



Institut Pasteur - 12-14 mars 2015

**20^{es} Journées
du Collège des Histologistes,
Embryologistes et Cytogénéticiens**

Livre des résumés
Programmes - Liste des participants



Bienvenue

Cher(e) ami(e),

Au nom des membres du conseil d'administration, j'ai le plaisir de vous souhaiter la bienvenue aux 20^{es} Journées du Collège des Histologistes, Embryologistes et Cytogénéticiens. Nous aurons le grand plaisir de vous accueillir cette année à l'Institut Pasteur, Paris, les 12, 13 et 14 mars 2015.

Le jeudi après midi, nous animerons les ateliers de formation des juniors à la pédagogie. La journée se poursuivra par une conférence historique, donnée par Madame Muriel Hilaire-Soule, conservatrice du Musée Pasteur, sur les travaux de Louis Pasteur dans le domaine de la recherche biomédicale et leurs conséquences socio-économiques. Cette conférence sera suivie de la visite du Musée et des appartements de Louis Pasteur. Nous partagerons enfin vins et fromages pour clore cette première journée.

*Le vendredi sera consacré, comme à l'accoutumée, aux communications scientifiques. Cette année nous avons retenu le thème de **la prolifération cellulaire**. Les organisateurs scientifiques, Frédéric Relaix et Sylvain Ladoire ont sélectionnés des communications et des conférences traitants de l'homéostasie cellulaire, du développement embryonnaire, des télomères et de l'instabilité chromosomique et enfin des cellules souches. Nous avons choisi de reconduire la formule de l'année passée : des présentations orales d'une dizaine de minutes, et des « posters flash » (trois diapositives, trois minutes) mettant en lumière les points importants des travaux présentés et invitant à une discussion plus longue devant les posters.*

A l'issue de cette journée du vendredi, nous nous rendrons au musée du Louvre, pour une courte visite avant le dîner de Gala au restaurant Le Grand Louvre situé sous la Pyramide.

Je vous rappelle que, désormais, les personnels non statutaires (étudiants, internes, chefs de clinique et assistants, chercheurs et amis) des équipes « 42-02 » peuvent être membres du collège, en contrepartie d'une cotisation « symbolique ». Nous les invitons à rejoindre notre société savante et à contribuer à faire vivre notre collège.

Nous nous réjouissons à l'idée de vous retrouver prochainement à Paris. Venez nombreux !

Bien amicalement,

Fabrice Chrétien pour le Conseil d'Administration du CHEC

Remerciements

*Les organisateurs des 20^{es} Journées du CHEC remercient vivement
l'Institut Pasteur de Paris et le laboratoire d'Histopathologie
ainsi que les sociétés suivantes pour leur contribution :*



Plan des salles



i Accueil Informations

01 Emile DUCLAUX

02 Gabriel BERTRAND

03 Ernest FOURNEAU

05 Serre

06 Bâtiment Social

07 Le PASTEUR

08 Annexe n° 8

09 Pavillon Louis MARTIN

10 Pavillon Emile ROUX

11 Bâtiment du 205

12 Pasteur BioTop

13 Centre Médical

14 GÉNOPOLE®

15 CIS

22 André LWOFF

23 Bâtiment Administratif

24 Résidence des Stagiaires

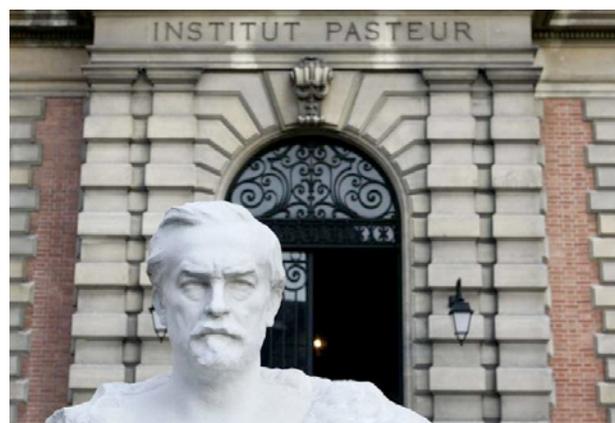
25 Sergent

26 à 28 François JACOB

P Parking sous-sol

♿ Stationnement handicapés

D.A.E. Défibrillateur



Sommaire

Page

Programme	6
------------------------	---

Résumés des communications

Communications du vendredi 13 mars - Matin

Session 1 - L'homéostasie cellulaire	11-29
--	-------

Session 2 - Prolifération et développement embryonnaire	30-46
---	-------

Communications du vendredi 13 mars - Après-midi

Session 3 - Fonction télomérique	47-53
--	-------

Session 4 - Cellules souches et système nerveux central	54-59
---	-------

<i>Communications affichées</i>	60-74
--	-------

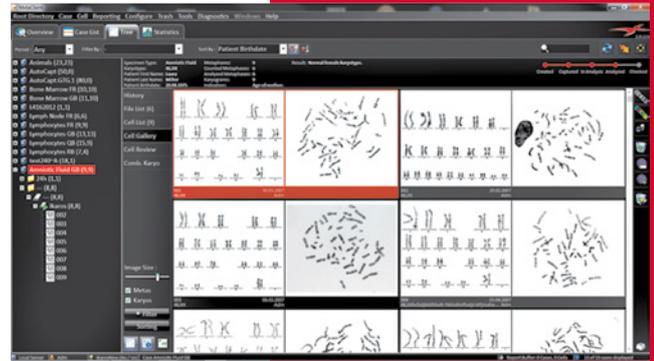
Liste des participants	75
-------------------------------------	----

Une gamme détaillée de produits pour votre laboratoire - le tout provenant d'une source unique

Saisie et gestion des données

MetaClient-l' interface professionnelle pour vos données

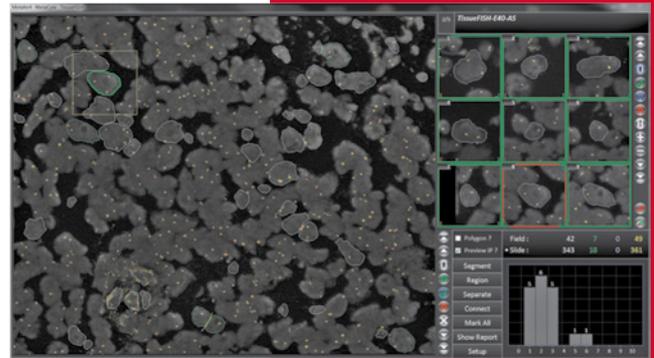
Tous les systèmes MetaSystems sont livrés avec une surface utilisateur très variée pour la saisie et l'analyse des données de patients et de dossiers. De plus les éléments d'une base de données déjà existante peuvent être aisément récupérés par notre système. Une technologie hautement moderne garantit un processus de travail rapide permettant aussi l'édition simple et claire de comptes rendus et d'études statistiques configurables au choix.



Hybridation

Les sondes FISH de MetaSystems

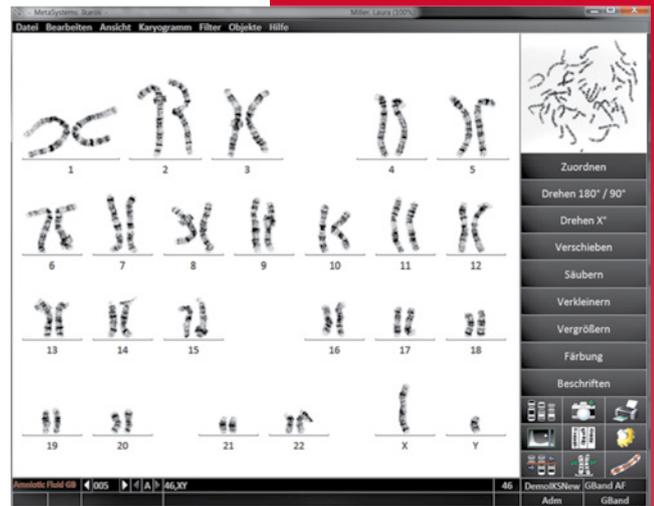
Le catalogue sondes de MetaSystems s'étoffe continuellement de sondes FISH de très haute qualité. Toutes les sondes produites sont compatibles avec les logiciels et les équipements MetaSystems pour l'atteinte d'une analyse automatisée. Elles remplissent les conditions définies par les standards de qualité propres aux produits MetaSystems.



Automatisation

Une plate-forme unique pour toutes les fonctions automatisées d'analyse

La plate-forme de scanning Metafer, connue et utilisée dans le monde entier, offre plusieurs outils pour une microscopie automatisée tel que le chercheur de métaphases travaillant de façon rapide et fiable, tel que le logiciel pour l'analyse automatisée des signaux FISH et tel que, plus récemment, un nouveau module pour l'analyse des signaux FISH sur coupes tissulaires. Avec ce dernier module, Metafer permet une liaison continue entre la gestion des données de dossiers et les différents postes d'analyse. Un système conçu spécialement pour des laboratoires à haut rendement permet le chargement de 800 lames avec un lecteur de code barre et un distributeur automatique d'huile à immersion.



Analyse

Caryotypage et traitement d'images FISH

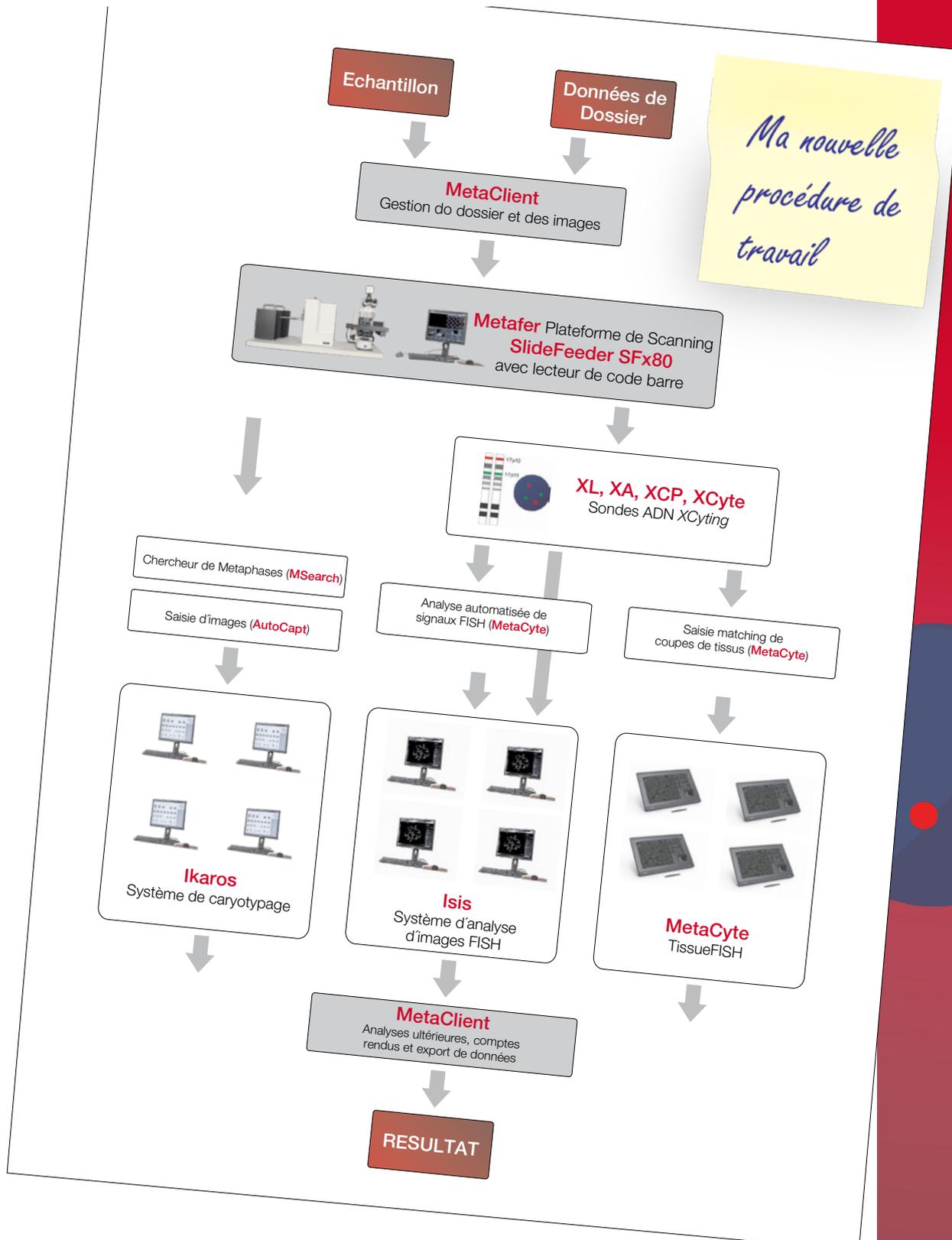
Les logiciels Ikaros et Isis sont considérés actuellement dans le monde entier comme synonymes pour une analyse cytogénétique très rapide et hautement fiable. Grâce aux systèmes MetaSystems, optimisés pour des analyses de routine, qu'il s'agisse de caryotypage, d'analyses FISH ou de M-FISH, Il est possible non seulement d'économiser du temps pour chaque étape de travail mais encore d'en améliorer la qualité.

MetaSystems
Robert-Bosch-Str. 6
D-68804 Altlusheim
Allemagne

eMail:
info@metasystems.de
Internet:
www.metasystems.de

Réglage parfait de tous les composants pour une procédure idéale de travail

Tous les composants de chaque installation Metasystems, à partir de la saisie de données en passant par l'hybridation FISH et la saisie d'images jusqu'à l'analyse sont calibrés exactement les uns sur les autres. La priorité étant ainsi de permettre aux utilisateurs de se concentrer sur le plus important même dans des cas complexes d'analyse : un diagnostic performant, fiable et exact.



MetaSystems
en France:

Mme M. Rodriguez

tel. 04.93.69.17.41
fax 04.93.69.17.36

eMail
interfac@club-internet.fr

Programme CHEC

Jeudi 12 mars

Amphi. François Jacob

12:00-14:00 **Accueil et café de bienvenue**

14:00-17:00 **Atelier de formation des juniors à la pédagogie**

17:00-17:30 **Ouverture officielle des 20^{es} Journées du Collège des Histologistes,
Embryologistes et Cytogénéticiens**
Hommage Francis Roussel

17:30-17:45 **Point sur le site internet**
Vincent Achard

17:45-18:30 **Conférence inaugurale : Pasteur hier et aujourd'hui**
Muriel Hilaire-Soule

18:30-19:30 **Visite du Musée de l'Institut Pasteur suivi du buffet "Wine and cheese"**

Programme CHEC

Vendredi 13 mars - Matin

Sessions scientifiques sur la thématique de la prolifération cellulaire

Amphi. Emile Duclaux

08:30-10:30 **SESSION 1 - L'homéostasie cellulaire**

Modérateurs : Romain Gherardi et Vincent Deramecourt

08:30-09:15 **Conférence plénière - Homéostasie vasculaire et ischémie tissulaire**

Jean-Sébastien Silvestre

09:15-10:30 **Communications orales**

- ***Intérêts cliniques de l'étude du stress oxydant dans les LAM de novo de l'adulte***
Julie Mondet
- ***La cytokine fibrogénique TGF- β 1 augmente les propriétés angiogéniques des progéniteurs endothéliaux circulants***
Solène Evrard
- ***Les cellules souches musculaires sont affectées pendant un choc septique et perdent leur fonctionnalité : une étude histologique et moléculaire***
Pierre Rocheteau

Posters flash

- ***P01 - Caractérisation cytogénétique et histomoléculaire des tumeurs glioneuronales papillaires : intérêt diagnostique de la recherche de la fusion SLC44A1-PRKCA par FISH***
Mélanie Pagès
- ***P02 - Exposition néonatale aux perturbateurs endocriniens estrogéniques : programmation de l'infertilité masculine par des mécanismes épigénétiques***
Claire Mauduit
- ***P03 - Myopathies inflammatoires et dysimmunitaires : nouveaux marqueurs, nouveaux concepts***
Jessie Aouizerate
- ***P04 - Lipocalin2 is an early marker of endothelial activation during sepsis***
Aurélien Mazeraud
- ***P05 - L'inhibition sélective des BET bromodomaines comme traitement potentiel de l'ostéoporose***
Marc Baud'huin
- ***P06 - L'activation de LXR β permet la pyroptose des cellules cancéreuses coliques humaines et murines***
Valentin Derangère
- ***P07 - Une mutation postzygotique activatrice de FGFR2 est responsable d'une forme sévère et atypique de naevus sébacé en prénatal***
Paul Kuentz
- ***P08 - Effets cellulaires des auto-anticorps anti-récepteurs N-Méthyl-D-Aspartate dans un modèle in vivo murin d'encéphalite***
Aude Chefdeville

10:30-11:00 **Pause café - Communications affichées**

.../...

