

Forschungsprojekt mit humanen embryonalen Stammzellen /
Projet de recherche utilisant des cellules souches embryonnaires humaines

R-FP-S-1-0006-0000

| | |
|---|---|
| Referenznummer / numéro de référence | R-FP-S-1-0006-0000 |
| Projekttitel / titre du projet | <i>Utilisation de cellules souches embryonnaires humaines pour le développement de modèles nerveux in vitro utilisables pour la toxicologie et la découverte de nouveaux médicaments</i> |
| Projektstand / état du projet | beendet |
| Projektleiter_in / direction du projet | Prof. Denis Hochstrasser |
| Institut, Firma / institut, société | HUG - Hôpitaux Universitaires de Genève 4 rue Gabrielle-Perret-Gentil 1211 Genève |
| Projektbeginn / début du projet | Juni 2012 |
| Voraussichtliche Dauer / durée probable | 36 Monate |
| Ziele des Projekts / but du projet | <p>La plupart des tests de toxicologie sont actuellement effectués in vivo grâce à l'utilisation de modèle animaux qui dans la majorité des cas sont des rongeurs (souris, rats, hamster). Cependant le nombre croissant de molécules à tester, dû entre autre au règlement européen REACH (règlement sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques), va induire une augmentation très importante du nombre d'animaux utilisés pour les tests de toxicologie. Cette augmentation va à l'encontre du principe des 3Rs (Reduce, Refine, Replace) qui préconise une diminution du nombre d'animaux utilisé dans les expériences scientifiques, voire, lorsque cela est possible, leur remplacement par d'autres types de modèles biologiques. Un deuxième aspect important est que les modèles animaux ne peuvent pas toujours prédire la toxicité d'une substance chez l'humain. L'utilisation d'un modèle in vitro de tissus nerveux obtenus à partir de cellules souches humaines embryonnaires permet de résoudre les deux problèmes susmentionnés. Le but de notre projet de recherche est d'utiliser des cellules souches embryonnaires humaines (déjà existantes) pour le développement dun modèle in vitro de tissu nerveux qui pourra être utilisé pour des tests de toxicologie. L'utilisation d'un système nerveux in vitro fonctionnel permettra de détecter de manière rapide et précise une éventuelle neurotoxicité de différents types de composés chimiques et/ou biologiques auxquels la population suisse pourrait être exposée. Ces résultats pourront apporter une aide aux autorités compétentes dans leur évaluation de la neurotoxicité de différents composés chimiques et/ou biologiques. Le protocole de recherche consistera à différencier in</p> |



in vitro trois lignées de cellules souches embryonnaires humaines déjà existantes en tissus nerveux. Deux de ces lignées (H1; BAG-hES-IMP-0001 et H9; BAG-hES-IMP-0016) sont fournies par un institut de recherche basé aux USA (WiCell Institute). La troisième lignée de cellules souches embryonnaires humaines a été produite à Bâle par le professeur De Geyter. Cette lignée a été officiellement enregistrée dans la base de données de l'OFSP (BAG-hES-GEW-0002). Les différentes lignées de cellules souches embryonnaires humaines seront cultivées pour amplification afin de pouvoir obtenir un stock conservé dans de l'azote liquide (pour une utilisation ultérieure). Les cellules souches embryonnaires humaines seront ensuite dérivées en neurosphères dans un milieu de culture de différenciation spécifique. Les neurosphères seront ensuite dissociées en cellules, puis ces cellules seront placées à haute densité sur un insert permettant de les cultiver à l'interface air-liquide (voir publication suivante : The long-term survival of in vitro engineered nervous tissue derived from the specific neural differentiation of mouse embryonic stem cells. Biomaterials. 2010 Sep;31(27):7032-42. Epub 2010 Jun 29). Après plusieurs semaines de culture à l'interface air-liquide les cultures seront caractérisées (Immunohistologie, RT-qPCR, Activité électrique) afin de vérifier l'obtention d'un tissu nerveux mature. Ce tissu nerveux pourra ensuite être utilisé pour tester in vitro la toxicité de différents composés chimiques de référence (méthyl-mercure, l'acrylamide ...). Puis, nous voudrions tester différents types de molécules potentiellement neurotoxiques (colorant, nanoparticules, pesticides ...). Enfin, nous tenons également à utiliser ce modèle nerveux in vitro pour l'identification de nouveaux biomarqueurs (gènes, protéines ...) qui pourraient être utilisés pour détecter et prédire la neurotoxicité chez des patients humains.

Verwendete hES Zelllinien /

Lignées de cellules utilisées

H1 (WA01)

H9 (WA09)

CHES2

BAG-hES-IMP-0001

BAG-hES-IMP-0016

BAG-hES-GEW-0002

Projektergebnis / résultat du projet

Le but de notre projet de recherche était de développer un nouveau modèle in vitro de neurotoxicologie basé sur l'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- 1) Nous avons pu générer des neuroprogéniteurs à partir de ces cellules pluripotentes
- 2) La mise en culture de ces cellules neuroprogénitrices sur des membranes poreuses à l'interface Air/liquide (milieu de culture), a permis de générer des cultures de tissus nerveux en trois dimensions.



3) Nous avons caractérisé ces cultures 3D de tissus nerveux en utilisant des techniques d'immunofluorescence et d'électrophysiologie.

4) Nous avons aussi étudié la cinétique de l'apparition des différents marqueurs spécifiques aux cellules nerveuses (neurones et cellules gliales) en analysant l'expression géniques par qRT-PCR.

5) Des tests de neurotoxicité ont été effectués en utilisant des molécules chimiques (Méthylmercure et TriméthylTin) connues pour induire des effets délétères au niveau du système nerveux.

En conclusion, nous avons pu développer et valider un nouveau essai cellulaire pour tester la toxicité potentielle de nouveaux médicaments ou de molécules chimiques présentes dans notre environnement et notre alimentation. Ces résultats pourront apporter une aide aux autorités compétentes dans leur évaluation de la neurotoxicité de différents composés chimiques et/ou biologiques.