



INSTITUT
DIDEROT

Les Carnets des Dialogues du Matin

ALAIN PROCHIANTZ

L'avenir de la régénération cérébrale

Les Carnets des Dialogues du Matin

ALAIN PROCHIANTZ

L'avenir de la régénération cérébrale

Sommaire

Avant-propos p. 5

Dominique Lecourt

L'avenir de la
régénération cérébrale p. 7

Alain Prochiantz

Avant-propos

« Renouveau » est le mot qui revient le plus souvent sous la plume d'Alain Prochiantz. Le cerveau n'est pas (seulement) une machine. Le temps n'est plus où l'on cherchait dans la physique et la chimie les éléments d'une théorie du vivant. Il fallait en passer par là, et les résultats de la biologie moléculaire sont somptueux. Mais les caractères propres du vivant appellent un nouveau type de pensée centrée sur le développement. La vie, la mort, la création : Claude Bernard (1813-1878) avait ouvert la voie. Et lorsqu'il s'agit, comme ici, du cerveau, chacun comprend qu'il en va de la représentation de soi-même et de son devenir. Le cas se révèle d'autant plus passionnant que les applications médicales de ces recherches se profilent à un horizon plus ou moins rapproché. Les implications sociales et économiques de ces progrès de la connaissance apparaissent immenses.

Alain Prochiantz n'a jamais manqué d'accompagner ses travaux de recherche fondamentale d'une réflexion sur leurs bases conceptuelles. Il a ainsi ajusté un style de pensée qui lui est propre. Ce style lui permet d'exposer des résultats fondamentaux en termes accessibles aux non-spécialistes sans céder aux facilités métaphoriques de la vulgarisation ordinaire. Il demande de son lecteur une attention tendue. L'histoire de la formation des concepts et des théories n'est pas considérée pour elle-même. Elle éclaire les présupposés et les incidences philosophiques de la pensée scientifique la plus actuelle. Elle permet d'aborder sans *a priori* moraux ou politiques les difficultés, les enjeux, les espoirs et les craintes que rencontrent et suscitent les applications de la science.

Dominique Lecourt

Directeur général de l'Institut Diderot

L'avenir de la régénération cérébrale

La conférence d'aujourd'hui est placée sous la tutelle de Claude Bernard. Cela peut paraître étrange dans la mesure où l'on n'associe pas communément ce physiologiste à l'idée de régénération, encore moins d'évolution ou même de développement.

C'est que l'idée de régénération est encore associée à celle de réparation et ne s'inscrit pas, ou pas suffisamment, dans une conception des organismes vivants comme des entités en renouvellement permanent, au niveau moléculaire, cellulaire et physiologique. Il est vrai cependant que les choses ont récemment bougé et que, même pour le système nerveux, longtemps fantasmé comme une machine à l'intersection des réseaux de gènes et des réseaux de neurones, on accepte aujourd'hui l'idée d'un renouvellement cellulaire. Mais nous sommes encore loin du compte.

On me pardonnera donc, je l'espère d'entrer dans le sujet par le biais de l'aphorisme bernardien « la vie c'est la mort, la vie c'est la création ». Cet aphorisme, on le sait s'oppose à celui de Bichat (1771-1802), beaucoup plus connu « La vie est l'ensemble des forces qui s'opposent à la mort ».

Dans ces deux citations s'opposent la vision ancienne, celle de Bichat, et la vision contemporaine, révolutionnaire à vrai dire, portée par Claude Bernard. Ce qui est amusant, c'est que Bichat l'a emporté et sa conception thermodynamicienne a pesé de tout son poids sur le

développement des sciences physiologiques, jusqu'à très récemment.

En effet c'est la physique, en particulier le deuxième principe de la thermodynamique qui se cache derrière la conception de Bichat. Les organismes sont des machines qui résistent à l'augmentation de l'entropie jusqu'au moment où le désordre l'emporte et où ça se détraque. Cette conception n'est pas éloignée de celle de Lavoisier (1743-1794) pour qui la nutrition se résume à un bilan énergétique, peser ce qui entre dans le corps, comparer avec ce qui en sort et la différence est ce qui nous a nourri. Nous n'en sommes plus là au deuxième principe, mais au premier, « rien ne se perd, rien ne se crée ».

A travers la découverte du milieu intérieur, associée à la question de la nutrition « le glucose, la fonction glycogénique du foie », Bernard propose une vision complètement différente. Pour lui, le vivant se détruit à chaque instant et se reconstruit à chaque instant dans un équilibre qui est celui de la physiologie. Au cours du développement, la construction l'emporte mais chez l'adulte nous avons un état d'équilibre entre la mort et la création. Le corps est alors le siège d'un renouvellement permanent et les états pathologiques sont vus comme les conséquences d'une perturbation de cet équilibre. Sur le plan de la nutrition, elle n'est pas simplement organique, mais organogénique, c'est-à-dire que les nutriments s'organisent de telle sorte que la forme des cellules, celle des organes aussi, est conservée, ce qui justifie tout à fait le terme bernardien d'embryogenèse silencieuse.