Programme CHEC

Vendredi 13 mars - Matin (suite)

Sessions scientifiques sur la thématique de la prolifération cellulaire

Amphi. Emile Duclaux

- 11:00-12:30 **SESSION 2 - Prolifération et développement embryonnaire**
Modérateurs : Frédéric Relaix et Fanny Pelluard
- 11:00-11:45 **Conférence plénière**
Cell lineage differentiation in the Inner Cell Mass during mouse preimplantation
Claire Chazaud
- 11:45-12:30 **Posters flash**
- **P09 - Validation multicentrique des outils diagnostiques des réarrangements du gène ALK dans 547 adénocarcinomes pulmonaires**
Anne McLeer-Florin
 - **P10 - Mécanismes moléculaires de la surexpression de hTERT dans le cancer du sein**
Mathilde Gay-Bellile
 - **P11 - Exploration cytogénétique des produits de fausse couche spontanée par « Prénatal BoBs™ »**
Sarah Mellali
 - **P12 - Microdissection virtuelle par analyse des réseaux de co-expression génique : application à l'identification des profils moléculaires macrophagiques et lymphocytaires T dans le glioblastome**
Serge Nataf
 - **P13 - Approches Expérimentales de la Neuroprotection**
Mohamed Jaber
 - **P14 - DSCAM, un nouveau gène soumis à empreinte parentale**
Laila el Khattabi
 - **P15 - Etude du réarrangement du gène RET dans des adénocarcinomes pulmonaires**
Marjorie Gournay
 - **P16 - Physiopathologie des aneuploïdies : conséquences du déséquilibre chromosomique sur l'organisation nucléaire et l'expression globale du génome**
Bérénice Hervé
 - **P17 - Quantification de la fibrose tissulaire par spectroscopie infrarouge**
Vincent Vuiblet
 - **P18 - Les kinases pro-apoptotiques NDR1/2 sont nécessaires à la motilité des cellules de lignées épithéliales bronchiques humaines dépourvues de RASSF1A**
Maureen Keller
 - **P19 - Détermination de nouveaux paramètres d'analyse morphocinétique du développement embryonnaire pré-implantatoire humain**
Nadia Kazdar
-
- 12:30-13:00 **Communications sponsors**
- **Solutions d'automatisation Abbott pour la FISH**
Alain Bitbol
 - **Solutions Agilent pour l'analyse en Cytogénétique**
Hervé Chaulet
-
- 13:00-14:30 **Buffet - Communications affichées**

Programme CHEC

Vendredi 13 mars - Après-midi

Sessions scientifiques sur la thématique de la prolifération cellulaire

Amphi. Emile Duclaux

- 14:30-16:00 **SESSION 3 - Fonction télomérique**
Modérateurs : Jean-Philippe Merlio et Virginie Desestret
- 14:30-15:15 **Conférence plénière - Altération de la fonction télomérique dans le cancer**
Andreï Tchirkov et Lauren Véronèse
- 15:15-16:00 **Communications orales**
- *Les lymphocytes Th17 intra-tumoraux exercent des fonctions immuno-suppressives dépendantes de l'adénosine chez les patientes porteuses de cancers du sein*
Marion Thibaudin
 - *Etude des altérations et du rôle du gène DUSP22 dans les lymphomes T cutanés*
Pierre Mélard
 - *Fonctions télomériques et extra-télomériques de la télomérase dans les lymphomes T cutanés primitifs*
Edith Chevret
-
- 16:00-17:00 **Pause café - Communications affichées**
-
- 17:00-18:15 **SESSION 4 - Cellules souches et système nerveux central**
Modérateurs : François-Jérôme Authier et Julien Sigala
- 17:00-17:45 **Conférence plénière - Cellules souches neuronales**
Pierre-Marie Lledo
- 17:45-18:15 **Communications orales**
- *Organization and function of the vascular network and its relation with satellite cells in normal and pathological muscle*
Claire Latroche
 - *Pericytes in the myovascular niche promote post-natal myofiber growth and satellite cell quiescence*
Enis Kostallari
-
- 19:00-20:30 **Visite libre du musée du Louvre**
-
- 20:30 **Dîner de Gala au Café Grand Louvre**

Programme CHEC

Samedi 14 mars

Amphi. Emile Duclaux

09:00-09:45 **Enquête “le vivier 42-02”**

09:45-10:45 **Conférence de synthèse**
Jean-François Bernaudin

10:45-11:15 **Evaluation de la recherche (SIGAPS...)**

11:15-12:00 **Assemblée Générale du CHEC / Nouvelles du CNU**

12:00 **Clôture 20^{es} Journées du Collège des Histologistes, Embryologistes
et Cytogénéticiens**

Résumés des communications

SESSION 1 L'homéostasie cellulaire

Conférence plénière

Homéostasie vasculaire et ischémie tissulaire

Jean-Sébastien Silvestre*

Paris Centre de Recherche Cardiovasculaire, Inserm UMRS 970, Paris, France

*auteur correspondant : jean-sebastien.silvestre@inserm.fr

Plusieurs processus distincts et complémentaires participent à la formation d'un réseau vasculaire fonctionnel : on appelle vasculogenèse les événements cellulaires initiaux commençant par la prolifération de cellules souches endothéliales qui se différencient et forment, localement, des tubules de cellules endothéliales qui se réunissent eux mêmes en un plexus vasculaire indifférencié peu ou pas organisé. La croissance, la différenciation et l'organisation de ces plexus en réseaux capillaires fonctionnels constituent précisément l'angiogenèse. Ces étapes initiales de vasculogenèse puis d'angiogenèse aboutissent à la formation d'un réseau de microvaisseaux de petit calibre (inférieur à 10 μ m), essentiellement de type capillaire. Ce n'est qu'ensuite que les éléments de plus gros calibres (artérioles, veinules, et anastomoses artério-veineuses) sont constitués par l'apparition de cellules musculaires lisses (myogénèse) puis de matrice extracellulaire qui consolident les parois de ces structures vasculaires. On observe en même temps l'occurrence de péricytes autour des capillaires. Les artères de résistance puis de conductance sont formées par le développement de leur média, puis de l'adventice. Pendant ces étapes de formation du réseau vasculaire, les cellules musculaires lisses ont et gardent un phénotype sécrétoire : elles synthétisent des facteurs de croissance et des composants de la matrice extracellulaire. Les propriétés contractiles des cellules musculaires vasculaires apparaissent en dernier lieu. L'ensemble de ces événements sont regroupés sous le terme d'artériogenèse. Un processus de collatéralisation s'installe également ; des artérioles collatérales établissent des connections entre les artères principales, qui conduisent l'essentiel du débit sanguin régional. Ces différents processus sont initiés au cours du développement embryonnaire mais également chez l'adulte, dans de nombreuses situations physiologiques et pathologiques. En particulier, ces phénomènes de genèses et de remodelage vasculaire prennent une part importante dans le remodelage du tissu ischémique et constituent même la cible de stratégies thérapeutiques visant à restaurer la fonction de l'organe ischémique.

Mots clés : Angiogenèse - Vasculogenèse - Ischémie

Références bibliographiques

1. Silvestre JS, Smadja DM, Lévy BI. Post-ischemic revascularization : from cellular and molecular mechanisms to clinical applications. *Physiol Rev.* 2013 Oct;93(4):1743-802
2. Smadja D, Lévy B, Silvestre JS. Ischémie tissulaire et régénération vasculaire. John Libbey Eurotext. 2012. 116 pages.

Communications orales

Intérêts cliniques de l'étude du stress oxydant dans les LAM de novo de l'adulte

Julie Mondet^{a*}, Catherine Garrel^b, Patrice Faure^b, Jean Yves Cahn^c, Pascal Mossuz^d

^aPathologie moléculaire, Chu de Grenoble, Grenoble

^bDBTP, Chu de Grenoble, Grenoble

^cService d'hématologie clinique, Chu de Grenoble, Grenoble

^dLaboratoire d'hématologie cellulaire, Chu de Grenoble, Grenoble

* auteur correspondant : jmondet@chu-grenoble.fr

Objets : Au cours de l'hématopoïèse normale, la modulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) participe à l'équilibre entre les mécanismes de prolifération/renouvellement/différenciation des cellules souches hématopoïétiques. Une dérégulation de la balance oxydative a été décrite au cours de l'initiation et de la progression du processus leucémique dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) (1, 2). Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude clinique sur des LAM de l'état du métabolisme oxydoréductif au diagnostic et en fin de chimiothérapie inductive.

Méthodes : 53 patients atteints de LAM *de novo* au diagnostic ont été inclus de manière prospective. Les profils d'émission des ROS mitochondriaux et NADPH oxydase dépendant ont été réalisés au diagnostic par cytométrie en flux grâce à une sonde DHE sur les populations cellulaires ciblées par l'anticorps CD45. Les dosages des systèmes antioxydants (glutathion, SOD, GPX...) et des marqueurs de peroxydation lipidique (TBAR, MDA) ont été réalisés au diagnostic et en post-chimiothérapie. Les données biologiques ont été corrélées à la réponse à la chimiothérapie inductive définie par l'obtention d'une rémission complète.

Résultats : Nous avons montré que les différents types cellulaires (blastes, polynucléaires neutrophiles, monocytes, lymphocytes) présentaient des niveaux et des profils de production de ROS différents. Nous avons pu montrer des différences significatives de ces profils entre les blastes de patients répondeurs et mauvais répondeurs au traitement. De plus, les patients mauvais répondeurs présentaient une diminution significative du rapport glutathion réduit/oxydé. Enfin, une baisse du glutathion associée à une augmentation des activités des GPX et SOD érythrocytaires ont été significativement observés à la fin de la chimiothérapie.

Conclusion : Notre étude montre des modifications de l'équilibre oxydatif chez des patients LAM au diagnostic qui semble corrélées à la réponse à la chimiothérapie inductive mais également modulé par celle-ci. Ces données seront complétées ultérieurement par les données de survie à long terme.

Mots clés : Leucémie aigue myéloïde - stress oxydatif - especes reactives de l'oxygene

Références bibliographiques

1. Udensi UK, Tchounwou PB. Dual effect of oxidative stress on leukemia cancer induction and treatment. *J Exp Clin Cancer Res.* 2014;33(1):106.doi:10.1186/s13046-014-0106-5
2. Hole PS, Zabkiewicz J, Munje C, Newton Z, Pearn L, White P, et al. Overproduction of NOX-derived ROS in AML promotes proliferation and is associated with defective oxidative stress signaling. *Blood.* 2013;122(19):3322-30.

La cytokine fibrogénique TGF- β 1 augmente les propriétés angiogéniques des progéniteurs endothéliaux circulants

Solène Evrard^{a*}, Clément D'Audigier^b, Laetitia Mauge^b, Dominique Israel-Biet^c, Coralie Guerin^d, Ivan Bieche^e, Jason Kovacic^f, Anne-Marie Fischer^b, Pascale Gaussem^b, David Smadja^b

^a*Histologie-Cytologie /Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Toulouse/ IUCT-O, Toulouse Cedex 9, France*

^b*Service d'Hématologie Biologique, HEGP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris*

^c*Service de Pneumologie, HEGP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris*

^d*INSERM UMRS 970, Paris Centre de Recherche Cardiovasculaire - HEGP, Paris*

^e*INSERM UMRS 765, Université Paris Descartes, Paris*

^f*The Zena and Michael A Wiener Cardiovascular Institute, Mount Sinai School of Medicine, New York, USA*

* *auteur correspondant : evrard.s@chu-toulouse.fr*

Objet : Le TGF- β 1 (Transforming Growth Factor- β 1) est une cytokine pléiotropique qui a un rôle majeur dans le développement de la fibrose de nombreux organes [1] et qui possède également une activité angiogénique en régulant le phénotype et l'activité de différentes populations cellulaires vasculaires [2,3]. Puisque la plupart des maladies fibrogéniques, comme la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI), sont associées à un remodelage vasculaire [4] ; et comme les progéniteurs endothéliaux circulants (PEC) pourraient être impliqués dans ce processus, nous avons étudié l'impact du TGF- β 1 sur les propriétés angiogéniques des PEC et plus particulièrement sur les ECFC (endothelial colony forming cells) [5].

Méthodes : Les concentrations plasmatiques du TGF- β 1 ont tout d'abord été évaluées chez 64 patients atteints de FPI et comparées à celles de sujets contrôles. Les effets du TGF- β 1 sur l'angiogénèse ont ensuite été étudiés in vivo dans un modèle de Matrigel plug et in vitro sur des ECFC. Nous avons également étudié l'effet de l'inhibition des trois principaux récepteurs du TGF- β 1 se trouvant sur les ECFC en utilisant des siRNA (short interfering RNA).

Résultats : La concentration plasmatique du TGF- β 1 était significativement plus élevée chez les patients avec une FPI que chez les sujets contrôles ($P < 0,0001$). Le TGF- β 1 avait des effets proangiogéniques in vivo en augmentant la quantité d'hémoglobine et la formation de nouveaux vaisseaux dans des Matrigels plugs implantés dans des souris C57/B16. In vitro, le TGF- β 1 augmentait la viabilité et la migration des ECFC. L'inhibition d'un seul des trois principaux récepteurs du TGF- β 1 était suffisante pour abolir les effets observés in vitro.

Conclusion : Le TGF- β 1 possède donc des propriétés proangiogéniques in vivo dans un modèle murin et in vitro en augmentant la viabilité et la migration des ECFC ; suggérant ainsi que le TGF- β 1 pourrait jouer un rôle dans le remodelage vasculaire des pathologies fibrogéniques via le recrutement et l'expansion de PEC.

Mots clés : Progéniteurs endothéliaux circulants (PEC) - Fibrose Pulmonaire Idiopathique - Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) - Endothelial Colony Forming Cells (ECFC)

.../...

.../...

Références bibliographiques

1. Blobel GA, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1350–8.
2. Pollman MJ, Naumovski L, Gibbons GH. Vascular cell apoptosis: cell type-specific modulation by transforming growth factor-beta1 in endothelial cells versus smooth muscle cells. *Circulation* 1999; 99: 2019–26.
3. Benckert C, Jonas S, Cramer T, von Marschall Z, Schafer G, Peters M, et al. Transforming growth factor beta 1 stimulates vascular endothelial growth factor gene transcription in human cholangiocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2003; 63: 1083–92.
4. Ebina M, Shimizukawa M, Shibata N, Kimura Y, Suzuki T, Endo M, et al. Heterogeneous increase in CD34-positive alveolar capillaries in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 1203–8.
5. Hur J, Yoon CH, Kim HS, Choi JH, Kang HJ, Hwang KK, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasculogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 288–93.

Les cellules souches musculaires sont affectées pendant un choc septique et perdent leur fonctionnalité : une étude histologique et moléculaire

P. Rocheteau^a, L. Châtre^c, M. Mebarki^a, P. Lecci^a, P. Serrani^a, T. Sharshar^a, F. Chrétien^{a,b}

^a *Unité Histopathologie Humaine et modèles animaux, Institut Pasteur, Paris, Université Paris Descartes ParisV, Paris, France*

^b *Service de Neuropathologie, Hôpital Sainte Anne, Paris, France*

^c *Unité de Génétique Moléculaire des Levures Unité de Génétique Moléculaire des Levures Institut Pasteur, Paris, France*

* auteur correspondant : pierre.rocheteau@pasteur.fr

Le sepsis est une infection qui résulte en une inflammation non contrôlée conduisant à des dommages tissulaires et des défaillances d'organes multiples, pouvant entraîner une mort rapide. De nos jours, les traitements ne sont pas très efficaces [1] et l'une des conséquences du sepsis peut être la perte de masse musculaire, entraînant une atrophie pouvant avoir de nombreux impacts cliniques [2].

En situation normale le muscle squelettique a la capacité de régénérer ad integrum après une blessure, grâce aux cellules souches du muscle: les cellules satellites [3-5]. Ayant un rôle central dans la régénération, notre travail consiste à caractériser le comportement de cette cellule souche au cours d'un sepsis afin de comprendre pourquoi, même 5 ans après un choc septique ce type cellulaire n'est plus capable de remplir son rôle dans le maintien de l'homéostasie musculaire et de corriger le problème.

Nous avons montré qu'après un choc septique, les cellules souches musculaires ne sont plus capables d'assurer de nombreuses fonctions lors de leur activation comme la division et la différenciation. Ces effets perdurent dans le temps et l'effet négatif du sepsis à l'échelle cellulaire se fait ressentir même 3 mois après le choc septique. Nous avons également montré que ces défauts proviennent, en partie des mitochondries, entraînant une détérioration de l'état métabolique. L'injection de cellules souches mésenchymateuses s'est également révélée intéressante pour contrer ces dysfonctions, montrant une diminution systémique de l'inflammation et une restauration quasi complète de tous les paramètres des cellules souches musculaires.

.../...

.../...

Références bibliographiques

1. Cohen, J. (2002). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420, 885-891.
Gamrin, L., Andersson, K., Hultman, E., Nilsson, E., Essen, P., and Wernerman, J. (1997). Longitudinal changes of biochemical parameters in muscle during critical illness. *Metabolism* 46, 756-762.
2. Rennie, M.J., Ahmed, A., Khogali, S.E., Low, S.Y., Hundal, H.S., and Taylor, P.M. (1996). Glutamine metabolism and transport in skeletal muscle and heart and their clinical relevance. *J Nutr* 126, 1142S-1149S.
3. Brack, A.S., and Rando, T.A. (2012). Tissue-specific stem cells: lessons from the skeletal muscle satellite cell. *Cell Stem Cell* 10, 504-514.
Mittendorfer, B., Gore, D.C., Herndon, D.N., and Wolfe, R.R. (1999). Accelerated glutamine synthesis in critically ill patients cannot maintain normal intramuscular free glutamine concentration. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 23, 243-250; discussion 250-242.
4. Montarras, D., L'Honore, A., and Buckingham, M. (2013). Lying low but ready for action: the quiescent muscle satellite cell. *FEBS J* 280, 4036-4050.
5. Relaix, F., and Zammit, P.S. (2012). Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development* 139, 2845-2856.

Posters flash

Caractérisation cytogénétique et histomoléculaire des tumeurs glioneuronales papillaires : intérêt diagnostique de la recherche de la fusion SLC44A1-PRKCA par FISH

Mélanie Pagès^{a*}, Felipe Andreiuolo^a, Joëlle Lacombe^a, Julia Bridge^b, Fabrice Chrétien^a, Pascale Varlet^a

^aNeuropathologie, hôpital Sainte-Anne, Paris, France

^bDepartment of pathology and microbiology, University of Nebraska Medical center, Omaha, États-Unis

* auteur correspondant : m.pages@ch-sainte-anne.fr

Objet : Les tumeurs glioneuronales papillaires (TGNP) sont des tumeurs mixtes glioneuronales rares de grade I d'identification récente dont les caractéristiques moléculaires sont peu étudiées et de diagnostic difficile. Une translocation chromosomique récurrente t(9;17)(q31;q24) engendrant une protéine de fusion SLC44A1-PRKCA a été récemment identifiée [1]. PRKCA est impliquée dans la voie des MAPkinases, fréquemment dérégulée dans les tumeurs glioneuronales (mutation activatrice BRAFv600e des gangliogliomes, fusion KIAA1549-BRAF des astrocytomes pilocytiques).

Méthodes : Nous rapportons 7 tumeurs pour lesquelles un diagnostic de TGNP a été initialement proposé. Trois d'entre elles étaient atypiques : 2 avaient des signes de malignité et 1 présentait une composante ganglionnaire. Une recherche de la fusion *PRKCA-SLC44A1* par FISH a été réalisée. Le statut BRAF dans les tumeurs glioneuronales a été étudié par biologie moléculaire et/ou immunohistochimie. La spécificité de cette fusion a également été étudiée par l'analyse de cas de tumeurs primitives d'architecture papillaire posant un problème de diagnostic différentiel avec les TGNP.

Résultats : La fusion *PRKCA-SLC44A1* a été observée dans 3 des 4 cas typiques qui par ailleurs ne présentaient pas d'altération de BRAF. La recherche de la fusion était négative dans les TGNP atypiques et la tumeur avec contingent ganglionnaire présentait une mutation BRAFv600e. Aucune tumeur autre que TGNP ne présentait la translocation.

Conclusion : Ces données tendent à confirmer que les TGNP constituent une entité distincte de tumeur glioneuronale avec atteinte de la voie des MAPkinases. La fusion *PRKCA-SLC44A1* paraît spécifique des TGNP, sa recherche par FISH représente un outil diagnostique supplémentaire pour l'identification de cette tumeur rare.

