrète en outre une série de médiateurs inflammatoires qui gagnent directement le foie et ont une incidence considérable sur la capacité de l'insuline à agir sur le foie. C'est une maladie de l'inadéquation entre les dépenses énergétiques et la consommation d'énergie. Elle est souvent mal détectée.

Le diabète de type 1, beaucoup moins fréquent, est caractérisé par un comportement anormal des lymphocytes qui produisent des auto-anticorps détectables (tests diagnostiques) dirigés contre les cellules productrices d'insuline des îlots de Langerhans, les cellules bêta. Son incidence augmente de 3 à 4 % par an (travaux de Claire Lévy-Marchal, directrice de l'U690 « Diabète de l'enfant et développement », Paris, hôpital Robert Debré).

Comment procéder pour affronter cette complexité et avancer vers de nouvelles voies thérapeutiques ? Christian Boitard indique que la recherche dispose d'excellents modèles animaux grâce auxquels les chercheurs ont avancé dans la compréhension des mécanismes en jeu dans les diabètes. En revanche, le remplacement du traitement palliatif par injections répétées d'insuline par un traitement curatif consistant à bloquer les lymphocytes qui détruisent les cellules bêta (forme de vaccination) est encore hors d'atteinte. La première grande étude thérapeutique, en 2002, qui visait à induire une tolérance à l'insuline chez les sujets n'a rien donné, alors même que l'on prévient bien le diabète chez la souris par ce biais.

Les modèles animaux permettront cependant de définir les cibles moléculaires contre lesquelles diriger cette immunothérapie préventive. Mais il faut pour cela aller et venir en permanence des questions posées chez l'homme à leur analyse chez l'animal puis à la validation des résultats ainsi récoltés chez l'homme. C'est ainsi grâce aux modèles animaux que l'on sait que les lymphocytes T sont en cause dans le diabète de type 1. On ne pouvait le démontrer directement chez l'homme car il aurait fallu pour cela injecter les lymphocytes T d'un patient à un individu immuno-déficient pour vérifier que l'on induisait la maladie, chose évidemment impossible à réaliser.

C'est cet aller-retour permanent entre clinique et modèles animaux qui comblera progressivement le fossé séparant réussites thérapeutiques chez l'animal et immunothérapie du diabète humain, souligne Christian Boitard.

**Alain Tedgui** rebondit en notant que cet aller-retour est fondamental également dans le cas de l'athérosclérose. On teste des hypothèses chez la souris et on tente de les vérifier à l'aide de protocoles chez l'homme. Ainsi, l'équipe de Lariboisière a montré que le blocage chez l'animal de l'activité d'une cytokine inflammatoire, l'interleukine 18, a un effet bénéfique contre l'athérosclérose. En collaboration avec des cardiologues, elle a alors essayé de voir si le taux sanguin de cette cytokine était plus élevée chez des patients ayant fait un infarctus du myocarde en comparaison de sujets normaux. Effectivement, c'est le cas, et cela a été confirmé par des chercheurs allemands à plus grande échelle.

Pour **Catherine Oppenheim**, l'identification de ces cibles cellulaires et moléculaires inflammatoires particulièrement abondantes dans les plaques vulnérables va bénéficier à l'imagerie moléculaire et cellulaire, développée grâce à de nouveaux agents de contraste. Ces marqueurs vont apporter de la spécificité et faire gagner du temps alors que l'approche en imagerie de l'athérosclérose reste assez schématique et lourde en pratique.

L'imagerie est un point clé pour l'abord de ces maladies, observe Christian Boitard. Pour le diabète de type 1, on ne dispose aujourd'hui d'aucune technique d'imagerie pour quantifier la masse de cellules insulino-sécrétrices ; donc d'aucun outil clinique pour affirmer qu'un individu a détruit le quart ou 50 % de ces cellules. Si l'on sait, par des tests diagnostiques qui détectent les auto-anticorps, qu'un individu aura un jour un diabète de type 1, on est incapable de dire quand. Les diabétologues sont donc à l'affût de techniques d'imagerie fonctionnelle de la cellule bêta qui permettront des quantifications fiables et des prédictions précises.

**Daniel Louvard** rejoint ce point de vue. Les approches simplistes consistant par exemple à utiliser des transplantations de tumeurs sur des souris immuno-déprimées pour mesurer le volume de la tumeur et l'efficacité d'un traitement sont révolues ou devraient l'être, affirme-t-il. On a besoin en effet d'identifier les cellules, leur état, leurs composants et leur activité. Toutes les techniques contribuant à mieux saisir des situations biologiques complexes sont utiles. Dans l'idéal, grâce à un travail interdisciplinaire rassemblant biologistes, médecins, physiciens, chimistes, ingénieurs, informaticiens, etc., et en allant au-delà du monde académique, il faudrait franchir différents obstacles technologiques et intellectuels pour créer un continuum d'observation in vivo allant du niveau macroscopique au niveau nanoscopique, avec les diverses techniques d'imagerie, puis l'analyse cellulaire (microscopie optique in vivo, microscopie multiphotonique...), et enfin la génomique et la protéomique. Seule cette approche globale permettrait une analyse multi-paramétrique des pathologies complexes. Il y a un vrai travail culturel à faire pour que cette mutation technologique prenne racine en France.

Pour **Cécile Julier**, le grand public a eu une vision assez pessimiste des retombées de la génétique et de la génomique car les scientifiques peinent encore à trouver des gènes en jeu dans les maladies complexes. Cependant, avec le séquençage du génome et les avancées technologiques permettant de travailler à très grande échelle sur de larges portions du génome, on commence à trouver des gènes. Le diabète est un cas à part car on connaît plus de 50 % de la composante génétique, avec les gènes HLA, depuis les années 1970. S'il est vrai que cette connaissance n'a pas eu de retombée thérapeutique significative, on peut penser que la génomique va trouver d'autres gènes impliqués dont certains auront des applications thérapeutiques énormes.