Ici n'est pas le lieu où développer une réflexion sur les rapports entre la physique post-newtonienne et la physiologie bernardienne, mais de comprendre pourquoi, malgré la révolution portée par Claude Bernard, nous vivons toujours, en tout cas partiellement, dans une conception physicaliste, ô combien naïve par certains aspects, du vivant. Il y a d'abord le présupposé idéologique : le vivant est matériel, donc relève des sciences physiques, et invoquer des propriétés qui lui seraient spéciales, des méthodes

aussi (Introduction à la méthode expérimentale) relèverait d'une conception spiritualiste du monde. L'argument est simple. Ce n'est pas parce que nous sommes faits de molécules ou d'atomes, que les sciences du vivant relèvent de la chimie ou de la physique. L'objet d'une science ne se limite pas à l'objet physique, ici le vivant, mais à cet objet et la théorie qui l'entoure, une théorie évolutive parce que les théories, à l'opposé des dogmes, sont évolutives.

Une science du vivant doit donc prendre en compte théoriquement des propriétés qui sont spéciales au vivant, comme la reproduction, le développement, ou l'évolution. Cela implique la mise en place d'un ensemble de concepts qui participent d'une théorie du vivant, distincte de la physique ou de la chimie, même s'il y a des recouvrements et des interfaces techniques et théoriques entre toutes ces disciplines et d'autres, en particulier les mathématiques.

Mais, au-delà de ce présupposé idéologique et du positionnement des biologistes vis-à-vis des physiciens et mathématiciens, l'héritage évidemment d'Auguste Comte et d'un positivisme infantile, il faut prendre en compte l'épopée de la biologie moléculaire. En effet, la génétique moléculaire, bactérienne à son origine, est une application en biologie de la théorie de l'information, donc du deuxième principe de la thermodynamique. Qu'on en réfère à Jacques Monod ou à François Jacob, et au delà, à Léon Brillouin (*Vie, Matière et Information*) il est clair que la question reste celle de l'ordre du vivant, de l'entropie et de la cybernétique. Si nous considérons une cellule comme un ensemble fermé, n'échangeant ni matière ni information (2^{ème} principe oblige) avec l'extérieur, le maintien d'un bas niveau d'entropie demande un haut niveau d'information ($I = \text{colog}(p)$).

On imagine alors un petit bonhomme de Maxwell qui, ici, ne trie pas les molécules en fonction de leur vitesse, mais maintient l'ordre au niveau génétique. Cette vision a permis des progrès spectaculaires en biologie, et nous sommes tous les héritiers de cette période fastueuse de

notre discipline. Il reste que l'arrière plan fixiste, physicaliste et mécaniciste, a imprégné notre façon de comprendre le vivant au point que nous l'avons comme « machinisé » et sommes restés trop longtemps aveugles, sinon hostiles à certaines de ses propriétés, à vrai dire inquiétantes, surtout quand il s'agit du cerveau, qui aujourd'hui reviennent en force, parmi lesquelles son extraordinaire plasticité morphologique.

La régénération qui se poursuit dans le silence de cet équilibre entre construction et destruction, morphogenèse silencieuse, ouvre sur une façon intéressante de penser la physiologie, de penser aussi les pathologies qui traduisent un déséquilibre dans ce double mouvement généralisé de mort et de création organique. C'est aussi une bonne façon de penser la médecine régénérative, comme façon non pas de s'opposer à la lente, ou rapide, dégradation d'un système mécanique, mais comme stratégie s'appuyant sur les capacités de réparation et de croissance des systèmes vivants.

Et pour illustrer ce fait, rappelons que nous sommes l'objet d'un renouvellement moléculaire et cellulaire constant. Je n'ai pas le temps ici de vous démontrer à quel point nous renouvelons nos structures subcellulaires, en particulier comment notre survie dépend de la capacité de réparer non seulement l'ADN mais aussi les membranes. Je voudrais juste me concentrer sur le renouvellement cellulaire. Ce renouvellement joue un rôle variable selon l'espèce et pour chaque espèce selon l'organe et pour chaque organe, selon les régions de cet organe. Mais quelle que soit l'étendue de ce renouvellement, il est réel et vous serez sans doute étonné si je vous apprends que nous perdons, et regagnons, chaque année notre propre poids en cellules.

Le renouvellement cellulaire physiologique n'est pas induit par une lésion, il ne s'agit pas d'une cicatrisation et de son fort composant inflammatoire mais du mode naturel de la vie et de la mort ; « la vie c'est la mort » des éléments d'un tissu. Il est assuré par des cellules souches

qui se divisent lentement (comme toutes les cellules souches) mais passent, le plus souvent, par un compartiment d'amplification avant d'aller remplacer les cellules mortes. Cela suggère bien entendu l'existence d'une régulation pour que la vie équilibre parfaitement la mort, sinon c'est la maladie (tumeur si trop de cellules « oublient » de mourir comme dans le cas des translocations chromosomiques conduisant à une surexpression de *bcl2* et de la leucémie associée à cette mutation). On doit donc se rendre à l'évidence : l'anatomie animale, humaine donc, est bien plus dynamique qu'on ne le pensait. Par exemple, l'épithélium intestinal est remplacé tous les cinq jours et l'épithélium pulmonaire tous les six mois. Ce renouvellement peut être étale, il peut aussi être associé à des périodes particulières : sevrage, cycle ovarien, gestation.