Mots clés : Tumeur glioneuronale papillaire - Caractéristiques histomoléculaires - Fusion SLC44A1-PRKCA - MAPkinases - Outil diagnostique

Références bibliographiques

1. Bridge JA, Liu X, Sumegi J, Nelson M, Reyes C, Bruch LA, et al. Identification of a Novel, Recurrent SLC44A1-PRKCA Fusion in Papillary Glioneuronal Tumor. *Brain Pathology*. 1 mars 2013;23(2):121-8.

Exposition néonatale aux perturbateurs endocriniens estrogéniques : programmation de l'infertilité masculine par des mécanismes épigénétiques

Claire Mauduit^{a,c*}, Nadjem Lakhdari^a, Bénazir Siddeek^a, Lilia Inoubli^a, Véronique Isnard^b, Mohamed Benahmed^{a,b}

^a Inserm U 1065 Equipe 5, C3M Nice, France

^b Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Nice, Nice, France

^c Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU de Lyon Pierre-Bénite, France

* auteur correspondant : mauduit@univ-lyon1.fr

Objet : Les maladies non transmissibles (NMT, syndrome métabolique, diabète, obésité, certains cancers, infertilité) représentent un problème majeur de santé publique. En 1989, D. Barker [1] a montré que le syndrome métabolique de l'adulte était lié aux événements précoces de la vie (malnutrition pendant la période périnatale). Plus largement, ces dernières années ont vu l'émergence du concept de programmation périnatale de certaines MNT. L'infertilité masculine serait, dans certains cas, liée à une exposition à des molécules perturbateur endocrinien (PE) estrogénique (pesticides, plastifiants). Le but de notre étude était d'identifier des mécanismes d'action des PE.

Méthode : Nous avons développé un modèle de rats mâles exposés entre le 1^o et le 5^o jour après la naissance à un PE l'estradiol benzoate.

Résultats : Les rats adultes présentent une hypospermatogenèse/infertilité dépendante de la dose administrée. Ce phénotype est lié à une apoptose accrue dans les cellules germinales méiotiques. Nous montrons que ce phénotype est lié à une altération de l'expression d'effecteurs épigénétiques avec une augmentation d'ARNs non-codant, miR-29 et 18a, qui entraîne une diminution de l'expression leurs cibles les DNA méthyltransférases et les protéines de choc thermiques (HSP70). La diminution de ces protéines entraîne une diminution d'expression des protéines antiapoptotiques et une augmentation des proapoptotiques et l'apoptose des cellules germinales adultes. L'altération des miRs est observée aussi bien au niveau tissulaire que plasmatique.

Conclusion : Notre travail montre qu'une exposition périnatale à un PE estrogénique programme une infertilité chez l'adulte via une altération d'une voie de signalisation épigénétique.

Mots clés : épigénétique - infertilité masculine - perturbateur endocrinien

Références bibliographiques

1. Barker DJ, Winter PD, Osmond C, Margetts B and Simmonds SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet* 1989;2: 577-580.

Myopathies inflammatoires et dysimmunitaires : nouveaux marqueurs, nouveaux concepts

Jessie Aouizerate^{a*}, Muriel Rigolet^b, Guillaume Bassez^a, Yasmine Baba-Amer^b, Romain K Gherardi^a, François Jérôme Authier^a

^aCentre de Référence des Maladies Neuromusculaires, GNMH, APHP, Créteil, France

^bUMR Inserm/UPEC U955-Equipe 10 Biologie du Système Neuromusculaire, UMR Inserm/UPEC, Créteil, France

*auteur correspondant : jessieaouizerate@gmail.com

Les myopathies inflammatoires et dysimmunitaires (MID) idiopathiques sont divisées en trois principaux groupes sur la base de critères morphologiques et immunopathologiques : (i) polymyosite (PM) et myosite à inclusions (IBM), (ii) dermatomyosite (DM), et (iii) myopathie nécrosante auto-immune. Les MID peuvent également s'intégrer dans le cadre d'une connectivite ou s'associer à une atteinte systémique extra-musculaire multi-systémique (myosite de chevauchement), comme dans le cas des patients avec auto-anticorps anti-synthétases. Nous avons montré que la myopathie associée aux anticorps anti-synthétases était caractérisée par une expression myocytaire périfasciculaire d'HLA-DR associée à des signes d'activation du complément avec formation de C5b-9 myocytaire. Ce patron immunopathologique est différent de ceux observés dans les autres types de MID et constitue donc un biomarqueur distinctif de myopathie anti-synthétase (*Acta Neuropathol Commun.* 2014;2:154). Nous avons évalué la valeur diagnostique de l'expression myocytaire d'HLA-DR sur 160 biopsies musculaires. Une expression myocytaire d'HLA-DR était observée dans 13/160 cas (8%), de type périfasciculaire (7/13) ou multifocale (6/13). Les principaux diagnostics reliés à l'expression d'HLA-DR étaient la myosite de chevauchement (5/13, périfasciculaire 4/5) et la myosite à inclusion (4/13, multifocal). Ces résultats confirment l'existence d'un patron immunopathologique caractéristique des myosites de chevauchement caractérisé par l'expression myocytaire périfasciculaire d'HLA-DR.

Mots clés : Myopathies inflammatoires - HLA-DR - Anti-synthétases - biomarqueur

Références bibliographiques

1. *Acta Neuropathol Commun.* 2014;2:154
2. *Neuromuscular Disorders* 14 (2004) 337–345

Lipocalin2 is an early marker of endothelial activation during sepsis

Aurélien Mazeraud*, Tarek Sharshar, Patricia Flamant, Fabrice Chrétien

Unité Histopathologie humaine et modèles animaux, Institut Pasteur, Paris

* *auteur correspondant : aurelien.mazeraud@pasteur.fr*

Association of infection with systemic inflammation defines sepsis. It affects 950,000 patients per year in Europe and the mortality varies from 26% to 60%. In 60% of cases, sepsis induces acute brain dysfunction (SIBD) clinically characterized by altered consciousness ranging from confusion to coma. SIBD is correlated with long-term psycho-cognitive dysfunctions and dementia, and represents a major public health issue¹. Interestingly, SIBD is not due to direct brain infection, but rather driven by peripheral inflammatory mediators. These mediators affect primarily blood brain barrier functions causing endothelial activation and microvascular dysfunctions, leading then to intraparenchymal glial dysfunctions and ultimately neurotoxic effects. However, neither a clear scenario of these events nor molecular key drivers of SIBD have been defined, compromising the design of targeted therapies. Our project is to define key pathophysiological targets of SIBD. We focused on Lipocalin2 (Lcn2), a protein recently found to be upregulated in several neuroinflammatory contexts. Here, we studied the expression of Lcn2 in the brain during sepsis.

Experiments were performed in the cecal ligation and puncture (CLP) mouse model for sepsis, which consists of an induced fecal peritonitis. Control mice (Sham) were submitted to skin incision only. In the cortex, hippocampus, and cerebellum, we found an 1000 fold increase in Lcn2 mRNA in CLP mice compared to Sham, associated to the upregulation of inflammatory cytokines TNFalpha and IL1beta. We localized Lcn2 upregulation by *in situ* hybridization and immunohistochemistry mostly in endothelial cells. We confirmed the Lcn2 upregulation performing qPCR on purified brain vessels 4h post-CLP, that paralleled the upregulation of ICAM, an endothelial activation marker.

Altogether, these results suggest that endothelial activation is probably one of the earliest mechanisms induced by peritonitis in the brain, and that Lcn2 upregulation may participate to this regulation. Together, they might therefore be instrumental in neuroinflammatory processes leading to SIBD.

Mots clés : sepsis - sepsis associated encephalopathy - Neuroinflammation - Dementia - endothelial activation

Références bibliographiques

1. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA* 2010 Oct 27;304(16):1787-94
2. Adam N, Kandelman S, Mantz J, Chrétien F, Sharshar T. Sepsis-induced brain dysfunction. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013 Feb;11(2):211-21

L'inhibition sélective des BET bromodomaines comme traitement potentiel de l'ostéoporose

Marc Baud'huin^{a*}, François Lamoureux^b, Dominique Heymann^a, Benjamin Ory^a

^a*Histologie Embryologie, Université de Nantes Faculté de Médecine, Nantes Cedex, France*

^b*INSERM U957, Université de Nantes, Nantes Cedex, France*

*auteur correspondant : marc.baudhuin@univ-nantes.fr

Objectif : Avec l'allongement de l'espérance de vie, l'ostéoporose et ses fractures associées représentent un véritable problème de santé publique. Cette maladie du squelette est caractérisée par une diminution de la masse de l'os et une détérioration de la structure interne du tissu osseux. Ces atteintes osseuses sont le résultat d'une dérégulation du remodelage osseux. Récemment, notre équipe a montré que l'inhibition sélective de protéines BET impliquées dans le signal épigénétique était un traitement prometteur des tumeurs osseuses primaires [1]. En effet, cette stratégie thérapeutique présentait une activité anti-tumorale mais également une action bénéfique sur le remodelage osseux. Ainsi, le but de notre étude est d'évaluer l'intérêt thérapeutique, dans l'ostéoporose, de l'inhibition des protéines BET par un agent chimique (JQ1).

Matériel et méthodes : Un modèle d'ostéoporose chez la souris (ovariectomie) a permis de mesurer l'efficacité du JQ1 sur la masse et l'architecture osseuses (microtomodensitométrie) ainsi que sur les propriétés mécaniques des os. Le mécanisme moléculaire a été évalué *in vitro* dans les ostéoclastes et les ostéoblastes par qRT-PCR et ChromatinIP.

Résultats : L'agent pharmacologique JQ1 est capable d'augmenter la masse osseuse (+125 %) de souris présentant une ostéoporose établie. Le traitement améliore également les propriétés mécaniques du tissu osseux (+17.7% de dureté) chez ces animaux. Cette observation est corrélée à une forte diminution de la différenciation et de l'activité des ostéoclastes *in vitro*. En effet, l'inhibition des BET protéines par JQ1 conduit à une diminution d'expression du facteur de transcription NFATc1, essentiel dans le processus de différenciation.

Conclusion : Nos travaux ont permis de mettre en évidence que l'inhibition des BET protéines peut être une nouvelle approche thérapeutique dans le traitement des pathologies ostéolytiques telles que l'ostéoporose.

Mots clés : Ostéoporose - Bromodomaines - Ostéoclastes

Références bibliographiques

1. Lamoureux F, Baud'huin M, Rodriguez Calleja L, Jacques C, Berreur M, Redini F, et al. Selective inhibition of BET bromodomain epigenetic signalling interferes with the bone-associated tumour vicious cycle. *Nature communications*. 2014;5:3511.

L'activation de LXR β permet la pyroptose des cellules cancéreuses coliques humaines et murines

Valentin Derangère^{a*}, Angélique Chevriaux^b, Sylvain Ladoire^b, François Ghiringhelli^b, Cédric Rébé^b

^aInserm U866, Dijon

^bCentre Georges François Leclerc, Inserm U866, Dijon

*auteur correspondant : derangere.valentin@neuf.fr

Objectifs : Le cancer du côlon reste un problème majeur de santé publique puisqu'il constitue le quatrième cancer en termes de décès dans le monde [1]. La chirurgie, la radiothérapie et les traitements par chimiothérapies classiques secondés par les thérapeutiques ciblées ne constituent pas toujours un arsenal efficace mettant ainsi en évidence la nécessité de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques. Dans ce contexte, nous avons étudié les effets des ligands du récepteur *Liver X Receptor* (LXR), des molécules décrites comme prometteuses dans le traitement de plusieurs types de cancers [2, 3], mais dont le mécanisme d'action reste flou ou limité à des effets transcriptionnels sur la prolifération cellulaire [4].

Méthodes : Modèles cellulaires humains et murins, modèles *in vivo*.

Résultats : Les agonistes synthétiques ou naturels peuvent activer une mort de type pyroptotique de manière non transcriptionnelle dans les cellules cancéreuses coliques humaines et murines en permettant la construction de l'inflammasome, une plateforme cellulaire menant au clivage de la caspase-1 et à la mort cellulaire. Ce mécanisme est expliqué par une localisation cytoplasmique et péri-membranaire du récepteur LXR β , permettant son interaction avec la pannexine-1, un pore membranaire responsable de l'efflux d'ATP, activateur important de l'inflammasome.

Conclusions : Nous soulignons le potentiel thérapeutique des agonistes de LXR dans le cancer colorectal par un mécanisme non transcriptionnel entraînant une mort atypique, la pyroptose. Nos résultats préliminaires semblent de plus indiquer que la localisation de LXR β joue un rôle prédictif majeur dans la réponse aux agonistes du récepteur LXR.

Mots clés : Cancer colique - Inflammasome - LXR

Références bibliographiques

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 7-33.
2. Chuu CP. Modulation of liver X receptor signaling as a prevention and therapy for colon cancer. *Med Hypotheses* 2011; 76: 697-699.
3. Chuu CP, Kokontis JM, Hiipakka RA, Liao S. Modulation of liver X receptor signaling as novel therapy for prostate cancer. *J Biomed Sci* 2007; 14: 543-553.
4. Vedin LL, Gustafsson JA, Steffensen KR. The oxysterol receptors LXRalpha and LXRbeta suppress proliferation in the colon. *Mol Carcinog* 2013; 52: 835-844.

Une mutation postzygotique activatrice de *FGFR2* est responsable d'une forme sévère et atypique de naevus sébacé en prénatal

Paul Kuentz^{a*}, Sylvie Fraitag^b, Pierre Vabres^c, Marie Gonzales^d, Laurence Faivre^e, Jean-Baptiste Rivière^f

^aGénétique Biologique - Histologie, CHU Besançon, Besançon, France

^bAnatomie et Cytologie Pathologiques, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, Paris, France

^cDépartement de Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France

^dUnité de Pathologie fœtale et placentaire, Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Groupe Hospitalier Armand Trousseau-La Roche Guyon, Paris, France

^eCentre de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France

^fEA 4271, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France

* auteur correspondant : pkuentz@chu-besancon.fr

Objet : Le naevus sébacé (NS) est une lésion congénitale de la peau, localisée de manière prédominante au niveau du crâne et du visage. Il a été décrit une présentation phénotypique variable et inhabituelle de NS chez des nouveaux-nés, caractérisée par des lésions pédiculées et sessiles de distribution asymétrique [1,2]. Nous rapportons une forme comparable de NS atypique et sévère chez trois fœtus, sans anomalie extracutanée associée.

Méthodes : L'examen histologique des lésions des trois fœtus a montré la présence d'un hamartome verruqueux dans une forme hyperplasique compatible avec un NS à un stade immature. Chez le premier fœtus, le séquençage de *HRAS*, *KRAS* et *AKT1* a permis d'éliminer un syndrome de Schimmelpenning (SS). Le séquençage de l'exome en trio a ensuite été réalisé.

Résultats : Il a permis d'identifier une variation postzygotique de *FGFR2*, p.Cys382Arg. La même variation a ensuite été retrouvée chez le deuxième fœtus, présentant un phénotype similaire bien que moins sévère. Le troisième fœtus est en cours d'analyse.

Conclusion : *FGFR2* est impliqué dans la voie moléculaire Ras, or on retrouve une variation de *HRAS* et *KRAS* dans 100 % des NS [3]. La variation p.Cys382Arg de *FGFR2* est comparable à la variation activatrice p.Gly380Arg de *FGFR3* en position paralogue [4], retrouvée dans les naevi épidermiques [5] et dans des processus néoplasiques du tractus urinaire. Du fait de la responsabilité de variations constitutionnelles de *FGFR2* et *FGFR3* dans des syndromes avec craniosténose, alors que des variations somatiques de *FGFR3* sont retrouvées dans les naevi épidermiques, nous faisons l'hypothèse que le même paradigme est vrai pour *FGFR2*, c'est-à-dire qu'une variation postzygotique de *FGFR2* est responsable d'une forme sévère et atypique de NS distincte du SS. Les inhibiteurs des *FGFRs* représenteront probablement à l'avenir une nouvelle possibilité thérapeutique de ces formes sévères de NS, à côté de l'excision chirurgicale.

Mots clés : naevus sébacé - prénatal - *FGFR2* – postzygotique

.../...

.../...

Références bibliographiques

1. Correale D, Ringpfeil F and Rogers M. Large, papillomatous, pedunculated nevus sebaceus: a new phenotype. *Pediatr. Dermatol.* 2008;25 : 355-358
2. Lin HC, Lee JY, Shieh SJ and Hsu CK. Large, papillomatous and pedunculated nevus sebaceus. *J. Dermatol.* 2011;38 : 200-202
3. Groesser L, Herschberger E, Ruetten A, Ruivenkamp C, Lopriore E, Zutt M et al. Postzygotic HRAS and KRAS mutations cause nevus sebaceous and Schimmelpenning syndrome. *Nat. Genet.* 2012;44 : 783-787
4. Monsongo-Ornan E, Adar R, Feferman T, Segev O and Yayon, A. The transmembrane mutation G380R in fibroblast growth factor receptor 3 uncouples ligand-mediated receptor activation from down-regulation. *Mol. Cell. Biol.* 2000;20 : 516-522
5. Hafner C, van Oers JM, Vogt T, Landthaler M, Stoehr R, Blaszyk H et al. Mosaicism of activating FGFR3 mutations in human skin causes epidermal nevi. *J. Clin. Invest.* 2006;116 : 2201-2207

Effets cellulaires des auto-anticorps anti-récepteurs N-Méthyl-D-Aspartate dans un modèle *in vivo* murin d'encéphalite

Aude Chefdeville^{a*}, Marie-Eve Mayeur^a, Chloé Bost^a, Serge Marty^b, Gaël Malleret^c,
Véronique Rogemond^d, Jérôme Honnorat^a, Olivier Pascual^a, Virginie Desestret^a

^a*Equipe Neuro-oncologie Neuro-Inflammation, CRNL, Inserm U1028 CNRS UMR 5292, Lyon, France*

^b*Ibens, Inserm U1024 CNRS UMR8197, Paris, France*

^c*Equipe Forgetting, CRNL, Inserm U1028 CNRS UMR 5292, Lyon, France*

^d*Centre de Référence des Syndromes Neurologiques Paranéoplasiques, Hôpital P. Wertheimer, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France*

**auteur correspondant : a.chefdeville@hotmail.fr*

Objet : L'encéphalite à anticorps anti-récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDAR) est une affection neuropsychiatrique auto-immune liée à la présence d'auto-anticorps anti-NMDAR dans le sérum et le liquide cérébro-spinal [1]. Les NMDAR sont impliqués dans les processus de plasticité synaptique et leur dysfonctionnement peut causer à une altération de la morphologie des épines dendritiques et une perte neuronale. Les microglies, cellules immunes du système nerveux central sont potentiellement activées par les immunoglobulines (Ig) et ainsi susceptibles de contribuer à la physiopathologie de la maladie. Cette étude porte sur l'effet des IgG de patients atteints d'encéphalite à anti-NMDAR sur la morphologie neuronale et l'activation microgliale dans un modèle *in vivo*.