Si le renouvellement tissulaire est assuré par les cellules souches, celles-ci doivent survivre et se diviser pour se reproduire. Cette division peut conduire à la formation de deux cellules souches ou d'une cellule souche et d'une cellule commise à un destin différencié. Ce choix de division symétrique (deux souches) ou asymétrique (une souche, une commise) est une question très intéressante dans laquelle la polarité cellulaire joue un rôle essentiel. Enfin, il faut penser au problème du vieillissement des cellules souches elles-mêmes. Les vieilles souches sont-elles toujours jeunes ? Et si oui, pourquoi ? Car après tout, elles se divisent. C'est qu'elles sont dans un environnement, des niches, qui les maintiennent dans l'état « souche ». Cet état est lié à une conformation de la chromatine dans laquelle des groupes de facteurs impliqués dans la structure chromatinienne jouent un rôle important. Par ailleurs, il se pourrait que les cellules souches entretiennent un rapport particulier avec leurs télomères qui conservent leur longueur, en dépit de la prolifération cellulaire, ce qui confère aux cellules souches une immortalité relative. Sans insister, on entrevoit ici le lien entre la biologie des cellules souches et les questions liées à la transformation cellulaire et au

cancer, et on comprend immédiatement que le risque « cancer » est une des principales difficultés de la médecine régénérative qui s'appuie sur l'utilisation des cellules souches.

Je vais maintenant entrer dans le vif du sujet en posant quelques principes généraux autour de l'idée de régénération et en mettant immédiatement en exergue, à propos du cancer, l'importance, en pathologie, de la compréhension de la notion d'équilibre dynamique des organismes.

En 1935, Waddington discute le lien qui existe entre le développement cancéreux, incontrôlé, et le développement morphogénétique et propose l'existence de champs morphogénétiques chez l'embryon comme chez l'adulte. Je pense qu'on voit ici immédiatement un point essentiel pour cette question de la régénération. Dans cette « médecine régénérative » qui, le plus souvent, fait appel aux cellules souches capables de proliférer et de se différencier pour donner un grand nombre de cellules différenciées, il ne suffit pas de les implanter (après différenciation ou non), encore faut-il leur fournir les instructions pour qu'elles s'organisent selon un plan, éventuellement très local, qui permette leur intégration physiologique.

Accessoirement, mais c'est loin d'être accessoire, il faut éviter qu'elles ne donnent des tumeurs, point qui constitue une des difficultés majeures dans le développement de ces thérapies d'avenir. La différenciation dans un champ et la formation d'un mini-organe constituent une des stratégies pour diminuer la probabilité de générer des tumeurs malignes à partir de ces cellules souches. La voie indiquée par Waddington suggère que certains mécanismes de régénération pourraient être impliqués dans la régulation du développement des tumeurs, en tout cas elle nous incite à regarder de plus près le lien qui peut relier cancer et régénération, indépendamment de la question de cellules souches éventuellement implantées. Citons Waddington : « The individuation field, then, is the agent

which controls the growth of different parts in a harmonious way so that a normal individual is formed. In later life, the individuation field splits up into smaller separate fields, such as leg fields, head fields, etc. These are the agents from which cancerous growth has escaped »

Pour entrer dans le concret, je vais introduire deux modèles expérimentaux, celui des urodèles et celui des planaires, souvent utilisés dans l'étude du lien entre cancer et régénération. Ces deux groupes ont des propriétés extraordinaires s'agissant de régénération, mais utilisent des stratégies différentes. Il est en effet classiquement admis (malgré une remise en cause récente et partielle de cette idée) que chez les urodèles, le bourgeon à partir duquel la régénération a lieu est composé de cellules qui se différencient en cellules mésenchymateuses constituant un bourgeon à partir duquel est fabriqué l'organe nouveau. Chez les planaires, il existe par contre un nombre très important de cellules souches adultes ou néoblastes (30% du poids de l'animal) dont la fonction régénérative est simplement stimulée par la lésion. Les néoblastes peuvent fournir tous les types cellulaires et se divisent continûment en temps normal. Elles assurent ainsi le renouvellement régulier des cellules. En cas d'amputation, on observe une augmentation brutale de leur prolifération et la formation d'un blastème.

Pour prolonger la discussion, j'ajoute que l'opposition entre différenciation et formation de tumeurs est très bien illustrée chez une espèce de planaires, *Dendrocoelum lacteum*, qui a des capacités régénératives limitées à sa partie antérieure. Curieusement, l'introduction d'un carcinogène n'induit qu'une hyperplasie modeste et composée de tissus différenciés dans la région antérieure, capable de régénération et de vraies tumeurs dans la partie postérieure incapable de régénération.

Ce phénomène d'une résistance relative, non totale, à former des tumeurs dans les organes susceptibles de régénération, concerne aussi d'autres tissus, en premier lieu les épithéliums. On a la surprise d'observer souvent

des réversions d'un état cancéreux à un état non cancéreux. On peut invoquer l'argument de Waddington, de l'existence de champs morphogénétiques chez l'adulte, on ne peut cependant ignorer que même en présence de carcinogènes qui introduisent des lésions dans l'ADN, les cellules prolifèrent et reforment un tissu « normal ». Cela laisse penser que chez ces animaux, il existe un système très puissant de réparation de l'ADN.