Méthodes : Une canule d'infusion intra-septale reliée à une mini-pompe osmotique délivrant des IgG de patients ou contrôles pendant 7 jours est implantée à des souris. La diffusion des IgG dans l'hippocampe est vérifiée par immunohistochimie. L'impact fonctionnel sur la mémoire est évalué par un test de peur conditionnée. La perte neuronale et la morphologie synaptique sont étudiées par microscopie électronique. L'état d'activation des cellules microgliales est évalué par immunomarquage anti-IBA1.

Résultats : L'exposition hippocampique aux anti-NMDAR de patients n'entraîne pas de diminution de la hauteur du *stratum pyramidale*, du nombre de noyau neuronal ou de la densité synaptique. L'infusion d'IgG de patients induit une augmentation de la surface microgliale dans l'hippocampe (IgG contrôles : $6 \pm 1.1\%$; IgG de patients : $8.3 \pm 1.6\%$).

Discussion : Cette étude préliminaire n'a pas révélé d'effet morphologique des IgG de patients sur la densité neuronale ou synaptique. La morphologie des épines par reconstitution 3D est en cours d'étude. L'augmentation de la surface microgliale suggère une hyper-ramification des cellules microgliales causée spécifiquement par les anticorps anti-NMDAR.

Mots clés : Récepteur NMDA - Encéphalite - Autoanticorps - Microglie - Morphologie Synaptique

Références bibliographiques

1. Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol* 2011;10 : 67-74

**Résumés
des communications**

**SESSION 2
Prolifération et
développement embryonnaire**

Conférence plénière

Cell lineage differentiation in the Inner Cell Mass during mouse preimplantation

Claire Chazaud*

GReD, CNRS6293/Inserm 1103/Univ. Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand, France

**auteur correspondant : claire.chazaud@udamail.fr*

During blastocyst formation, inner cell mass (ICM) cells differentiate into either epiblast (Epi) or Primitive Endoderm (PrE) cells, labeled by *Nanog* and *Gata6*, respectively, and organized in a salt and pepper pattern. Previous work showed that in absence of *Nanog* all ICM cells adopt a PrE identity (1). Moreover, the activation or the blockade of the Fgf/RTK pathway biases cell fate specification toward either PrE or Epi, respectively. We have also showed recently that in absence of *Gata6* all ICM cells adopt an Epi identity. Moreover, the analysis of *Gata6*^{+/-} embryos reveals a dosage sensitive phenotype, with less PrE specified cells (2). These results and previous findings enabled the development of a mathematical model for the dynamics of the regulatory network controlling ICM differentiation into Epi or PrE cells (Collaboration with the group of A. Goldbeter/G. Dupont, ULB Brussels) (2). We will show here how our recent results integrate into the different hypotheses for the aetiology of Epi and PrE specification.

Mots clés : Preimplantation - mouse development - cell differentiation - stem cells

Références bibliographiques

1. Frankenberg S, Gerbe F, Bessonard S, Belville C, Pouchin P, Bardot O, Chazaud C. Primitive endoderm differentiates via a three-step mechanism involving *Nanog* and RTK signaling. *Dev Cell*. 2011 Dec 13;21(6):1005-13. doi:10.1016/j.devcel.2011.10.019. PubMed PMID: 22172669.
2. Bessonard S., De Mot L., Gonze D., Barriol M., Dennis C., Goldbeter A., Dupont G. and Chazaud C. *Gata6*, *Nanog* and Erk Signaling Control Cell Fate in the Inner Cell Mass through Tristability. *Development* 41(19):3637-48. doi: 10.1242/dev.109678. PMID: 25209243

Posters flash

Validation multicentrique des outils diagnostiques des réarrangements du gène *ALK* dans 547 adénocarcinomes pulmonaires

S. Lantuéjoul^a, I. Rouquette^b, H. Blons^c, N. Le Stang^d, M. Ilie^e, H. Begueret^f, V. Grégoire^g, P. Hofman^e, A. Gros^f, S. Garcia^h, N. Monhovenⁱ, M. Shisheboran-Devouassoux^j, A. Mansuet-Lupo^k, F. Thivolet^l, M. Antoine^m, J-M. Vignaudⁱ, F. Penault-Llorcaⁿ, F. Galateau-Sallé^d, A. McLeer-Florin^{a,*}

^a *Département d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Pôle de Biologie et de Pathologie, CHU A. Michallon, CS 10217, Grenoble, Université Joseph Fourier - Inserm U 823, Institut Albert Bonniot, La Tronche, France*

^b *Service d'Anatomie Pathologique IUCT Oncopole, Toulouse, France*

^c *Département de Biologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes Inserm S1147, Paris, France*

^d *Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques - Registre Mesonat, CHU Côte de Nacre, Caen, U1086 Inserm-UCBN "Cancers & Préventions", France*

^e *Laboratoire de Pathologie Clinique et Expérimentale et Biobanque, Hôpital Pasteur, Centre Hospitalo-Universitaire de Nice, Université de Nice Sophia Antipolis, Nice1, France*

^f *Service d'Anatomie Pathologique, Service de Biologie des Tumeurs, CHU Haut-Levêque, Pessac, France*

^g *Institut de Pathologie, Centre de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille, Lille, France*

^h *Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Nord, Marseille, France*

ⁱ *Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Central, Nancy, France*

^j *Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France*

^k *Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpitaux universitaires Paris centre, Hôtel Dieu, Paris, France*

^l *Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Louis Pradel, Bron, France*

^m *Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Tenon, Paris, France*

ⁿ *Service d'Anatomie Pathologique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France*

* *auteur correspondant : aflorin@chu-grenoble.fr*

Contexte : les réarrangements du gène *ALK* dans les adénocarcinomes pulmonaires (ADK) induisent une activation constitutive de la kinase *ALK*, ciblable par le crizotinib (1, 2). Bien que la FISH (hybridation in situ fluorescente) soit la technique de référence pour le diagnostic de ces réarrangements, l'immunohistochimie (IHC) pourrait être utile en tant qu'outil de préscreening.

But de l'étude : comparer les techniques d'IHC, FISH et RTqPCR *ALK* réalisées par 14 plateformes de génétique moléculaire des cancers (PGMC).

Matériel et méthodes : pour cette étude méthodologique, 547 ADK, enrichis en prélèvements chirurgicaux et en cas positifs, ont été analysés, en utilisant les anticorps 5A4 et D5F3 (IHC), 2 sondes break-apart (FISH), et des kits TaqMan (RT-qPCR), et les données clinicopathologiques des patients renseignées.

Résultats : 140 tumeurs présentaient un réarrangement du gène *ALK* par FISH ($\geq 15\%$ de cellules réarrangées) et 400 étaient négatives ($< 15\%$). La FISH était ininterprétable pour 7 cas. Les patients *ALK*-positifs étaient plutôt jeunes ($p=0,003$), en majorité des femmes ($p=0,007$) et petits- ou non-fumeurs ($p<0,0001$). Treize cas FISH-positifs étaient négatifs par IHC, dont 6 avec une FISH entre 15 et 20%. Huit cas avaient une IHC positive, avec une FISH entre 10 et 14%. 8/13 cas IHC/FISH discordants venaient d'une même PGMC. .../...

.../...

La sensibilité et la spécificité des anticorps 5A4 et D5F3 était de 87% et 92%, et 89% et 76%, respectivement. Le pourcentage de faux-négatifs de l'IHC, observés dans 2,4% des cas, s'abaissait à 1,3% pour les cas avec FISH >20%. Aucun variant de transcription n'a été détecté dans 36% des cas ALK-positifs.

Conclusion : l'analyse des résultats a mis en évidence que les discordances IHC/FISH sont plus fréquentes pour les cas « borderline » (FISH entre 10 et 20%), et qu'elles sont PGMC-dépendantes. L'IHC est donc un outil de préscreening fiable pour la détection des réarrangements du gène *ALK*.

Mots clés : adénocarcinome pulmonaire, ALK, immunohistochimie, FISH

Références bibliographiques

1. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007 Aug 2;448(7153):561-6.
2. Camidge DR, Doebele RC. Treating ALK-positive lung cancer--early successes and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012 May;9(5):268-77.

Mécanismes moléculaires de la surexpression de *hTERT* dans le cancer du sein

Mathilde Gay-Bellile^{a*}, Lauren Véronèse^a, Patricia Combes^a, Eleonore Eymard-Pierre^a, Fabrice Kwiatkowski^b, Marie Mélanie Dauplat^c, Maud Privat^d, Catherine Abrial^b, Gwendoline Soler^a, Yves-Jean Bignon^d, Philippe Vago^e, Frédérique Penault-Llorca^f, Andreï Tchirkov^g

^aCytogénétique Médicale/EA 4677 ERTICa, CHU Estaing Clermont-Ferrand/Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

^bRecherche Clinique/EA 4677 ERTICa, Centre Jean Perrin/Université d'Auvergne, 63000, France

^cAnatomo-Pathologie/EA 4677 ERTICa, Centre Jean Perrin/Université d'Auvergne, 63000, France

^dOncogénétique/EA 4677 ERTICa, Centre Jean Perrin/Université d'Auvergne, 63000, France

^eCytogénétique Médicale/EA 4677 ERTICa, Centre Jean Perrin/Université d'Auvergne, 63003, France

^fAnatomo-Pathologie/EA 4677 ERTICa, Centre Jean Perrin/Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

^gCytogénétique Médicale/EA 4677 ERTICa, CHU Estaing Clermont-Ferrand/Université d'Auvergne, 63000, France

* auteur correspondant : mgay-bellile@chu-clermontferrand.fr

Objectif : L'activation de la télomérase est essentielle pour la survie des cellules tumorales. L'expression de sa sous-unité catalytique *hTERT* est le facteur limitant pour cette activation. Notre objectif était d'étudier les mécanismes de la surexpression de *hTERT* et leur impact clinique dans le cancer du sein.

Matériel et Méthodes : Le statut mutationnel du promoteur de *hTERT* a été déterminé par séquençage de l'ADN tumoral chez 104 patientes atteintes de carcinomes canauxaires invasifs et traitées par chimiothérapie néoadjuvante. Le nombre de copies du locus *hTERT* a été évalué par CGH array (8x60K, Agilent). Les données obtenues ont été corrélées à l'expression de *hTERT* et aux paramètres cliniques (réponse thérapeutique, survie).

Résultats : Aucune des mutations somatiques décrites comme responsables de la surexpression de *hTERT* n'a été mise en évidence. En revanche, le gain du locus *hTERT* a été corrélé à une surexpression du gène ($p=0,0092$). Le SNP rs2853669 a été retrouvé chez 40% des patientes mais n'était pas corrélé à la surexpression de *hTERT*. Par contre, il était associé à une réponse histologique incomplète ($p=0,019$) et une diminution de la survie sans rechute ($p=0,026$).

Discussion : Dans le cancer du sein, le gain du locus *hTERT* semble plus impliqué dans la surexpression du gène que le statut du promoteur. Zhang et al. ont montré que l'amplification du gène *hTERT* participait à l'activation de la télomérase sur une petite cohorte de 19 cancers du sein [1]. Par ailleurs, il a été montré que le SNP rs2853669, dont la présence interrompt un site de fixation du facteur de transcription Ets2, affectait l'expression de *hTERT* dans le glioblastome [2] et la survie dans le cancer de la vessie [3] lorsqu'il était associé aux mutations. Nous mettons en évidence un impact clinique significatif de ce SNP isolé dans le cancer du sein.

.../...

.../...

Mots clés : Cancer du sein - mutations et polymorphismes du promoteur de hTERT - amplification du gène hTERT

Références bibliographiques

1. Zhang A, Zheng C, Lindvall C, Hou M, Ekedahl J, Lewensohn R, et al. Frequent amplification of the telomerase reverse transcriptase gene in human tumors. *Cancer Res.* 2000 Nov 15;60(22):6230-5.
2. Park CK, Lee SH, Kim JY, Kim JE, Kim TM, Lee ST, et al. Expression level of hTERT is regulated by somatic mutation and common single nucleotide polymorphism at promoter region in glioblastoma. *Oncotarget.* 2014 May 30;5(10):3399-407.
3. Rachakonda PS, Hosen I, de Verdier PJ, Fallah M, Heidenreich B, Ryk C, et al. TERT promoter mutations in bladder cancer affect patient survival and disease recurrence through modification by a common polymorphism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013 Oct 22;110(43):17426-31.

Exploration cytogénétique des produits de fausse couche spontanée par « Prénatal BoBs™ »

Sarah Mellali^{a*}, Laetitia Gouas^b, Stéphan Kémény^b, Carole Goumy^b, Khadidja Haoud^a, Gaëlle Salaun^b, Céline Pebrel-Richard^b, Eléonore Pierre^b, Soraya Moulessehoul^a, Philippe Vago^b

^aLaboratoire de Biotoxicologie, Université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbès, Algérie

^bCytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

*auteur correspondant : sara.mellali@yahoo.fr

Objet : Les anomalies chromosomiques sont responsables de 50% des fausses couches spontanées (FCS). Le caryotype standard est jusqu'à maintenant la méthode de référence pour l'étude cytogénétique des produits de FCS. Cependant, il est souvent impossible à établir du fait de la mauvaise qualité de certains prélèvements (macération) à l'origine d'une absence de prolifération des cellules en culture et donne souvent des résultats erronés du fait d'une contamination du prélèvement par des cellules maternelles. Récemment, une nouvelle approche moléculaire, appelée Bacs-on-Beads, a été décrite comme un examen fiable pour la détection rapide des aneuploïdies en prénatal (Prénatal BoBs™) ou pour les produits de FCS (KaryoLites BoBs™). Dans cette étude, nous rapportons notre expérience clinique de l'étude des produits de FCS par le Prénatal BoBs™.

Méthodes : Soixante dix-sept prélèvements (44 villosités chorales issues de produit de curetage, 12 placenta, 9 liquides amniotiques et 37 biopsies cutanées) ont fait l'objet d'une recherche des aneuploïdies les plus fréquentes et de microremaniements pour neuf régions chromosomiques impliquées en pathologie fœtale et postnatale. Quand cela a été possible, le caryotype standard a été établi.

Résultats : Nous avons diagnostiqué par Prénatal BoBs™ un cas de trisomie 21 et un cas de délétion 17p13.3 qui, après caractérisation par analyse chromosomique sur puce à ADN, s'est avérée être une délétion de 2,3 Mb ne comprenant pas les gènes responsables du syndrome de Miller-Diecker. Le Prénatal BoBs a été concluant dans 57 cas pour lesquels le caryotype n'a pu être réalisé en raison d'une absence de prolifération cellulaire. Néanmoins, dans 11% des cas l'examen par Prénatal BoBs™ n'a pas été concluant.

Conclusion : Le Prénatal BoBs™ peut être utilisée dans l'exploration cytogénétique des produits de FCS et constitue une bonne alternative aux techniques conventionnelles comme le caryotype notamment pour les prélèvements présentant un état de macération avancé.

Mots clés : Produit de fausse couche - anomalie chromosomique - analyse cytogénétique - Prénatal BoBs™

Microdissection virtuelle par analyse des réseaux de co-expression génique : application à l'identification des profils moléculaires macrophagiques et lymphocytaires T dans le glioblastome

Serge Nataf*, Laurent Pays

Laboratoire CarMeN Inserm U-1060 INRA USC-1260, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

*auteur correspondant : serge.nataf@inserm.fr

Objet : Le développement de nouvelles méthodes d'analyse bio-informatique offre l'opportunité de ré-interpréter un grand nombre de données transcriptomiques antérieurement publiées (1). Parmi ces nouvelles approches figure l'étude des réseaux de co-expression génique.

Méthodes : Une méta-analyse des réseaux de co-expression génique a été réalisée sur 2 larges sets de données transcriptomiques portant sur le glioblastome mésoenchymateux et le glioblastome non mésoenchymateux.

Résultats : L'utilisation des gènes de référence CD14 pour les monocytes/macrophages et CD3d/CD3g/ CD3e/CD3z pour les lymphocytes T a permis de cartographier dans chaque type de tumeur des réseaux de co-expression génique très significativement enrichis en transcrits spécifiques des monocytes/macrophages ($p = 8.20e-15$; $p = 1.50e-19$) ou des lymphocytes T CD8 ($p = 6.46e-9$; $p = 1.41e-8$). Dans le glioblastome mésoenchymateux, le profil moléculaire des monocytes/macrophages présente deux particularités importantes : i) une sur-représentation de gènes associés à la migration leucocytaire ($p = 1.49e-8$) et ii) la présence des transcrits Alox5 et Alox5-AP signant une activation de la voie de synthèse des leukotriènes.

Conclusion : Notre étude montre la faisabilité d'une approche bio-informatique de microdissection virtuelle pour l'analyse moléculaire *in situ* de populations cellulaires intra-tumorales minoritaires. Nos résultats mettent en évidence les similitudes et spécificités de la réponse immune dans les deux grandes catégories de glioblastome.

Mots clés : glioblastome - bio-informatique - monocytes/macrophages - lymphocytes T

Références bibliographiques

1. Rung J and Brazma A. Reuse of public genome-wide gene expression data. Nat Rev Genet. 2013 Feb;14(2):89-99.

Approches Expérimentales de la Neuroprotection

Mohamed Jaber^{a*}, Afsaneh Gaillard^b

^aLaboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Inserm 1084, Université de Poitiers, Poitiers, France

^bInserm 1084, Université de Poitiers, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France

*auteur correspondant : mohamed.jaber@univ-poitiers.fr

Le cerveau adulte est capable de plasticité et d'adaptation à une échelle encore sous-estimée. Nous aborderons cette question avec trois exemples obtenus dans des modèles animaux d'affections neurologiques pour démontrer que le cerveau est capable de réparation et d'intégration de nouvelles cellules pour rétablir une connectivité physiologique. Ces travaux sont centrés sur la stimulation des cellules souches endogènes en terme de prolifération et de différenciation. Nous décrirons aussi les mécanismes cellulaires de neuroprotection capables de freiner la mort cellulaire et de protéger les neurones restants d'agressions toxiques extérieurs.

Ces séries d'études soulignent la grande plasticité du cerveau adulte et ouvrent la voie vers des nouvelles perspectives thérapeutiques dans le domaine de la réparation cellulaire.

Mots clés : Dopamine - Cellules souches - neuropeptide Y - maladie de Huntington - Phénotypage

Références bibliographiques

1. Decressac M, Pain S, Chabeauti PY, Frangeul L, Thiriet N, Herzog H, Vergote J, Chalon S, Jaber M, Gaillard A. Neuroprotection by neuropeptide Y in cell and animal models of Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2012 Sep;33(9):2125-37.
2. Saha B, Peron S, Murray K, Jaber M, Gaillard A. Cortical lesion stimulates adult subventricular zone neural progenitor cell proliferation and migration to the site of injury. *Stem Cell Res*. 2013 Nov;11(3):965-77.

DSCAM, un nouveau gène soumis à empreinte parentale

Laïla El Khattabi^{a*}, Amélie Pinard^b, Stéphanie Backer^b, Evelyne Bloch-Gallego^b,
Hélène Jammes^c, Daniel Vaiman^b, Sandrine Barbaux^b

^a*Institut Cochin, Inserm U1016-CNRS UMR8104-Université Paris Descartes, Service de Cytogénétique, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France*

^b*Institut Cochin, Inserm U1016-CNRS UMR8104-Université Paris Descartes, Paris, France*

^c*UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction, INRA F-78350, Jouy-en-Josas, France*

* *auteur correspondant : laila.el-khattabi@cch.aphp.fr*

L'empreinte parentale est un phénomène épigénétique complexe qui régule l'expression monoallélique de certains gènes en fonction de l'origine parentale de l'allèle. Les gènes soumis à empreinte (GSE) participent au développement placentaire et fœtal. Des défauts d'empreinte de certains GSE entraînent des syndromes cliniques associant une pathologie placentaire à l'origine notamment d'un défaut de croissance fœtale, et des manifestations neuro-développementales. Environ 70 GSE ont été identifiés à ce jour chez l'homme. Nous avons développé une stratégie de criblage haut débit pour identifier de nouveaux GSE dans le placenta humain. Une première série de validation a permis de confirmer le statut d'empreinte d'une dizaine de nouveaux gènes (1).

Récemment, nous avons révélé le statut de GSE pour le gène *DSCAM* (Down Syndrome Cellular Adhesion Molecule). Ce gène qui se trouve dans la région critique du syndrome de Down, est ainsi le premier GSE identifié sur le chromosome 21. Notre étude montre que c'est l'allèle paternel qui est exprimé dans le placenta. Des résultats préliminaires nous laissent penser que l'empreinte de ce gène pourrait être régulée par une région différentiellement méthylée en amont du gène. L'étude par immunohistochimie de coupes placentaires montre une expression dans les cellules endothéliales et le syncytiotrophoblaste pouvant suggérer un rôle dans l'angiogénèse placentaire via son ligand Netrin. Une étude est en cours à partir d'un modèle cellulaire de trophoblaste avant et après syncytialisation pour analyser son rôle dans ce type cellulaire. Par ailleurs, *DSCAM* est connu pour son rôle dans la mise en place des connections interneurones (2). Une étude est en cours sur des modèles murins afin d'analyser le statut d'empreinte de ce gène dans le tissu nerveux et les conséquences d'un défaut d'expression de son ligand Netrin sur le développement placentaire.

Mots clés : DSCAM - Empreinte parentale - Placenta

Références bibliographiques

1. Barbaux S, Gascoïn-Lachambre G, Buffat C, Monnier P, Mondon F, Tonanny MB, Pinard A, Auer J, Bessières B, Barlier A, Jacques S, Simeoni U, Dandolo L, Letourneur F, Jammes H, Vaiman D. A genome-wide approach reveals novel imprinted genes expressed in the human placenta. *Epigenetics*. 2012 Sep;7(9):1079-90.
2. Hattori, D., Demir, E., Kim, H. W., Viragh, E., Zipursky, S. L., Dickson, B. J. Dscam diversity is essential for neuronal wiring and self-recognition. *Nature* 449: 223-227, 2007.

Etude du réarrangement du gène *RET* dans des adénocarcinomes pulmonaires

Marjorie Gournay^{a*}, Sarah Médane^b, Frédéric Duguay^a, Francisco Llamas-Gutierrez^b, Marc-Antoine Belaud-Rotureau^a, Florian Cabillic^a

^aService de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU de Rennes, Rennes, France

^bService d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Rennes, Rennes, France

*auteur correspondant : marjorie.gournay@chu-rennes.fr

Introduction : Les adénocarcinomes pulmonaires peuvent être causés par des mutations des gènes *EGFR* (10%) ou *KRAS* (30%), et des translocations du gène *ALK* (4%). La détection de ces oncogènes rend les patients éligibles à une thérapie ciblée par inhibiteurs de tyrosine kinases (TKI). Récemment, le gène *RET* qui code pour un récepteur à tyrosine kinase apparenté à *ALK*, a été décrit dans 2% des adénocarcinomes pulmonaires.

Matériel et Méthode : Au cours de l'année 2014, 951 prélèvements d'adénocarcinomes pulmonaires ont été adressés à la plateforme de biologie moléculaire des cancers de Rennes. Les prélèvements négatifs pour les mutations *KRAS/EGFR* et ne présentant pas de remaniement du gène *ALK* ont été testés par hybridation in situ en fluorescence pour évaluer leur statut *RET*. Les remaniements de *RET* ont été analysés avec des sondes Break-Appart (Zytovision). Le prélèvement était considéré réarrangé lorsque plus de 15% des cellules tumorales présentaient une séparation des signaux ou un signal 3' isolé.

Résultats : Sur 951 adénocarcinomes, 199 ont été testés pour un réarrangement de *RET*. Un réarrangement de *RET* a été mis en évidence dans 7 prélèvements (3,7%). Le ratio homme/femme était de 33% pour les cas *RET*-positifs, contre 63% dans la cohorte. L'âge moyen était de 71 ans pour les *RET*-positifs contre 65 ans dans la cohorte. Sur le versant anatomopathologique, 5 des 7 cas positifs présentaient une composante solide et deux une composante papillaire.

Discussion : Dans cette étude, 4% des adénocarcinomes négatifs pour les oncogènes recherchés selon les recommandations de l'INCa se sont avérés *RET*-positifs. Récemment, deux cas de réponse de patients *RET*-positifs à des TKI (cabozantinib et vandetanib) ont été rapportés. Ainsi, la détection du remaniement de *RET* pourrait permettre l'inclusion de patients dans des essais cliniques évaluant l'efficacité de ces TKI.

Mots clés : Adénocarcinome - *RET* - Pulmonaire - hybridation in situ en fluorescence - Inhibiteurs de tyrosine kinase

Références bibliographiques

1. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R et al. Identification of new *ALK* and *RET* gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med* 2012
2. Alexander Drilon, Lu Wang, Adnan Hasanovic, et al. Response to Cabozantinib in Patients with *RET* Fusion-Positive Lung Adenocarcinomas *Cancer Discovery* 2013;3:630-635
3. Falchook GS et al, Effect of the *RET* Inhibitor Vandetanib in a Patient With *RET* Fusion-Positive Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer *J Clin Oncol*. 2014 Nov 3

Physiopathologie des aneuploïdies : conséquences du déséquilibre chromosomique sur l'organisation nucléaire et l'expression globale du génome

Bérénice Hervé^{a*}, Aurélie Coussement^b, Thomas Guilbert^c, Florent Dumont^d, Sébastien Jacques^d, Laurence Cuisset^e, Mathieu Chicard^d, Pierre Bourdoncle^c, Franck Letourneur^d, Agnès Choiset^b, Jean-Michel Dupont^b

^aCytogénétique, CHI Poissy St Germain en Laye, Poissy, France

^bCytogénétique, APHP - Hôpital Cochin, Paris, France

^cPlate-Forme Cochin Imagerie, Institut Cochin, Paris, France

^dGenom'ic, Institut Cochin, Paris, France

^eBiochimie et Génétique Moléculaire, APHP - Hôpital Cochin, Paris, France

*auteur correspondant : herve.berenice@gmail.com

Objet : Dans le noyau interphasique, la chromatine est organisée en territoires chromosomiques (TC) [1]. Le lien entre cette organisation et la régulation de l'expression du génome reste méconnu. Afin de préciser cette organisation, nous avons étudié un modèle de désorganisation : les aneuploïdies en supposant que la présence d'un chromosome surnuméraire pouvait entraîner une perturbation de la distribution des TC, elle-même conduisant à une modification de l'activité transcriptionnelle.

Méthodes : Etude de la position des TC 18 et 21 par FISH 3D dans les noyaux interphasiques de fœtus aneuploïdes et témoins. Comparaison des volumes des noyaux et des TC. Parallèlement, une analyse transcriptomique comparative pangénomique des cellules a été réalisée afin d'objectiver des dérégulations d'expression.

Résultats : Nous n'avons pas observé de différence de positions des TC 18 et 21 entre les fœtus atteints et les témoins. Si les volumes nucléaires n'étaient pas modifiés, ceux des TC l'étaient. Nous avons mis en évidence des modifications d'expression d'une partie des gènes portés par les chromosomes d'intérêt; mais également de gènes sur les autres chromosomes.

Discussion : En cas d'aneuploïdie, l'organisation des TC aneuploïdes dans le noyau semble globalement respectée. Il existerait cependant une diminution du volume de ces TC sans modification du volume des noyaux, interrogeant au détriment de quel compartiment, se fait cette compaction. L'analyse transcriptomique renforce l'idée d'une combinaison d'un effet de dosage génique et d'une rupture de l'homéostasie : aux gènes dérégulés portés par les chromosomes trisomiques, s'ajoutent des modifications d'expression du reste du génome. Ces dérégulations concernent de multiples voies impliquées dans le développement mais aussi des gènes au potentiel rôle dans l'apparition de traits phénotypiques.

Conclusion : Il semblerait exister un lien entre le déséquilibre génique des chromosomes aneuploïdes et les dérégulations de l'ensemble du génome. La participation de la réorganisation des TC reste à affiner.

Mots clés : FISH 3D - aneuploïdie - territoire chromosomique - noyau interphasique - analyse transcriptomique

Références bibliographiques

- 1- Cremer T, Cremer C. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. Nat Rev Genet. 2001 Apr;2(4):292-301. Review.

Quantification de la fibrose tissulaire par spectroscopie infrarouge

Vincent Vuiblet^{a*}, Michael Fere^b, Philippe Birembaut^c, Olivier Piot^b, Philippe Rieu^d

^aLaboratoire Pol BOUIN, MeDyC UMR7369, Néphrologie, CHU de Reims, URCA, Reims, France

^bMeDyC UMR 7369, URCA, Reims, France

^cLaboratoire Pol BOUIN, CHU de Reims, Reims, France

^dNéphrologie, CHU de Reims, Reims, France

*auteur correspondant : vvuiblet@chu-reims.fr

Objet : La fibrose est l'accumulation de collagène tissulaire aux dépens des structures fonctionnelles normales. Ce processus est notamment mis en évidence au cours de l'insuffisance rénale chronique où l'importance de la fibrose interstitielle sur la biopsie rénale est corrélée avec la perte de fonction rénale. L'estimation de cette fibrose est un enjeu pronostic majeur qui repose actuellement sur une quantification subjective avec une grande variabilité intra et inter-observateur. D'autres techniques de quantifications ont été développées mais demeurent imparfaites. L'objectif est ici la validation de la quantification de la fibrose rénale (FR) par spectroscopie infrarouge (FTIR).

Méthode : La FR est quantifiée sur 166 biopsies de greffons rénaux par 4 techniques différentes : quantification subjective sur lames colorées, quantification colorimétrique automatisée, quantification par génération de seconde harmonique (SHG) et quantification par FTIR. Les différentes méthodes sont comparées entre elles, qualitativement et quantitativement. L'intérêt pronostic est étudié par analyse de la corrélation de chacune de ces méthodes avec l'évolution de la fonction rénale.

Résultats : L'analyse qualitative réalisée par comparaison entre l'analyse histologique et la FTIR montre une excellente classification des zones de FR, également retrouvée par comparaison avec l'analyse SHG. Par ailleurs, la FTIR est capable de discriminer les zones correspondant à du collagène constitutif (capsule, lames porte-vaisseaux,...) de celles correspondant à de la fibrose. La reproductibilité de l'analyse quantitative par SHG est médiocre compte-tenu d'un seuillage manuel. En revanche, il existe une bonne corrélation entre la quantification colorimétrique et par FTIR ($r = 0,297$ $p < 0,001$).

La quantification de la FR par FTIR montre une bonne corrélation avec la variation de la fonction rénale ($r = -0,316$ $p = 0,01$) ce qui n'est pas retrouvé avec la quantification colorimétrique.

Conclusion : La quantification de la fibrose interstitielle rénale par FTIR est reproductible et plus fiable qualitativement et quantitativement que les autres techniques actuellement disponibles.

Mots clés : fibrose interstitielle - quantification automatisée - spectroscopie infrarouge - analyse d'image

Les kinases pro-apoptotiques NDR1/2 sont nécessaires à la motilité des cellules de lignées épithéliales bronchiques humaines dépourvues de RASSF1A

Maureen Keller^{a*}, Alexander Hergovich^b, Fatéméh Dubois^a, Elodie Chevalier^a, Gerard Zalcman^c, Guénaëlle Levallet^a

^aLaboratoire OeReCa, Université de Caen, Caen, France

^bCancer Institute, University College London, London, Royaume-Uni

^cPneumologie, CHU de Caen, Caen, France

*auteur correspondant : maureen.keller@ymail.com

Objet : Notre équipe a, dans un précédent travail, démontré que la perte d'expression de la protéine d'échafaudage RASSF1A provoque la transition épithélio-mésenchymateuse et le gain de migration de cellules de lignées épithéliales bronchiques humaines. Notre objectif était ici d'identifier quelle(s) kinase(s) de la voie Hippo, parmi MST1/2, LATS1/2, NDR1/2, rend(ent) compte de l'effet pro-migratoire de la perte d'expression de RASSF1A par les cellules de lignées épithéliales bronchiques humaines.

Matériel et Méthode : Trois lignées épithéliales bronchiques humaines tumorigéniques (BEAS-2B) ou non (HBEC-3, HBEC-3RasV12) ont été transfectées par un siRNA inactif (si-Neg) ou ciblant l'une des kinases de la voie Hippo et/ou RASSF1A. A 48h post-transfection, un test de migration 2D (comblement de blessure) ainsi qu'un test d'invasion mesurant la capacité des cellules à traverser une membrane poreuse recouverte de Matrigel® sont réalisés.

Résultats : Nous démontrons qu'il est possible d'inhiber significativement l'augmentation de la vitesse de migration (2D ou invasion) que provoque la perte d'expression de RASSF1A par l'extinction concomitante, dans des cellules de lignées épithéliales bronchiques humaines, des kinases NDR1/2 tandis que i) l'extinction concomitante de la kinase LATS2 inhibe uniquement l'invasion des cellules n'exprimant plus RASSF1A, ii) l'extinction de LATS1 ou MST2 n'empêche pas le gain de migration des cellules n'exprimant plus RASSF1A et ii) au contraire, l'extinction seule de MST1 a déjà un effet pro-migratoire.

Conclusion : Notre travail démontre qu'inhiber les kinases NDR1/2, mises en cause jusqu'à ce jour que dans la régulation des processus de mort cellulaire, pourrait empêcher la dissémination des cellules tumorales n'exprimant plus RASSF1A. Les mécanismes moléculaires expliquant l'action pro-migratoire des kinases NDR1/2 sont actuellement en cours d'étude, ils pourraient impliquer la protéine inhibitrice d'apoptose cIAP1.

Mots clés : RASSF1A - NDR1/2 - Migration - Cancer bronchique non à petites cellules

Détermination de nouveaux paramètres d'analyse morphocinétique du développement embryonnaire pré-implantatoire humain

Nadia Kazdar*, Patricia Viard, Célia Ravel

Biologie de la Reproduction, CHU de Rennes, Rennes, France

*auteur correspondant : nadia.kazdar@chu-rennes.fr

Objet : Un enjeu majeur de l'aide médicale à la procréation, et en particulier de la fécondation in vitro, est la définition de critères de sélection du « meilleur » embryon, c'est-à-dire le plus apte à s'implanter dans la muqueuse utérine. Récemment, l'analyse morphocinétique du développement in vitro des embryons a été proposée comme nouvel outil d'évaluation de la qualité embryonnaire. Cependant, les paramètres couramment mesurés pour cette analyse n'ont pas encore permis de démontrer l'avantage significatif que pourrait représenter cette technique. Notre étude propose d'évaluer de nouvelles stratégies d'analyses morphologiques et cinétiques du développement préimplantatoire in vitro.

Méthodes : Les étapes successives du développement précoce d'embryons fécondés par injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) ont été suivies par vidéomicroscopie. Nous avons mesuré le délai de disparition des deux pronuclei (t0), ainsi que le temps nécessaire au premier clivage embryonnaire (t1) et à l'obtention du stade 5 cellules (t5), exprimés en heures post-ICSI (hpi). L'influence potentielle de l'épaisseur de la zone pellucide (ZP) sur le taux d'implantation a également été examinée. Les 51 embryons analysés provenaient de 51 patientes âgées de 21 à 40 ans et présentant un taux sanguin d'AMH > 1ng/ml.

Résultats : Nous avons mesuré une variabilité individuelle de l'épaisseur de la ZP sur l'ensemble des embryons, de 14 à 21 μ m selon les patientes. Le taux d'implantation apparaît similaire quelque soit la valeur de t5 pour les embryons possédant des ZP d'épaisseur $\leq 17\mu$ m. En revanche, lorsque la ZP est plus épaisse, un t5 hors norme (inférieur à 48 hpi ou supérieur à 56 hpi) apparaîtrait plutôt associé à un échec d'implantation. L'inclusion d'un plus grand nombre d'embryons de ZP supérieure à 18 μ m d'épaisseur est encore nécessaire. Cependant, si cette tendance se vérifie, l'épaisseur de la ZP pourrait constituer un critère supplémentaire pour l'analyse morphocinétique du développement préimplantatoire in vitro.