Ce lien entre réparation de l'ADN et résistance à la transformation est intéressant pour le neurobiologiste. En effet, même si nous savons que certains neurones se renouvellent chez l'adulte à partir de cellules souches neurales adultes, il reste vrai que la plupart de nos neurones, même s'ils se modifient dans leur forme et leur physiologie, ne meurent qu'avec nous. Des cellules qui vivent cent ans sont forcément soumises à toutes sortes d'agression et, soit meurent, soit se réparent. De fait, plusieurs maladies du système nerveux sont associées à des déficits dans les mécanismes de réparation de l'ADN. Ceci signifie que les neurones possèdent probablement des systèmes très efficaces de réparation de l'ADN. Ce n'est pas le cas des cellules non neuronales qui se divisent plus facilement et sont, peut-être pour cette raison, la source principale des tumeurs cérébrales : gliomes et méningiomes. Si je dis « peut-être » c'est parce qu'une autre hypothèse existe qui est associée, justement, à l'existence de cellules souches neurales chez l'adulte. Il est ainsi souvent proposé que certaines tumeurs cérébrales trouveraient leur origine dans la dérégulation des contrôles de prolifération de ces cellules souches, ou de leur compartiment d'amplification et/ou dans leur incapacité à se différencier en types cellulaires matures. On l'oublie souvent, ce sont les études sur la régénération qui ont mis à mal la théorie de Weismann (1834-1914) du plasma germinal (1893) selon laquelle les cellules différenciées perdraient de l'information et seules les cellules souches resteraient totipotentes. Quand, en 1895, Wolff montre que les cellules de la l'épithélium pigmenté de la rétine, peuvent donner par trans-différenciation des

cellules de la lentille oculaire, il renverse la théorie du plasma germinal. Le fait que quelques cellules, voire une seule cellule différenciée, ou même le noyau d'une telle cellule, puissent redonner naissance à un organisme entier démontre que les cellules gardent la totalité de l'information génétique. Ces questions posées il y a plus de cent ans sont d'une certaine façon toujours d'actualité. Encore aujourd'hui, la meilleure façon de montrer qu'une cellule est totipotente, c'est de lui demander de participer à la fabrication d'autres tissus dans un embryon. Quand John Gurdon (Prix Lasker 2009), il y a plus de trente ans, transfère un noyau de cellule épithéliale de grenouille dans un oocyte énucléé et montre que cet oocyte peut donner naissance à une grenouille, il ne fait pas autre chose. Et ce n'est pas vrai seulement pour les batraciens, rappelons-nous Dolly. Quand l'équipe de Richard Axel veut démontrer que le fait pour un neurone de l'épithélium nasal de ne synthétiser qu'un seul récepteur aux « odeurs » ne résulte pas d'une recombinaison génétique et que les cellules restent totipotentes, il opère aussi un transfert nucléaire et fabrique une souris.

Ces expériences démontrent que les noyaux de la plupart des cellules animales, il y a des exceptions, contiennent toute l'information nécessaire à la reconstruction d'un organisme entier. La différenciation n'implique donc pas une perte d'information potentielle mais une restriction de l'accès à cette information. Cette restriction est permise par une modification de la structure de la chromatine. La nature de ces modifications ne peut être décrite ici, ce serait trop technique, mais on peut dire trois choses. Premièrement elles sont héréditaires au niveau cellulaire, par exemple un fibroblaste qui se divise donne deux fibroblastes. Deuxièmement, fabriquer une cellule souche totipotente (le cas Dolly) ou même à potentialité réduite, comme les cellules souches hématopoïétiques ou les cellules souches neurales, à partir d'une cellule différenciée demande qu'on efface ce marquage épigénétique. Enfin, repartir de ces cellules

pour reconstruire tout ou partie d'un organisme demande qu'on réemprunte un chemin épigénétique à l'aide de cocktails de facteurs dont il aura fallu identifier la nature, la combinatoire, et les relations hiérarchiques (ordre d'addition, concentrations respectives, etc.).

Ce qui nous amène à la question des cellules souches inductibles qui ne peut être passée sous silence quand on parle aujourd'hui de régénération. En effet, une des stratégies les plus en vogue, les plus prometteuses peut-être, repose sur la production de nouveaux neurones – à partir de maintenant nous nous concentrons sur le système nerveux – en remplacement de neurones morts ou déficients. Il s'agit de préparer des cellules à partir d'embryons humains, comme cela a été tenté avec un succès mitigé pour la maladie de Parkinson et l'implantation de neurones dopaminergiques, ceux qui dégénèrent dans cette maladie. L'autre est de partir de cellules souches totipotentes humaines et de les différencier en neurones, puis en neurones dopaminergiques, puis de les implanter. Cette implantation se fera dans le striatum, structure innervée par ces neurones, les cellules servant alors de pompes à dopamine. Elle pourrait aussi se faire dans le mésencéphale, là où les neurones sont présents normalement, ce qui implique une croissance des axones vers le striatum, ce n'est pas gagné. Ce n'est pas gagné non plus parce que rien ne dit que les nouveaux neurones ne tomberont pas malades à leur tour comme vient de le montrer l'examen post-mortem de deux patients suédois. Mais même indépendamment du côté « ce n'est pas gagné », il faut bien des échecs pour progresser, se pose plus prosaïquement la question de la source des cellules qui est la première question qui vient quand on aborde ce thème. Il ne s'agit pas uniquement d'une question théorique, mais aussi d'une question sociétale liée, pour une part importante, au statut de l'embryon humain comme personne potentielle. Cette question fortement débattue au sein des comités d'éthique est aujourd'hui relativisée par l'apparition sur le devant de la scène des cellules souches

inductibles, ou plutôt induites. En effet, il s'agit de prendre chez le patient une cellule différenciée, un fibroblaste par exemple, et de le transformer en cellules souches, ce qu'on appelle les iPS pour « inducible pluripotent stem cells ». On voit tout de suite l'avantage du point de vue de l'éthique. Nous savons depuis longtemps, nous avons cité les travaux de John Gurdon, qu'il est possible de prendre un noyau de cellule différenciée et de le reprogrammer pour qu'il acquière les propriétés de totipotence. En revanche, nous ne connaissons pas, ou plutôt nous ne connaissons pas, car les cellules souches induites pourraient rapidement combler cette ignorance, le mécanisme de cette marche arrière des cellules, de leur retour à un stade embryonnaire précoce.

Pour repartir de Dolly, le clonage de cette brebis en 1997 se fait par transfert d'un noyau de cellule de glande mammaire (après passage en culture) dans un œuf énucléé. Depuis Dolly, d'autres mammifères ont suivi le chemin : souris, vaches, chèvres, cochons, lapins et même un chat. Le taux de succès est de 1%, ce qui ne diffère pas de ce qu'on a observé chez les amphibiens. Aussi faible que puisse paraître ce taux, le simple fait que l'expérience marche est remarquable. Ce qui se passe dans cette affaire est une reprogrammation nucléaire sous l'influence du cytoplasme de l'oocyte. L'étape suivante, nous sommes en 2003, était donc évidente, rechercher dans ce cytoplasme les molécules qui font le travail et comprendre les mécanismes de la reprogrammation.

Avant 2006, les techniques de reprogrammation étaient au nombre de quatre : transfert nucléaire, fusion cellulaire, extraits cellulaires, explantation cellulaire. Depuis 2006, on sait qu'il suffit d'un cocktail de quatre facteurs de transcription pour transformer une cellule différenciée en cellule souche totipotente chez la souris, avec confirmation chez l'humain en 2008. Soulignons, que l'intérêt de produire des cellules iPS n'est pas d'ordre reproductif mais thérapeutique et, dans un premier temps, pharmacologique. En effet, il est utile de créer des lignées à partir de noyaux

pris sur des cellules d'individus malades pour étudier la maladie et procéder au criblage de médicaments.

C'est pourquoi les expériences sur les iPS de Takahashi et Yamanaka en 2006 ont été immédiatement reconnues comme une avancée considérable dans le problème de la reprogrammation épigénétique. Ces chercheurs ont en effet démontré que l'expression de quatre gènes seulement (Oct4, Sox2, c-Myc et Klf4) encodant des facteurs de transcription était suffisante pour redonner une totipotence complète à des fibroblastes de queue de souris. La totipotence des cellules iPS fut démontrée par leur capacité à reformer une souris entière.

Tout cela est véritablement excitant, mais de nombreux points doivent encore être résolus avant d'envisager des applications thérapeutiques. Le premier point est la mutagenèse éventuellement associée à l'intégration des gènes. Une deuxième question est celle de la dangerosité possible de ces cellules reprogrammées. Même si elles sont plus tard redifférenciées, la survie d'un pourcentage infime de cellules tumorales est possible, voire probable. En fait, dans leurs premiers travaux, Yamanaka et ses collègues ont observé l'apparition de tumeurs dans des souris chimériques générées à partir d'iPS. Il y a donc du chemin à faire avant de penser aux applications *in vivo*. Il reste que cette technologie est d'ores et déjà utilisée pour développer des modèles cellulaires de certaines maladies génétiques à partir de cellules prélevées chez des patients. Des protocoles de différenciation ont déjà été mis au point pour certains types cellulaires. C'est ainsi qu'ont été générés des cellules souches neurales, des motoneurones, des neurones dopaminergiques, des cellules de la rétine, des hépatocytes, des adipocytes, des cellules endothéliales, des cellules sanguines et des fibroblastes. Ces protocoles sont inspirés des travaux en embryologie qui permettent de comprendre les mécanismes sous-tendant dans les situations « normales » le développement des différents types cellulaires.

Un des problèmes évidents de cette « modélisation » *in vitro* est le temps pris pour le développement des maladies

in vivo et le contexte tissulaire de l'émergence de la maladie. Si on considère, par exemple, la maladie d'Alzheimer ou celle de Parkinson, il est clair que, même dans leurs formes génétiques (une minorité des formes ne l'oublions pas), la latence d'apparition *in vivo* peut prendre plusieurs dizaines d'années. Il en est de même pour la maladie de Huntington qui apparaît rarement avant quarante ans en dépit de son caractère monogénique.

Une autre difficulté peut résider dans la pureté du lignage alors que l'histoire développementale et les interactions tissulaires peuvent évidemment jouer un rôle important dans le développement de la pathologie. Plus généralement, des maladies avec un fort composant épigénétique seront difficiles à reproduire dans la mesure où les iPS sont justement déprogrammées et reprogrammées sur le plan épigénétique. Cela disqualifie, en tout cas pour l'instant, cette approche pour les maladies sporadiques ou multifactorielles, ce qui représente la grande majorité des maladies.

Dans le même ordre d'idée se pose la question des lignées contrôles. En effet, la variabilité interindividuelle suggère qu'il est préférable de prendre comme contrôles des cellules dérivées de la fratrie. Mais, même entre membres d'une même fratrie, l'hétérogénéité génétique est un élément important à prendre en compte.