Mots clés : développement pré-implantatoire - in vitro - zone pellucide - morphocinétique - humain

Résumés des communications

SESSION 3 Fonction télomérique

Conférence plénière

Altération de la fonction télomérique dans le cancer

Andreï Tchirkov*, Lauren Véronèse

Cytogénétique Médicale / EA 4677 ERTICa, CHU Clermont-Ferrand / Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

**auteur correspondant : atchirkov@chu-clermontferrand.fr*

Les télomères sont des séquences répétées (TTAGGG) situés aux extrémités des chromosomes. Ils ont un rôle important dans la régulation de la prolifération cellulaire et le maintien de l'intégrité du génome en distinguant les extrémités chromosomiques de cassures de l'ADN double-brin. La longueur des télomères diminue au fur et à mesure des divisions cellulaires et lorsqu'un ou plusieurs télomères atteignent une taille critique, les voies de réponse aux dommages de l'ADN sont activées, menant les cellules vers la sénescence répliquative et l'apoptose. Cependant, en cas d'un défaut dans ces voies, les cellules poursuivent leur division et accumulent des réarrangements chromosomiques résultants de l'apparition de télomères dysfonctionnels. L'activation de la télomérase dans des cellules transformées par ces anomalies chromosomiques pourrait d'une part expliquer leur immortalité par régénération d'ADN télomérique après chaque division cellulaire et d'autre part la conservation de certaines altérations chromosomiques nécessaires au maintien d'un phénotype tumoral. Nos résultats obtenus récemment dans la leucémie lymphoïde chronique et dans les dysplasies tubo-ovariennes confirment le lien entre le raccourcissement des télomères et l'instabilité génomique et montrent l'implication d'une réponse défailante aux dommages de l'ADN (voies p53- et BRCA1-dépendantes) dans l'érosion sévère des télomères. La relation entre le dysfonctionnement des télomères et l'instabilité génomique implique que les tumeurs avec les télomères les plus courts ont le génome le plus instable et donc une plus forte probabilité d'expression génique aberrante et d'agressivité tumorale. Un niveau élevé d'activité télomérase est aussi souvent associé avec une tumeur agressive. Nos études cliniques dans le cancer du sein triple négatif montrent que la longueur des télomères et l'expression de la télomérase pourraient représenter les marqueurs de la résistance tumorale. Les approches de thérapie expérimentale interférant avec la réplication des télomères et inhibant la télomérase sont en cours de développement et d'évaluation dans différents cancers.

Communications orales

Les lymphocytes Th17 intra-tumoraux exercent des fonctions immunosuppressives dépendantes de l'adénosine chez les patientes porteuses de cancers du sein

Marion Thibaudin^{a*}, Marie Chaix^b, Romain Boidot^a, Frédérique Végran^a, Valentin Derangère^a, Emeric Limagne^a, Hélène Berger^a, Lionel Apetoh^b, François Ghiringhelli^b, Sylvain Ladoire^b

^aInserm U866, Dijon, France

^bCentre Georges François Leclerc, Dijon, France

*auteur correspondant : marion.thibaudin@hotmail.fr

Objet : Les cellules du système immunitaire présentes dans le microenvironnement tumoral contribuent au contrôle de la progression tumorale [1]. Les lymphocytes T CD4 de type Th17, cellules sécrétrices d'interleukine 17 (IL-17), contribuent au développement de maladies auto-immunes via leurs effets pro-inflammatoires. Cependant, la fonction de ces cellules dans la progression tumorale reste assez controversée [2,3]. Notre travail s'est intéressé aux rôles fonctionnels et pronostiques des lymphocytes Th17 dans le cancer du sein chez l'homme.

Méthodes : Isolement de lymphocytes T CD4 à partir de prélèvements sanguins ou de tumeurs humaines fraîches. Caractérisation phénotypique et fonctionnelle des cellules d'intérêt.

Résultats : Les lymphocytes Th17 exprimant fortement le récepteur CD25 s'accumulent au niveau des tumeurs mammaires. Les lymphocytes CD25^{high} Th17 expriment à la fois les facteurs de transcription Ror γ t et Foxp3 et sécrètent des cytokines caractéristiques des cellules Th17. Ces cellules via l'expression des ectonucléotidases CD39 et CD73 suppriment les fonctions effectrices des cellules T CD8 et CD4. La génération de ces cellules ainsi que l'expression des ectonucléotidases sont dictées par des cytokines présentes au niveau du microenvironnement tumoral : le Transforming Growth Factor β (TGF- β) et l'IL-6. De plus, l'analyse histologique de pièces opératoires de cancers du sein localisés révèle qu'une forte infiltration tumorale en lymphocytes IL-17+ est associée une survie sans rechute et une survie globale plus courte.

Conclusions : Ces résultats obtenus chez l'homme indiquent que la présence de lymphocytes Th17 au niveau de la tumeur primitive compromet les réponses immunitaires anti-tumorales chez les patientes atteintes de cancer du sein via la génération d'adénosine par les ectonucléotidases CD39 et CD73. Ces travaux chez l'homme confirment les données issues de modèles animaux préalablement publiés par notre équipe [4], et suggèrent l'intérêt du ciblage thérapeutique des Th17 dans le cancer du sein, notamment par des molécules s'opposant aux fonctions des ectonucléotidases.

Mots clés : lymphocytes Th17 - infiltration tumorale - immunosuppression - cancer du sein

Références bibliographiques

1. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011; 331: 1565-1570.
2. He D, Li H, Yusuf N et al. IL-17 promotes tumor development through the induction of tumor promoting microenvironments at tumor sites and myeloid-derived suppressor cells. *J Immunol* 2010; 184: 2281-2288.
3. Muranski P, Boni A, Antony PA et al. Tumor-specific Th17-polarized cells eradicate large established melanoma. *Blood* 2008; 112: 362-373.
4. Chalmin F, Mignot G, Bruchard M et al. Stat3 and Gfi-1 transcription factors control Th17 cell immunosuppressive activity via the regulation of ectonucleotidase expression. *Immunity* 2012; 36: 362-373.

Résumés des communications

Etude des altérations et du rôle du gène DUSP22 dans les lymphomes T cutanés

Pierre Mélard^{a*}, Yamina Idrissi^b, Laetitia Andrique^c, Martina Prochazkova-Carlotti^b, Elodie Laharanne^c, Edith Chevret^b, Anne-Lien Pham-Ledard^d, Andréa Carla De Souza Góes^e, Marie Parrens^f, Béatrice Vergier^f, Marie Beylot-Barry^d, Merlio Jean-Philippe^c, David Cappellen^c

^aEA2406 (Histologie et pathologie Moléculaire des Tumeurs) et Département de Pathologie des Tumeurs, CHU de Bordeaux, Université et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

^bEA2406 (Histologie et pathologie Moléculaire des Tumeurs), Université de Bordeaux, Bordeaux, France

^cEA2406 (Histologie et pathologie Moléculaire des Tumeurs) et Service de Biologie des Tumeurs, CHU de Bordeaux, Université et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

^dEA2406 (Histologie et pathologie Moléculaire des Tumeurs), université de Bordeaux, et Département de Dermatologie, CHU de Bordeaux, Université et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

^eInstitut de Biologie et Département d'Enseignement des Sciences, UERJ, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brésil

^fEA2406 (Histologie et pathologie Moléculaire des Tumeurs), université de Bordeaux, et Département de Pathologie, CHU de Bordeaux, Université et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

* auteur correspondant : david.cappellen@u-bordeaux.fr

L'équipe de A.L. Feldman et la notre avons mis en évidence des réarrangements du locus 6p25.3 dans environ 20% des lymphomes T anaplasiques, notamment cutanés (LTAc). Combinant des approches de cytogénétique et biologie moléculaire, nous avons, parmi les gènes candidats présents dans la région des points de cassures en 6p25.3, identifié un nouveau gène candidat, *DUSP22* ("Dual Specificity Phosphatase 22"), de fonction peu connue jusqu'alors. Nous avons mis en évidence, du fait d'épissages et promoteurs alternatifs, de différents transcrits codant des isoformes protéiques distinctes. Les transcrits majoritaires dans les cellules normales sont réprimés dans les tumeurs présentant des altérations du locus 6p25.3. Des transcrits normalement minoritaires sont, au contraire, occasionnellement surexprimés dans les tumeurs. Nous avons ensuite montré, en modulant leur expression dans des lignées cellulaires au moyen de vecteurs lentiviraux d'expression ou d'ARN interférence, que les isoformes inactivées dans les tumeurs ont des propriétés suppressives de tumeurs, inhibant la croissance en agar semi-solide et la tumorigénicité dans les souris immuno-déficientes. À l'opposé, celles qui sont surexprimées dans certaines tumeurs exercent des activités pro-oncogéniques. Nos cas de LTAc avec extinction de *DUSP22* présentant des réarrangements mono-alléliques du 6p25.3, nous avons recherché les mécanismes responsables de l'inactivation du second allèle du gène. Nous avons alors mis à jour, en accord avec les prédictions bioinformatiques de G. Genovese et coll., l'existence d'un paralogue du gène *DUSP22*, localisé en 16p11.2, présent chez 90% des individus, méthylé ou délété au niveau de la région promotrice, et transcriptionnellement inactif. L'existence de ce paralogue a un impact majeur sur les analyses cytogénétiques et moléculaires de *DUSP22*. Nous avons ainsi développé des stratégies permettant une étude objective des altérations génétiques (translocations, délétions, mutations) et épigénétiques (méthylation) de ce gène, dont l'application à l'analyse des lymphomes T cutanés sera présentée.

Mots clés : Lymphomes T cutanés - Réarrangements chromosomiques - Gène *DUSP22* - Inactivation transcriptionnelle - Gène suppresseur de tumeurs

Fonctions télomériques et extra-télomériques de la télomérase dans les lymphomes T cutanés primitifs

Edith Chevret^{a*}, Laëticia Andrique^a, Martina Prochazkova-Carlotti^a, Gaëlle Labouré^a, Jacky Ferrer^a, Joana Ropio^a, David Cappellen^b, Yamina Idrissi^a, Anne Pham-Ledard^c, Pierre Dubus^b, Marie Beylot-Barry^c, Jena-Philippe Merlio^b

^aEA2406 Histologie et pathologie moléculaire des tumeurs, Université Bordeaux, France

^bEA2406 Histologie et pathologie moléculaire des tumeurs - Tumorotheque & laboratoire de biologie des tumeurs, Université Bordeaux - CHU Bordeaux, France

^cEA2406 Histologie et pathologie moléculaire des tumeurs - Laboratoire de dermatologie, Université Bordeaux - CHU Bordeaux, France

* auteur correspondant : edith.chevret@u-bordeaux.fr

Dans 70 à 90% des cellules tumorales humaines, une activité télomérase est détectée alors que dans les tissus avoisinants non tumoraux, l'activité de la télomérase est faible voire nulle. La télomérase et la longueur des télomères ont été proposées comme des biomarqueurs des cellules tumorales. Ces biomarqueurs ont été étudiés dans les tumeurs solides¹ et hématologiques². En revanche dans les lymphomes T cutanés primitifs (LTCP) les données sont rares.

Dans une première étude³, nous avons évalué l'impact de la longueur des télomères et de l'activité de la télomérase dans la lymphomagenèse des LTCP. Nous avons montré que les LTCP agressifs possédaient des télomères courts par rapport aux LTCP indolents et aux cellules saines, que dans les cellules de LTCP une activité télomérase était présente, faisant de ces tumeurs des candidates potentielles à un traitement ciblé anti-télomérase.

Pour mieux comprendre la fonction de la télomérase dans ces cellules, nous avons modulé l'expression de la télomérase, via sa sous-unité catalytique hTERT, à l'aide de constructions lentivirales dans des lignées cellulaires de LTCP. Nous avons montré que l'inhibition de la télomérase se traduisait par une diminution brutale de la prolifération cellulaire et conduisait à la mort cellulaire. En revanche, la surexpression de la télomérase est associée à une augmentation de la prolifération cellulaire, à une augmentation des capacités clonogène et tumorigène des cellules infectées aussi bien *in vitro* (test de soft agar) que *in vivo* (xénogreffe chez la souris).

Ces dernières observations laissent supposer qu'au-delà de son rôle de maintenance des télomères dans les cellules de LTCP, la télomérase exerce d'autres fonctions, qualifiées de non-canoniques, car indépendantes de ses fonctions sur les télomères. La connaissance de ses fonctions est indispensable avant d'envisager d'utiliser la télomérase comme cible thérapeutique dans les LTCP.

Mots clés : Télomères - Télomérase - Lymphomes cutanés - anomalies chromosomiques

Références bibliographiques

1. Shin JS, Hong A, Solomon MJ, Lee CS: The role of telomeres and telomerase in the pathology of human cancer and aging, *Pathology* 2006, 38:103-113
2. Jones CH, Pepper C, Baird DM: Telomere dysfunction and its role in haematological cancer, *Br J Haematol* 2012, 156:573-587
3. Chevret E, Andrique L, Prochazkova-Carlotti M, Ferrer J, Cappellen D, Laharanne E, Idrissi Y, Boettiger A, Sahraoui W, Ruiz F, Pham-Ledard A, Vergier B, Belloc F, Dubus P, Beylot-Barry M, Merlio JP: Telomerase functions beyond telomere maintenance in primary cutaneous T-cell lymphoma, *Blood* 2014

**Résumés
des communications**

**SESSION 4
Cellules souches et
système nerveux central**

Conférence plénière

Cellules souches neuronales

Pierre-Marie Lledo*

Perception and Memory Laboratory - Institut Pasteur, Paris, France

**auteur correspondant : pierre-marie.lledo@pasteur.fr*

The olfactory brain is flexible, from cognitive areas all the way down to the peripheral areas in which sensory information is encoded so as to facilitate the subsequent extraction of relevant information. It is becoming increasingly clear that olfactory adaptability operates at the level of neural circuits. In the adult olfactory bulb circuit, new neurons are constitutively recruited throughout life and form an integral part of the normal functional network.

This presentation focuses on the functional issues linked to the neurogenic plasticity of olfaction. After outlining the processes of adult neurogenesis in the olfactory system and discussing their regulation by various factors, I will explore the possible functional role of newly-formed neurons in the host olfactory circuits. I will extract clues regarding the contribution of adult-born neurons to the different circuits of the olfactory bulb.

Concentrating exclusively on mammalian systems, I will demonstrate throughout this presentation that adult neurogenesis is a plastic mechanism by which several olfactory bulb performances can be optimized.

Communications orales

Organization and function of the vascular network and its relation with satellite cells in normal and pathological muscle

Claire latroche^{a*}, Bénédicte Chazaud^b, Grégory Jouvion^a, Fabrice Chrétien^a

^a*Institut Pasteur, Paris, France*

^b*CGPMC, Lyon, France*

**auteur correspondant : claire.latroche@pasteur.fr*

During muscle regeneration, myogenic precursor cells (MPCs) interact with neighbouring cells, including endothelial cells (ECs). Previous studies showed that specific interactions take place between vessel cells and MPCs. However, little is known about their impact on MPC fate and the underlying molecular mechanisms in normal and pathological muscle. We demonstrated in vitro a functional interplay between ECs and MPCs as: i) both cell type attract each other in migration assay, suggesting the secretion of specific attractive factors; ii) ECs strongly stimulate MPC differentiation, iii) MPCs promote angiogenesis, i.e. differentiation of ECs vessel-like structures. These results were confirmed in vivo, in which MPCs specifically promote the formation of functional vessels in a dose-dependent way. These results show that myogenesis and angiogenesis take place together. Several molecular candidates regulating angiogenesis/myogenesis coupling, including transcriptomic analysis of ECs and MPCs sorted at different time points during muscle regeneration, are under investigation in functional assays.

Collectively our results show that specific interactions between MPCs and ECs couple myogenesis and angiogenesis during muscle regeneration. These interactions may be altered in degenerative myopathies, where we already demonstrated strong perturbations of the vascular network associated with functional alteration (weaker muscle perfusion).

Mots clés : skeletal muscle - myogenic precursor cells - endothelial cells - functional analysis - duchenne muscular dystrophy

Pericytes in the myovascular niche promote post-natal myofiber growth and satellite cell quiescence

Enis Kostallari^{a*}, Yasmine Baba-Amer^a, Sonia Alonso-Martin^b, Pamela Ngoh-Melame^a, Frédéric Relaix^b, Peggy Lafuste^a, Romain Gherardi^a

^aU955 Eq10, UPEC-Inserm, Créteil, France

^bU955 Eq10, UPMC-Inserm, Créteil, France

*auteur correspondant : enis.kostallari@inserm.fr

The satellite cells, which serve as adult muscle stem cells, are both located beneath myofiber basement membranes and closely associated to capillary endothelial cells. We observed that 90% capillaries are associated with pericytes in adult mouse and human muscle.

During post-natal growth, newly formed vessels with their NG2+ pericytes became progressively associated with the post-natal muscle stem cells as myofibers increased in size and satellite cells entered into quiescence. *In vitro*, human muscle-derived pericytes promoted myogenic cell differentiation through IGF-1, and myogenic cell quiescence through Angiopoietin-1. Diphtheria toxin-induced ablation of muscle pericytes in growing mice led to both myofiber hypotrophy and impaired establishment of stem cells quiescence. Similar effects were observed following conditional *in vivo* deletion of pericyte IGF-1 and Angiopoietin-1 genes, respectively. Our data therefore demonstrate that, by promoting postnatal myogenesis and stem cell quiescence, pericytes play a key role in the microvascular niche of satellite cells.

Mots clés : satellite cells niche - microvascular cells - Angiopoietin-1 - IGF-1 - post-natal growth

Références bibliographiques

1. Abou-Khalil, R., Le Grand, F., Pallafacchina, G., Valable, S., Authier, F. J., Rudnicki, M. A., Gherardi, R. K., Germain, S., Chretien, F., Sotiropoulos, A. et al. (2009). Autocrine and paracrine angiopoietin 1/Tie-2 signaling promotes muscle satellite cell selfrenewal. *Cell Stem Cell* 5, 298-309.
2. Christov, C., Chretien, F., Abou-Khalil, R., Bassez, G., Vallet, G., Authier, F. J., Bassaglia, Y., Shinin, V., Tajbakhsh, S., Chazaud, B. et al. (2007). Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. *Mol Biol Cell* 18,1397-409.
3. Gitiaux, C., Kostallari, E., Lafuste, P., Authier, F. J., Christov, C. and Gherardi, R. K. (2013). Whole microvascular unit deletions in dermatomyositis. *Ann Rheum Dis* 72, 445-52.
4. Arnold, L., Henry, A., Poron, F., Baba-Amer, Y., van Rooijen, N., Plonquet, A., Gherardi, R. K. and Chazaud, B. (2007). Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *J Exp Med* 204, 1057-69.
5. Relaix, F., Rocancourt, D., Mansouri, A. and Buckingham, M. (2005). A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. *Nature* 435, 948-53.

**Communications
affichées**

Du séquençage haut débit au phénotype : intérêt majeur de l'examen fœtopathologique dans l'exploration des anomalies du corps calleux

Tania Attie-Bitach^{a*}, Caroline Alby^b, Lucile Boutaud^a, Valérie Malan^a, Nadia Bahi-Buisson^b, Amale Ichkou^c, Yves Ville^d, Christine Bole-Feysot^e, Patrick Nitschke^f, Sophie Thomas^b, Ferehté Razavi^a, Michel Vekemans^a

^aHEC et Inserm U1163, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

^bInserm U1163, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

^cHEC, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

^dGynécologie-obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

^ePlateforme de génomique Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

^fPlateforme de Bioinformatique Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

* auteur correspondant : tania.attie@inserm.fr

Les anomalies du corps calleux (ACC) sont les malformations cérébrales les plus fréquentes à la naissance. Les causes sont hétérogènes, et le conseil génétique difficile en anténatal, le pronostic étant incertain car dépendant de la cause. Nous avons entrepris une étude clinique, cytogénétique et moléculaire d'une cohorte de 170 fœtus avec ACC, isolée ou associée.