Tout compte fait cela permet de mettre en avant quatre « défis technologiques » majeurs posés par la « médicalisation » des iPS :

1. La création ou reprogrammation d'iPS sans introduire de modifications génétiques qui pourraient altérer l'intérêt du matériel généré.
2. L'utilisation de stratégies génétiques dont le but est de générer des marqueurs de différenciation ou de correction génétique.
3. L'induction de phénotypes pathologiques *in vitro*.
4. L'induction de phénotypes pathologiques *in vivo*.

Le point numéro 1 pourrait être réglé facilement et je ne m'étends pas.

Le point 2 est un point intéressant car pour l'instant

la stratégie qui est proposée ne peut marcher, dans certaines limites, que pour des maladies monogéniques et indépendantes du milieu. Dès lors que le fond génétique est important et que le développement de la pathologie, même des traits partiels de la maladie, demande une interaction avec le milieu, la situation se complique. D'une certaine façon, cela peut permettre de mieux comprendre la maladie. Mais il s'agit alors d'un véritable projet de recherche encore éloigné des possibles applications thérapeutiques. D'où la nécessité d'identifier et d'accélérer les phénotypes pathologiques. Mais même avant cette étape, il faut déjà être capable de générer le type cellulaire désiré à partir des cellules souches. Par exemple, si je suis neurobiologiste et m'intéresse à la maladie de Parkinson, je dois non seulement faire des neurones à partir de mes fibroblastes mais également faire des neurones dopaminergiques. Cela veut dire, en amont un travail important de biologie du développement.

Une question proche, qu'on peut ranger dans cette catégorie est la recherche de marqueurs de la maladie. Prenons l'exemple d'une maladie dont on soupçonne qu'elle est génétique, ou a une composante génétique, et affecte principalement une classe particulière de neurones. Supposons que j'ai résolu le problème, non trivial, d'obtention de neurones de cette classe à partir de donneurs sains et de malades (préférentiellement de la même fratrie pour des questions de fond génétique), alors je peux utiliser toute la panoplie des approches moléculaires (comparaison des transcrits ou des protéines, des épigénomes, ...) ou physiologiques pour comparer les propriétés des cellules fabriquées à partir d'un patient ou d'un individu sain. Nous sommes là loin de la thérapeutique, mais nous avons créé un outil qui va, avec un peu de chance, permettre de mieux cerner la pathologie.

Pour ce qui est du point 3, une fois même qu'on aura obtenu des neurones du type désiré, porteurs d'une mutation retrouvée dans les formes génétiques de la maladie (il y a pour une même maladie des formes

génétiqes et des formes sporadiques, celles-ci souvent plus fréquentes que celles-là), encore faut il accélérer le processus. En effet, je puis être porteur de la mutation dès ma naissance et ne développer la maladie que tardivement (quarante, cinquante, soixante ans ou plus). On peut soumettre les cellules à des stress oxydatifs, dont il est probable qu'ils interviennent dans plusieurs maladies, dont la maladie de Parkinson. Mais outre que cela reste du niveau de l'hypothèse, le modèle biologique qui résulte de cette manipulation ne peut pas être considéré comme totalement satisfaisant.

Un problème additionnel majeur est que les maladies cellulaires sont rarement autonomes et que l'environnement physiologique, l'intégration dans un organisme ou un ersatz d'organisme soumis à des contraintes environnementales est nécessaire pour dévoiler le phénotype pathologique. Les fonctions cellulaires sont en effet influencées par le microenvironnement (cellules voisines, facteurs solubles, forces physiques, matrice extracellulaire). De ce point de vue, il est nécessaire de fabriquer des matériaux et de développer des systèmes qui miment au mieux les conditions physiologiques. Par exemple, il a été récemment démontré que la culture de neurones moteurs sauvages dérivés de cellules souches embryonnaires mais cultivés sur des cellules non-neurales (des astrocytes) porteuses de la mutation ALS (Sclérose Latérale Amyotrophique) dégénèrent. Bref, il existe de nombreuses techniques qui imposent un « patterning » de type tissulaire, mais sans reproduire véritablement les conditions physiologiques réelles.

D'où l'importance du point 4 qui concerne l'induction de phénotypes pathologiques *in vivo*. La fabrication de chimères peut permettre de fournir un environnement physiologique intéressant aux cellules iPS, y compris humaines dérivées de cellules prélevées chez des malades humains. Evidement, il ne peut s'agir que de chimères homme-animal générées par des greffes des cellules humaines chez des animaux (adultes ou fœtus). Ces

xénogreffes peuvent être générées par l'introduction des cellules humaines dans des sites à réaction immunitaire réduite comme la chambre antérieure de l'œil ou la joue. Mais la technique la plus classique reste celle des souris immunodéficientes.

Malgré tous ces *caveats*, de nombreux progrès ont déjà été accomplis, en particulier – et on comprend maintenant pourquoi –, dans la modélisation de maladies monogéniques et autonomes cellulaires. Pour ces maladies, mais aussi pour les autres, de nombreux travaux fondés sur ces approches essentiellement cellulaires, ont permis d'explorer l'intérêt thérapeutique de petites molécules, de protéines thérapeutiques, et de la génomique fonctionnelle pour comprendre les mécanismes morbides et développer des thérapies essentiellement fondées, à ce jour, sur le remplacement cellulaire.

Je voudrais maintenant repasser complètement au cerveau en me concentrant sur sa plasticité, d'abord en introduisant les cellules souches neurales, ensuite en me penchant sur la question des périodes critiques d'apprentissage.