L'étude clinique nous a permis de distinguer 4 classes d'ACC : 1/ par anomalie du développement cortical, 2/ par défaut de décussation des fibres calleuses, 3/ les hypodysplasies 4/ les malformations secondaires à un phénomène dysruptif.

L'imagerie anténatale ou l'examen fœtopathologique a conduit à un diagnostic dans 15 cas. Lorsque le caryotype était normal, l'étude cytogénétique a été complétée par une CGH microarray. Ainsi, une anomalie chromosomique a été mise en évidence chez 20 fœtus, par le caryotype ou par CGH microarray.

Chez les fœtus sans diagnostic, un exome en trio a été réalisé dans 10 cas, et 64 ont bénéficié d'un séquençage ciblé d'un panel ciblé de 423 gènes connus ou candidats pour les ACC. Les premiers résultats ont déjà permis d'établir plusieurs diagnostics comme par exemple un déficit en PDH chez deux fœtus (*PDHA1*), une hypoplasie pontocérébelleuse avec ACC (*AMPD2*), un syndrome génitopatellaire (*KAT6B*), un syndrome de Primrose (*ZBTB20*) ou deux syndrome de Coffin Siris (*ARID1A* et *ARID1B*). Ces diagnostics étaient difficilement réalisables en raison de l'absence des signes cardinaux en anténatal, de l'absence de signes spécifiques ou de l'existence de phénocopies, mais la réévaluation de données de l'examen fœtopathologique (reverse phenotyping) a permis de conforter les résultats moléculaires issus du séquençage haut débit. Ces trois situations seront illustrées.

Cette étude permettra d'aboutir à un meilleur conseil génétique en anténatal. Elle souligne la nécessité des corrélations génotype-phénotype indispensables à l'interprétation des données massives issues du séquençage haut débit.

Mots clés : Corps calleux - Foetopathologie - Neuropathologie - Séquençage haut débit - CGH

Rôle de CXCL12/SDF-1 au cours de la régénération musculaire

Aurore Besnard*, David Hardy, Pamela Gasse, Fernando Arenzana-Seisdedos, Fabrice Chrétien

Institut Pasteur, Paris, France

*auteur correspondant : aurore.besnard@pasteur.fr

CXCL12 est une chimiokine qui joue un rôle crucial dans le maintien des cellules souche au sein de la moelle osseuse. CXCL12 peut se lier, à la fois à ses récepteurs, permettant son activité biologique, mais aussi à la matrice extra-cellulaire, en particulier aux heparanes sulfates (HS), permettant la formation de gradients de CXCL12 favorisant la migration orientée et le recrutement de cellules circulantes vers les tissus. Pendant la régénération musculaire, les cellules satellites (cellules souches du muscle) s'activent et se différencient permettant une régénération totale du muscle. L'objectif de cette étude est d'identifier le rôle de CXCL12 dans l'homéostasie de la niche des cellules satellites au cours de la régénération musculaire.

Nous utilisons une lignée de souris transgéniques dans laquelle le gène codant pour CXCL12 est sélectivement muté au niveau de son site de liaison aux HS, empêchant la liaison CXCL12-HS. Nous comparons la régénération musculaire entre les souris contrôles et les souris transgéniques après lésion musculaire.

Les premiers résultats montrent que la morphologie du muscle adulte est normale chez les souris mutantes. En revanche, après lésion, la régénération musculaire est sévèrement atteinte avec une importante fibrose musculaire et une accumulation de lipides. Les cellules satellites issues des souris mutantes montrent un comportement normal par rapport à celles issues des souris contrôles. Cependant, le comportement vasculaire des souris mutantes est altéré en condition basale avec la présence de nombreuses collatérales anastomiques et de multiples cellules formant des filopodes. Après lésion, la vascularisation est également affectée structurellement et l'étude fonctionnelle des vaisseaux doit être approfondie.

CXCL12 semble jouer un rôle important au cours de la régénération musculaire. Le couplage angiogenèse/myogenèse est probablement dérégulé lorsque CXCL12 ne peut plus se lier aux HS. Comprendre les mécanismes régulant ce phénomène est un enjeu majeur dans la compréhension des mécanismes de réparation musculaire.

Mots clés : CXCL12 - Régénération musculaire - Cellules satellites - Compartiment vasculaire

Contre-indication cardio-vasculaire au don d'ovocytes chez une patiente présentant un syndrome de Turner avec une faible population cellulaire masculine en mosaïque révélée en hybridation *in situ*

Rosalie Cabry^{a*}, Florence Scheffler^a, Emmanuelle Lourdel^a, Naima Mansouri^a, Noemie Celton^a, Aline Receveur^a, Marlène Gallet^a, Rachel Desailoud^b, Christophe Triboulloy^c, Moncef Benkhalifa^a, Philippe Merviel^a, Aviva Devaux^a, Henri Copin^a

^a*Médecine et Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et CECOS de Picardie, CHU Amiens, Amiens, France*

^b*Endocrinologie, CHU Amiens, Amiens, France*

^c*Cardiologie, CHU Amiens, Amiens, France*

* *auteur correspondant : cabry.rosalie@chu-amiens.fr*

Introduction : Le syndrome de Turner induit un épuisement du stock folliculaire par accélération de l'atrésie. Ces patientes peuvent demander à bénéficier d'une prise en charge par FIV avec don d'ovocytes.

Observation : Nous rapportons ici le cas d'un couple dont la patiente est suivie pour un syndrome de Turner associant une monosomie X et une population de cellules comportant un chromosome Y mise en évidence uniquement par hybridation *in situ* dans 3% des noyaux cellulaires et dans une mitose cinquante.

La patiente ne présentait comme seul facteur de risque cardio-vasculaire qu'un surpoids. Son examen clinique était normal en dehors d'un micro-souffle éjectionnel aortique 0.5/6. Le bilan cardiaque réalisé dans notre centre de référence a retrouvé une bicuspidie de la valve aortique et une dilatation de l'aorte ascendante de 39 mm au niveau des sinus de Valsalva.

Selon les recommandations de la HAS, la grossesse a donc été contre-indiquée chez cette patiente. Un suivi cardiaque spécifique a été mis en place. Le couple s'est orienté vers une prise en charge en adoption.

Discussion : Les complications liées aux grossesses obtenues après don d'ovocytes chez les patientes présentant un syndrome de Turner sont nombreuses, au devant desquelles le risque de complications cardio-vasculaires par dissection aortique [1]. La littérature rapporte 7 cas de dissection aortique chez des patientes turnériennes enceintes ou en post-partum avec survenue de 6 décès maternels [2].

Les recommandations formulées par la HAS et le CNGOF imposent un bilan cardiaque complet avant validation de la prise en charge. Un transfert mono-embryonnaire est obligatoire chez ces patientes et, en cas d'obtention de grossesse, un suivi cardiologique rapproché est mis en place pendant la grossesse et le post-partum.

Conclusion : L'accompagnement multidisciplinaire réalisé au sein des CECOS est majeur dans le cadre de la prise en charge des patientes présentant un syndrome de Turner.

Mots clés : Syndrome de Turner - Don d'ovocytes - Pathologies cardio-vasculaires

Références bibliographiques

1. Matura LA, Ho VB, Rosing DR, Bondy CA. Aortic valve disease in Turner syndrome. *Circulation* 2007; 116 (15):1663-70.
2. ASRM. Increased maternal cardiovascular mortality associated with pregnancy in women with Turner syndrome. *Fertil Steril* 2008; 90 Suppl 3: S185-S186

Chromosome marqueur surnuméraire dérivé du 19 en mosaïque : à propos d'un cas

Elouan Cherot^{a*}, Frédéric Dugay^a, Christèle Dubourg^b, Mélanie Fradin^c, Vincent Jauffret^a, Marjorie Gournay^a, Catherine Henry^a, Florian Cabillic^a, Sylvie Odent^c, Marc-Antoine Belaud-Rotureau^a, Sylvie Jaillard^a

^a*Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France*

^b*Service de Génétique Moléculaire et Génomique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France*

^c*Service de Génétique Clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France*

**auteur correspondant : elouan.cherot@chu-rennes.fr*

Nous rapportons le cas d'un garçon de 2 ans suivi pour un retard psychomoteur, un strabisme, une asymétrie héli-corporelle et une hypotonie axiale. Devant ces troubles du développement, une analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) et un caryotype sanguin ont été réalisés. L'ACPA n'a pas montré de déséquilibre alors que le caryotype a mis en évidence la présence d'un chromosome marqueur surnuméraire (SMC) dans la moitié des métaphases (mos 46,XY,+mar[9]/46,XY[11]dn). Ce SMC n'a pas pu être identifié par FISH (sondes centromériques des chromosomes X, Y, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 12, 14/22, 15, 16, 18 et 20). Ces résultats ont motivé la réalisation d'analyses cytogénétiques conventionnelles et moléculaires sur fibroblastes cutanés. Le SMC, observé dans 6 des 24 métaphases analysées, a une taille variable et est souvent plus volumineux que celui observé sur le caryotype sanguin. L'ACPA a montré qu'il s'agit d'un dérivé du chromosome 19 (faible mosaïque). Il correspond *a priori* à un anneau du 19 (mos 47,XY,+r(19)(p12q13.2)[6]/46,XY[18].arr[hg19]19p12(20,594,660-24,340,741)x2~3,19q11q13.2(28,272,497-41,082,079)x2-3). Cette anomalie chromosomique explique vraisemblablement le retard global des acquisitions chez le patient. Il explique aussi l'infiltration graisseuse, qui est probablement en lien avec la présence dans l'anneau du gène *AKT2*, responsable, en cas de mutation gain de fonction, d'un syndrome avec hypoglycémie et héli-hypertrophie corporelle. La composition variable du SMC entre tissus d'origine différente est un phénomène rarement rapporté. La discordance des résultats obtenus par les différentes analyses réalisées sur sang et peau montre leur complémentarité pour l'identification des SMC.

Mots clés : Chromosome marqueur surnuméraire - mosaïque - asymétrie héli-corporelle - ACPA

Etude du profil histologique et moléculaire des carcinomes rénaux à cellules claires et leurs métastases

Julien Dagher^{a*}, Lorrie Le Page^b, Solène - Florence Kammerer Jacquet^a, Angélique Brunot^c, Alexandra Lespagnol^d, Florence Jouan^e, Laurence Cornevin^f, Murielle Gervois^b, Frederic Dugay^g, Gregory Verhoest^h, Karim Bensalahⁱ, Nathalie Rioux-Leclercq^a, Marc-Antoine Belaud-Rotureau^g

^aAnatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Rennes et UMR 6290 IGDR, Rennes, France

^bCytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France

^cOncologie Médicale, CRLCC, Rennes, France

^dGénétique Moléculaire, CHU Rennes, Rennes, France

^eEquipe Cancer du rein, UMR 6290 IGDR, Rennes, France

^fCytogénétique et Biologie Cellulaire, Faculté de Médecine de Rennes, Rennes, France

^gCytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes et UMR 6290 IGDR, Rennes, France

^hUrologie, CHU Rennes et UMR 6290 IGDR, Rennes, France

ⁱUrologie, CHU Rennes, Rennes, France

* auteur correspondant : marc-antoine.belaud-rotureau@chu-rennes.fr

Le carcinome rénal à cellules claires (CCCR) est la forme histologique la plus fréquente des cancers du rein. Au cours de l'évolution, si le patient progresse sous traitement, les métastases sont rarement biopsiées. Leur profil phénotypique et moléculaire par rapport à la tumeur d'origine est mal connu.

Trois patients ayant un CCCR opéré par néphrectomie totale ou partielle, avec métastase synchrone ou métachrone (hépatique, ganglionnaire, et pulmonaire) ont été inclus rétrospectivement. Les prélèvements tumoraux ont été analysés sur le plan histologique, immunohistochimique (VEGF-A, CD31-AML, Ki67, p53 et PAR-3), cytogénétique (ACPA, FISH), et moléculaire (NGS : statut du gène *VHL* : délétion, mutation et/ou hyperméthylation du promoteur).

L'aspect histologique et immunohistochimique des métastases était superposable à la composante de plus haut grade de la tumeur primitive, toutes les tumeurs étant de grade 4 de Fuhrman.

Les analyses par FISH et NGS ont mis en évidence une délétion hétérozygote du gène *VHL* et la présence de la même mutation dans chacun des couples tumeur primitive/métastase, sans hyperméthylation du promoteur. L'ACPA a comparé l'ADN des métastases à celui des tumeurs primitives et a montré des profils chromosomiques distincts. Par rapport à leur tumeur primitive, un gain en 3q22 (environ 1 Mb) a été retrouvé dans les métastases de tous les patients. Cette région contient des gènes (*PPP2R3A*, *STAG1*, *MSL2*, *NCK1*, *TMEM22*) qui pourraient être impliqués dans la prolifération des cellules tumorales et/ou dissémination métastatique. En particulier, la surexpression de la protéine TMEM22 a été décrite comme favorisant la croissance des cellules des carcinomes rénaux à cellules claires.

Ce travail confirme que le profil chromosomique des métastases des CRCC est distinct de celui des tumeurs primitives. Des études complémentaires sont en cours pour préciser l'implication de gènes de la région 3q22 dans le potentiel métastatique des CRCC.

Mots clés : Cancer du rein à cellules claires - métastase - ACPA - FISH

Technique de quantification de la densité en fibres nerveuses intra-épidermiques (DFNIE) appliquée à la souris

Myriam Hachicha, Anne-Laure Mazialivoua, Yasmine Baba-Amer, Jérôme Authier*

Inserm U955 Equipe 10, Créteil, France

*auteur correspondant : authier@u-pec.fr

Les neuropathies des petites fibres (NPF) sensibles sont caractérisées par une atteinte prédominante des fibres nerveuse de petit calibre myélinisées (A-delta) ou amyéliniques (C). La NPF constitue le mode d'atteinte neurologique électif des amyloses systémiques génétiques (TTR) ou dysglobulinémiques. La méthode de référence de diagnostic de NPF est la technique de quantification de la densité en fibres nerveuses intra épidermique (DFNIE) sur biopsie cutanée. Le développement de modèles murins d'amylose requiert la mise au point de méthodes simples et reproductibles d'évaluation de la DFNIE chez la souris.

Nous appliqués la technique de quantification de la DFNIE sur des prélèvements de peau plantaire de patte arrière chez 31 souris C57.B16 femelles âgées de 2, 6 et 10 mois (prélèvement d'un coussinet plantaire au punch de 3mm ou prélèvement au scalpel). Les prélèvements cutanés ont été fixés au PFA 4% pendant 3h puis cryopréservés dans le sucrose 10% overnight. Le prélèvement a congelé à -80°C en OCT dans l'isopentane. Les fibres nerveuses ont été visualisées par immunomarquage de la protéine panaxonale PGP9.5 par immunofluorescence en FICT sur coupe épaisse (50µm). La quantification de la DFNIE a été réalisée en comptant le nombre d'axone croisant la jonction dermo-épidermique par unité de longueur.

La DFNIE plantaire sur coussinets plantaires était de 64.6±5.3 fibres/mm à 2 mois (n=5), 58.2±10.2 fibres/mm à 6 mois (n=10), et 52.3±11.9 fibres/mm à 10 mois (n=6). La DFNIE tend à diminuer avec l'âge de 2 à 10 mois (p=0.06). Le prélèvement au scalpel (2mois, n=10) montre une DFNIE hétérogène variant de 7.06 à 83.7 fibres/mm, dépendant de la zone de peau analysée.

Notre technique de quantification de la DFNIE sur biopsie par punch-biopsie cutanée s'avère fiable et parfaitement applicable à l'étude de modèles murins de neuropathie sensitive.

Mots clés : neuropathie sensitive des petites fibres - souris - densité en fibres nerveuses intra-épidermiques - PGP9.5 - axone

Références bibliographiques

1. Sène D, Cacoub P, Authier FJ, Haroche J, Créange A, Saadoun D, Amoura Z, Guillausseau PJ, Lefaucheur JP. Sjögren Syndrome-Associated Small Fiber Neuropathy: Characterization From a Prospective Series of 40 Cases. *Medicine (Baltimore)*. 2013 Aug 26. [Epub ahead of print]

Choosing the appropriate model for studying muscle regeneration in mice: a comparative study of classical protocols

David Hardy*, Mathilde Latil, Barbara Gayraud-Morel, David Briand, Gregory Jouvion, Pierre Rocheteau, Fabrice Chrétien

Institut Pasteur, Paris, France

*auteur correspondant : david.hardy@pasteur.fr

Skeletal muscle is a very relevant model to study tissue regeneration because of its striking capacities to structurally and functionally regenerate, after one or many rounds of degeneration. Almost all research teams working on muscle regeneration exploit numerous experimental models of muscle injury, displaying a differential effect on the fate of resident or circulating cells in the muscle bed after injury. The main focus of these studies is generally the stem cell and little is known about the relative role of the different other muscle components (myofibers, stroma, vascularisation and immune cells) during tissue reconstruction after an injury.

Our project, based on the comparison between different injury models (chemicals, snake venoms or mechanical/physical injury), is *in fine* to understand the involvement of the different muscle tissue compartments (stem cells, inflammatory cells, vascular system and connective tissue) as well as their interactions in the tissue destruction/regeneration processes. Using morphological approaches, we first characterised the kinetics of muscle regeneration in different injury models, and demonstrated significant differences, in the early stages, in the tissue effects of these models, in contrast to an *ad integrum* restoration of the tissue properties in the late stages for all models. Collectively, these data allows us to decipher the fine interactions between muscle compartments and their importance in the different stages of the tissue regeneration process, a fundamental knowledge for the set up of new innovative therapeutic strategies.