Il existe deux régions cérébrales dans lesquelles la régénération fait partie de la physiologie cérébrale. La première région est le bulbe olfactif, dont les interneurones, une classe très importante de cellules intégrées aux réseaux neuronaux de cette région du cerveau qui analyse les informations olfactives en provenance de la cavité nasale. Ces interneurones sont renouvelés régulièrement à partir d'une zone pro génitrice appelée zone subventriculaire, c'est une niche où séjournent des cellules souches capables de fabriquer tous les types cellulaires du système nerveux, neurones, astrocytes et oligodendrocytes. Ces cellules se différencient en neurones qui migrent vers le bulbe olfactif. Elles sont souvent considérées comme un réservoir possible d'autres types cellulaires, en particulier des oligodendrocytes et des neurones, utilisables (en droit) dans des cas de maladies affectant le système nerveux. Encore doit-on être capable d'attirer ces cellules vers les

sites qui les réclament sur le plan de la physiopathologie et de les différencier pour qu'elles produisent le type cellulaire désiré. Par exemple dans le cas de la maladie de Parkinson, ce sont des neurones dopaminergiques qu'il faut produire et adresser au bon endroit, soit le mésencéphale, là où ces neurones qui meurent dans cette maladie résident normalement, soit dans le striatum, lieu où ils projettent et libèrent leur neuromédiateur, la dopamine. Avec deux problèmes : dans le premier cas, il faut que l'axone pousse pour effectuer tout le trajet ; dans le deuxième, on perd des régulations liées à l'insertion dans un réseau nerveux physiologique. On constate donc sur ce simple exemple la difficulté et le nombre des questions à résoudre. Différenciation, migration, croissance des axones, insertion, dans un réseau neuronal physiologique, autant de problèmes qui son loin, très loin, d'être résolus, même quand ils sont abordés dans le cadre « normal » du développement du système nerveux.

Un autre site de neurogenèse se situe au niveau de l'hippocampe. L'hippocampe est une structure corticale très importante qui joue un rôle dans l'orientation spatiale, mais aussi comme compartiment intermédiaire de mémorisation. Pour simplifier, disons que la mémorisation définitive qui implique le cortex est précédée d'une mémorisation transitoire, mémoire de travail, qui trouve sa place dans l'hippocampe. Les mémorisations hippocampiques sont ou ne sont pas stabilisées par transfert au cortex. L'hippocampe est donc une machine à apprendre, mais aussi à effacer. Les maladies liées au vieillissement ou à l'alcoolisme s'accompagnent souvent de lésion de l'hippocampe, plus que du cortex. C'est la raison pour laquelle la mémoire des choses anciennes peut être intacte, ou presque, alors qu'on est devenu incapable de se souvenir d'événement récents.

Or, l'hippocampe est le deuxième site de neurogenèse chez l'adulte. Cette neurogenèse concerne de nouveau des interneurons inhibiteurs qui viennent s'intégrer dans les réseaux présents. Les cellules souches sont ici des cellules neuronales, c'est-à-dire capables seulement de fabriquer

des neurones. La fonction de ce renouvellement n'est pas claire, on peut imaginer qu'il joue un rôle dans la fonction « gommage » de l'hippocampe, dans le style « si je ne passe pas au cortex en un mois, je suis effacée ».

Ce renouvellement pourrait aussi avoir une fonction dans la régulation de l'humeur. On sait que les antidépresseurs classiques ne sont actifs qu'au bout de plusieurs semaines alors qu'il s'agit d'inhibiteurs de la recapture de neuromédiateurs, donc des molécules qui devraient agir aussi rapidement qu'un somnifère ou que la cocaïne. Des travaux récents suggèrent que ce délai est lié en fait à la nécessité d'une neurogenèse dans l'hippocampe. Un autre cas lié à une pathologie est représenté par un gène associé à des états psychiatriques graves avec comme effet (dans un modèle murin) une mauvaise insertion des neurones formés chez l'adulte dans les circuits neuronaux stables.

Il me faut à ce stade faire état d'une observation récente qui suggère que ces nouvelles cellules qui s'intègrent dans le système nerveux adulte seraient perpétuellement modifiées au niveau génétique par l'insertion d'éléments génétiques mobiles ou transposons. Je ne veux pas passer trop de temps sur cette affaire, une affaire à suivre, mais juste mentionner ce fait pour qu'on comprenne bien que le cerveau, pas plus que la peau ou le foie, n'est un système immuable. Notre cerveau évolue avec le temps, se renouvelle localement au niveau cellulaire ou se modifie morphologiquement et physiologiquement. Bref, notre individuation est toujours en marche. Cela pose la question philosophique de la définition du soi et de sa conscience. Pour faire bref et ouvrir une réflexion, sachez que j'accorde à la possibilité de raconter, de se raconter, même si ce discours est en partie fantasmatique, une fonction fondamentale dans la stabilisation de cette conscience. C'est le langage qui, selon moi, joue là un rôle de tout premier plan. Ce par quoi nous nous rattachons à une histoire ou des histoires, ce pourquoi aussi nous ne sommes pas des bêtes.

Lewis Carroll n'a pas tout à fait tort quand il fait dire à Alice : « at least I know who I was when I got up this morning, but I think I must have been changed several times since then ».

Ce qui me permettra de finir sur la nécessité sur le plan évolutif de mettre un frein à la plasticité. Pour cela nous partirons de l'exemple des périodes critiques du développement cérébral. En effet, même si le système nerveux est vivant et est, de ce fait, le lieu d'une plasticité qui se décline à plusieurs niveaux (moléculaire, cellulaire,...), chacun a pu faire l'expérience, avec l'apprentissage des langues ou de la musique, qu'il y a des périodes plus propices que d'autres à l'apprentissage. Ces périodes, dites périodes critiques, s'ouvrent à un moment précis du développement cérébral et se ferment un peu plus tard. Le modèle le plus utilisé pour l'étude des périodes critiques est l'apprentissage de la vision binoculaire. Chez la souris la vision binoculaire est réduite mais réelle. Mais le cortex binoculaire doit apprendre à voir avec les deux yeux. Les projections qui partent des yeux et remontent vers le cortex visuel (avec un relais thalamique) sont présentes avant l'ouverture des yeux à quatorze jours. A l'état de base les projections controlatérales sont plus importantes que les ipsilatérales. Si on ferme l'œil controlatéral entre trois semaines et quarante jours après la naissance chez la souris, les fibres ipsi gagnent du terrain sur les controlatérales, et cet œil est mieux représenté au niveau cortical.

C'est ainsi que le cerveau s'adapte aux informations périphériques. Mais cette adaptation ne peut se faire de façon très efficace que pendant cette période. Avant ou après, il n'y a pas de plasticité. Cette période de plasticité correspond à la maturation d'une classe de neurones inhibiteurs qui forment des synapses et inhibent les sorties excitatrices du cortex. Si j'entre dans des détails qui peuvent sembler abscons, c'est parce que cette inhibition est importante dans de nombreuses fonctions corticales et que l'hypothèse a souvent été proposée d'associer des

maladies psychiatriques à des erreurs dans l'ouverture ou le déroulement de cette période critique qui permet l'adaptation, par exemple à la métamorphose qui accompagne la puberté.

Ce qui est particulièrement intéressant est qu'en fait la plasticité est l'état de base du système et que les vertébrés ont développé des stratégies qui permettent de bloquer cette plasticité. Les mécanismes impliqués dans ce blocage sont en train d'être déchiffrés et certains facteurs, et leur association à des sucres complexes exprimés par ces neurones inhibiteurs, jouent là un rôle essentiel. Détruire localement ces sucres ou bloquer l'association de certains facteurs aux sucres rouvrent des périodes de plasticité.

Il me reste à terminer sur ce qu'on appelle les interfaces cerveau-machine. Pirouette intéressante après avoir commencé en m'insurgeant contre la « machinisation » du vivant.

Pour reprendre de plus haut, il est évident que nous sommes depuis toujours des cyborgs, puisque la technique est, depuis le feu et les premiers silex, la condition de notre survie. Du silex au silicium, l'ordinateur prolonge aujourd'hui notre cerveau comme la bicyclette avait prolongé nos jambes. Les interfaces cerveau machines se définissent par des technologies qui permettent l'analyse du signal cérébral « ouvrir la porte » et transmettent ce signal à un robot qui ouvre la porte. C'est là une alternative à la régénération, le remplacement d'un organe manquant par une prothèse dirigée par la « seule force de la pensée ». Dans ces domaines qui progressent très vite, les enjeux principaux sont l'enregistrement des données cérébrales (techniques invasives, versus techniques non invasives), l'analyse des données par les ordinateurs (extraction du signal par les réseaux de neurones), la commande de la machine et, probablement la partie la plus délicate, le retour sensoriel entre le « robot » (une prothèse est un robot) et le cerveau.

Ce qui me permet de conclure cette conférence sur le fait que ces extensions de notre emprise sur le monde via les machines, y compris des artefacts qui pourraient un jour être incorporés – au sens littéral – sont aussi des outils formidables pour étudier, au niveau même de l'interface, comment fonctionne le système nerveux, question encore loin d'être résolue. Par-delà ces questions, cette capacité qui est la nôtre – à nous les sapiens – d'augmenter notre surface d'interaction avec le milieu, d'augmenter aussi ce milieu, contribue à pousser à l'extrême notre individuation. On pourra toujours prédire la catastrophe, elle est probable, voire assurée. Elle donne au destin technique de sapiens un sens tragique. Espèce technique, espèce tragique, ça ne manque pas d'une certaine grandeur.

Retrouvez l'intégralité du débat sur www.institutdiderot.fr

Dans la même collection

L'avenir de l'automobile

Louis Schweitzer

Les nanotechnologies & l'avenir de l'homme

Etienne Klein

L'avenir de la croissance

Bernard Stiegler

A paraître

L'avenir de l'Europe

Franck Debié

L'avenir de la régénération cérébrale

Lorsqu'il s'agit du cerveau, chacun comprend qu'il en va de la représentation de soi-même et de son devenir. Le cas est d'autant plus passionnant que les applications médicales de ces recherches se profilent à un horizon plus ou moins rapproché.

Les implications sociales et économiques de ces progrès de la connaissance apparaissent immenses et permettent d'aborder sans a priori moraux ou politiques les difficultés, les enjeux, les espoirs et les craintes que rencontrent et suscitent les applications de la science.

Dominique Lecourt, Directeur général de l'Institut Diderot



Alain Prochiantz



Professeur au Collège de France, titulaire de la chaire « Processus morphogénétiques », membre de l'Académie des Sciences (Institut de France) et du « Centre for the study of bioscience, biomedicine, biotechnology and society » de la London School of Economics.