Mots clés : Skeletal muscle - Stem cell - Satellite cell - Injury model

Insuffisance ovarienne prématurée chez deux patientes présentant une délétion Xq

Vincent Jauffret^{a*}, Célia Ravel^b, Elouan Cherot^a, Christele Dubourg^c, Martine Blayau^c, Marie-Pascale Beaumont-Epinette^c, Guillaume Halet^d, Sylvie Odent^e, Marc-Antoine Belaud-Rotureau^a, Sylvie Jaillard^a

^aService de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU de Rennes, Pontchaillou, Rennes, France

^bService de Biologie de la Reproduction, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France

^cService de Génétique Moléculaire et Génomique Médicale, CHU de Rennes, Pontchaillou, Rennes, France

^dInserm, U6290, IGDR, Université de Rennes 1, Rennes, France

^eService de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France

*auteur correspondant : vincent.JAUFFRET@chu-rennes.fr

Objet : L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est une pathologie caractérisée par une absence ou un arrêt de la fonction ovarienne normale avant l'âge de 40 ans. Elle peut se manifester par une aménorrhée ou par une ménopause précoce. Elle est caractérisée au niveau hormonal par un hypo-oestrogénisme avec augmentation de l'excrétion des hormones gonadotrophiques. Les étiologies sont très hétérogènes et les anomalies chromosomiques semblent représenter 15 à 20 % des causes rapportées. Neuf régions critiques (*Premature Ovarian Failure* POF 1 à 9) ont été décrites dans la littérature dont les loci POF1 et POF2 localisées sur le bras long du chromosome X (Xq26-Xq28 et Xq13.3-Xq21.1 respectivement). Ces deux régions seraient porteuses de gènes impliqués dans le développement ovarien. Parmi les gènes candidats localisés au niveau de ces régions, outre *FMRI* (Xq27.3), on peut retenir le gène *DIAPH2* (Xq22), le gène *XPNPEP2* (Xq25) et le gène *ZFX* (Xq22.2-Xp21.3).

Méthode : Des analyses cytogénétiques : caryotype en bandes RHG, analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) et FISH ont été réalisés chez 2 femmes présentant une IOP.

Résultats : La première patiente est porteuse d'une délétion terminale Xq27.2q28 d'environ 14,4 Mb, incluant POF1 dont le principal gène candidat est *FMRI*. La deuxième patiente est porteuse d'une duplication interstitielle Xq23.32q22.1 d'environ 8,4 Mb au niveau de POF2 avec le gène *DIAPH2*, et d'une délétion terminale Xq22.1q28 d'environ 53,5Mb incluant POF1. Ces deux remaniements sont localisés sur le même chromosome X et résultent d'un mécanisme d'inversion-délétion-duplication non médié par recombinaison homologue non allélique (NAHR).

Discussion : La présence d'une délétion Xq terminale impliquant POF1 chez ces deux patientes conforte le rôle de cette région dans la survenue d'une IOP. Par ailleurs, aucun cas d'inversion-délétion-duplication du bras long du chromosome X chez une femme présentant une IOP n'est rapporté dans la littérature. Une perte de fonction du gène *DIAPH2* a quant à elle été décrite comme responsable d'IOP, cependant, le rôle d'une duplication impliquant POF2 et ce gène *DIAPH2* reste à établir.

Mots clés : Insuffisance ovarienne prématurée - Délétion Xq - FMR1

Etude de l'organisation spatiale de territoires chromosomiques dans le noyau trisomique 21

Stephan Kemeny*, Natasha Ollier, Gaëlle Salaün, Carole Goumy, Céline Richard, Laetitia Gouas, Philippe Vago

Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

*auteur correspondant : skemeny@chu-clermontferrand.fr

Introduction : Depuis de nombreuses années, il était proposé que les gènes du chromosome 21, présents en trois exemplaires, étaient responsables de la déficience intellectuelle et des autres traits du syndrome de Down. Mais depuis peu, une dérégulation de gènes localisés sur d'autres chromosomes dans les cellules trisomiques a été observée et pourrait concourir aux traits phénotypiques « inconstants » du syndrome [1-2]. Or, à ce jour, les mécanismes conduisant à cette dérégulation secondaire pangénomique ainsi que les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent les divers aspects du syndrome de Down, sont totalement méconnus.

Objectif : Voir si la présence d'un chromosome 21 surnuméraire provoque une altération de l'organisation spatiale des territoires chromosomiques (TC) dans le noyau interphasique.

Matériel / Méthodes : Un protocole de FISH-3D a été appliqué à deux populations de cellules issues de villosités chorales « T21 » (n=3) et de villosité chorale « contrôles » (n=3). Le volume des noyaux et de 12 TC ont été étudiés ainsi que la position radiale de ces TC.

Résultats / Conclusion : Les premiers résultats obtenus pour les TC 18,19 et 21 de deux villosités chorales T21 et de deux villosités chorales contrôles ont permis l'étude de 1079 noyaux. Il ne semble pas y avoir de variation du volume nucléaire entre la population T21 et la population contrôle. Cependant, il semble que l'organisation intranucléaire soit modifiée dans les noyaux T21 pour ces trois TC qui semblent plus petits dans les noyaux trisomiques 21. Les TC 19 et 21 semblent également localisés plus près du centre du noyau.

Mots clés : trisomie 21 - FISH-3D - territoires chromosomique

Références bibliographiques

1. Rozovski U, Jonish-Grossman A, Bar-Shira A, Ochshorn Y, Goldstein M, Yaron Y. Genome-wide expression analysis of cultured trophoblast with trisomy 21 karyotype, Hum Reprod. 2007;22(9):2538-45.
2. Chou CY, Liu LY, Chen CY, Tsai CH, Hwa HL, Chang LY et al. Gene expression variation increase in trisomy 21 tissues, Mamm Genome. 2008;19(6):398-405.
3. Prandini P, Deutsch S, Lyle R, Gagnebin M, Delucinge Vivier C, Delorenzi M et al. Natural gene-expression variation in Down syndrome modulates the outcome of gene-dosage imbalance, Am J Hum Genet. 2007;81(2):252-63.

La duplication Xq25 : Rôle crucial du gène *STAG2* dans cette nouvelle cohésinopathie

Camille Leroy^{a*}, Marie-Line Jacquemont^b, Bérénice Doray^c, Denis Lamblin^d, Valérie Cormier Daire^e, Anne Philippe^e, Catherine Patrat^f, Julie Steffan^e, Laurence Colleaux^g, Michel Vekemans^a, Serge Romana^a, Catherine Turleau^a, Valérie Malan^a

^a*Service d'Histo-Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France*

^b*Service de Néonatalogie, Centre Hospitalier Universitaire de la Réunion, Saint-Pierre La Réunion, France*

^c*Service de Génétique, CHU La Réunion, Saint-Denis La Réunion, France*

^d*CAMSP, Fondation Père Favron, Saint-Louis La Réunion, France*

^e*Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France*

^f*Laboratoire de Biologie De la Reproduction, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris, France*

^g*Institut Imagine, Inserm UMR_S1163, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France*

* *auteur correspondant : camille.leroy@rdb.aphp.fr*

La duplication Xq25 a récemment été décrite dans la littérature comme une entité cliniquement reconnaissable. Le phénotype associé à cette microduplication est caractérisé par un retard des acquisitions, un retard de langage, une hypotonie, une déficience intellectuelle, des troubles du comportement et une dysmorphie faciale caractéristique (un visage hypotonique, une éversion de la paupière inférieure, un épicanthus, des sourcils fins et/ou arqués, une hypoplasie malaire et un vermillon des lèvres épais).

Nous rapportons ici six nouveaux patients provenant de 2 familles différentes, porteurs d'une microduplication Xq25 détectée grâce à la technique de CGH-array. La grande similitude phénotypique de ces patients entre eux et avec ceux rapportés dans la littérature confirme bien qu'il s'agit d'un nouveau syndrome cliniquement identifiable. De plus, l'analyse des intervalles dupliqués chez nos patients a permis de redéfinir la région minimale critique de ce syndrome. En effet, le segment dupliqué commun entre les différents patients a une taille de 173 kb et ne comprend plus qu'un seul gène, *STAG2*, qui code une sous-unité du complexe cohésine.

Nous émettons l'hypothèse que l'augmentation du nombre de copies du gène *STAG2*, et la dérégulation de l'expression de ses gènes cibles, pourrait être responsable des caractéristiques cliniques spécifiques observées dans ce syndrome. De ce fait, la microduplication Xq25 peut ainsi être considérée comme une nouvelle « cohésinopathie ».

Mots clés : gène *STAG2* - complexe cohésine - duplication Xq25 - déficience intellectuelle

Microdélétion 17q12 et hernie diaphragmatique

Gaëlle Salaün^{a*}, Stephan Kemeny^a, Céline Pebrel-Richard^a, Eléonore Eymard-Pierre^a, Laetitia Gouas^a, Fanny Laffargue^b, Hélène Laurichesse^c, Philippe Vago^a, Carole Goumy^a

^aCytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont ferrand, France

^bGénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont ferrand, France

^cUnité de médecine foetale, CHU Estaing, Clermont ferrand, France

* auteur correspondant : gsalaun@chu-clermontferrand.fr

Nous présentons le cas d'un enfant porteur d'une hernie diaphragmatique gauche de découverte anténatale associée à des reins hyperéchogènes multi-kystiques. Devant les malformations rénales une recherche de mutation du gène HNF1B/TCF2 avait été réalisée en prénatal et avait permis d'identifier une délétion hétérozygote de l'ensemble des exons de TCF2 survenue *de novo*.

A 5 ans et 8 mois l'enfant présente une hyperréactivité bronchique secondaire à de nombreuses infections respiratoires, un astigmatisme, une dysmorphie faciale modérée et des anomalies squelettiques. Il est scolarisé normalement et ne présente pas de retard psychomoteur.

Une ACPA (Agilent 180K) a permis de mettre en évidence une microdélétion 17q12 de 1,8 Mb emportant 19 gènes codants dont TCF2, LHX1 et PIGW. L'enquête familiale a confirmé son caractère *de novo*.

La microdélétion 17q12 est associée à la présence de reins dysplasiques multikystiques, d'un diabète MODY5 et d'anomalies pancréatiques, hépatiques et génitales. Un retard mental modéré et des troubles neuropsychiatriques ont été rapportés mais il semble exister une pénétrance incomplète pour ces troubles neurocognitifs [1-2]. L'haploinsuffisance du gène TCF2 est responsable des anomalies rénales et du diabète et le gène LHX1 pourrait être impliqué dans les troubles neurologiques. Le gène PIGW, codant pour une protéine du système d'ancrage lipidique de certaines protéines, pourrait être un candidat pour la hernie diaphragmatique congénitale (HDC).

A ce jour, l'association microdélétion 17q12 et HDC n'a été décrite qu'une seule fois [3]. Deux cas de microduplications de cette région ont également été décrits chez des fœtus présentant une HDC [4]. Il semble donc que cette région chromosomique renferme un/des gène(s) impliqué(s) dans le développement du diaphragme. L'utilisation de plus en plus répandue de l'ACPA en prénatal devrait permettre de mieux estimer la prévalence de la HDC dans la microdélétion 17q12, probablement sous-évaluée en post-natal en raison de la forte mortalité de cette malformation.

.../...

.../...

Mots clés : Microdélétion 17q12 - Hernie diaphragmatique congénitale - CGH array

Références bibliographiques

1. 1- Moreno-De-Luca D et al. Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2010; 87(5):618-630.
2. 2- Nagamani SC et al. Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangement in chromosome 17q12. *Eur J Hum genet* 2010; 18(3):278-284.
3. 3- Hendrix NW et al. Prenatally diagnosed 17q12 microdeletion syndrome with a novel association with congenital diaphragmatic hernia. *Fetal Diagn Ther* 2012; 31(2):129-133.
4. 4- Machado IN et al. Copy number imbalances detected with a BAC-based array comparative genomic hybridization platform in congenital diaphragmatic hernia fetuses. *Genet Mol Res* 2011; 10(1):261-267.

Evaluation par les étudiants de travaux pratiques transdisciplinaires d'histologie – anatomie pathologique en classe inversée centrés sur l'ECNi

Matthieu Talagas^{a*}, Arnaud Uguen^a, Aurore Perrin^b, Pascale Marcorelles^a

^aAnatomie et cytologie pathologiques, CHRU Brest, Brest, France

^bCytogénétique et biologie de la reproduction, CHRU Brest, Brest, France

* auteur correspondant : matthieu.talagas@chu-brest.fr

Objet : Travaux pratiques d'histologie et d'anatomie pathologique nouvellement proposés aux étudiants de DFGSM2 et DFGSM3 à la faculté de médecine de Brest au cours de l'année universitaire 2013/2014.

Méthode : L'enseignement était centré sur les pathologies graves et/ou fréquentes illustrant de façon exemplaire les principaux processus anatomo-pathologiques et les structures histologiques associées. Avant chaque séance les étudiants travaillaient un document rédigé par les enseignants. Chaque séance comportait quatre étapes avec successivement un pré-test (QCM d'histologie et d'anatomie pathologique), la lecture des lames par les étudiants, un commentaire par les enseignants, puis un post-test. Un document récapitulatif était ensuite remis aux étudiants, afin de les accompagner dans leurs apprentissages du DFASM, tout en répondant aux attentes de l'ECNi. Un questionnaire d'évaluation de l'enseignement était remis à chaque étudiant à la fin de la dernière séance.

Résultats : Plus de 80% des étudiants considéraient les quatre étapes comme utiles ou très utiles. Les objectifs 1 (savoir identifier les principales structures histologiques) et 2 (connaître les principaux types tumoraux) étaient atteints pour plus de 85% des étudiants. L'objectif 3 (comprendre les comptes rendus anatomo-pathologiques) était également atteint pour plus de 50% des répondants. Le document récapitulatif était jugé très utile par plus de 60% d'entre eux. Ce type d'enseignement (travaux pratiques fournissant un document à travailler et faisant le lien entre deux disciplines) était à transposer à d'autres disciplines selon près de 80% des étudiants.

Conclusion : Les étudiants ont très bien accueilli dans leur grande majorité cet enseignement novateur. 53% des répondants ne savaient pas dire s'il les préparait à l'ECNi. Plus d'un tiers le pensait tout de même. L'ECNi reste encore une notion abstraite pour les étudiants de DFGSM2 et DFGSM3, alors que cet enseignement leur est proposé précocement dans leur cursus.

Mots clés : ECNi - histologie - anatomie pathologique - classe inversée - évaluation

Les cellules microgliales : d'une étude automatisée à l'étude statistique. Exemple de l'impact de la Ketamine

Franck Verdonk^{a,*}, Anne Danckaert^b, Pascal Roux^b, Patricia Flamant^a, Tarek Sharshar^c, Fabrice Chrétien^a

^a *Unité Histopathologie Humaine et Modèles Animaux, Paris, France*

^b *Imagopole, Institut Pasteur, Paris, France*

^c *Réanimation, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France*

* *auteur correspondant : franck.verdonk@pasteur.fr*

Introduction : L'hypothèse d'un effet anti-inflammatoire de la Ketamine (kt) expliquant son efficacité dans les pathologies psychiatriques a été soulevée par certaines études. (1,2) Nous nous sommes intéressés à l'impact précoce de la Kt sur la cellule microgliale, *in vivo*, en développant une méthode d'analyse novatrice et automatisée

Matériel et Méthodes : Utilisant les propriétés de la souris KI Cx3Cr1^{GFP/+}, nous avons modélisé *in vivo* le réseau microglial en 3D à l'aide d'un microscope confocal – spinning disk. La modélisation des cellules a permis l'étude de différents paramètres morphologiques sur près de 2000 cellules/région : densité, aire du corps cellulaire et aire couverte par ces ramifications. Nous avons également défini un index de complexité (IC).

Groupes expérimentaux : n=8 souris contrôles. n=6 souris Kt, injectées 10 minutes avant prélèvement cérébral à la posologie de 20 mg/kg (dose anesthésique).

Résultats : → Groupe contrôle : distribution régionale précise des cellules microgliales. Le cortex frontal (CF) présente une densité cellulaire moyenne (Dmoy) de 457 cellules/mm² associé à un IC moyen de 85,54 versus 202 cellules/mm² et un IC moyen de 26,39 pour le cervelet. La complexité est fortement corrélée à la densité cellulaire toute région confondus (r =0,833, p=0,0004).

→ Dans le groupe Kt.: la Dmoy est similaire au groupe contrôle mais la complexité est en faveur d'une réduction du « branching ». On observe également une réduction du parenchyme cérébral couvert par son arborisation (p<0.0001). Cette différence est très marquée dans le CF, région impliquée dans le syndrome dépressif.

Conclusion : Nous avons développé une approche de quantification automatique des changements morphologiques microgliaux permettant une analyse rapide et puissante. Ce modèle d'analyse permettra une étude pertinente de la neuro-inflammation dans différents modèles pathologiques et renforce l'hypothèse d'un impact de la Kt sur la neuro-inflammation.

Mots clés : microglie, analyse automatisée, neuro-inflammation

Références bibliographiques

1. Berman et al., Antidepressant effects of ketamine in depressed patients, *Biol.Psychiatry* 2000;47(4):351-354;
2. Zarate et al, A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression, *Arch.Gen.Psychiatry*, 2006;63(8):856-864

**Liste
des participants**

Liste des participants

ACHARD Vincent

Université Aix Marseille
Marseille
vincent.achard@univ-amu.fr

AMBROSETTI Damien

CHU Nice
Nice
ambrosetti.d@chu-nice.fr

ANTAL Cristina

Faculté de Médecine - Univ. Strasbourg
Strasbourg
mariacristina.antal@yahoo.com

AOUIZERATE Jessie

CHU Henri Mondor
Créteil
jessieaouizerate@gmail.com

ATTIE-BITACH Tania

Hôpital Necker - Enfants Malades
Paris
tania.attie@inserm.fr

AUTHIER François-Jérôme

Faculté de Médecine de Créteil, UPEC
Créteil
authier@u-pec.fr

BAHADORAN Philippe

Hôpital l'Archet 2
Nice
bahadoran.p@chu-nice.fr

BASSET Céline

Faculté de Médecine
Toulouse
c.leobon@gmail.com

BASSEZ Guillaume

UFR de Médecine
Créteil
guillaume.bassez@inserm.fr

BAUD'HUIN Marc

Université de Nantes
Nantes
marc.baudhuin@univ-nantes.fr

BELAUD-ROTUREAU Marc-Antoine

Université de Rennes 1
Rennes
marc-antoine.belaud-rotureau@chu-rennes.fr

BENZACKEN Brigitte

AP-HP Jean Verdier
Bondy
brigitte.benzacken@jvr.aphp.fr

BERNAUDIN Jean-François

Université Pierre & Marie Curie
Paris
jean-francois.bernaudin@tnn.aphp.fr

BESNARD Aurore

Institut Pasteur
Paris
aurore.besnard@pasteur.fr

BESNIER Laura

CliniSciences
Nanterre
marketing@clinisciences.com

BIREMBAUT Philippe

Hôpital Maison Blanche
Reims
pbirembaut@chu-reims.fr

BITBOL Alain

Abbott Molecular
Rungis
alain.bitbol@abbott.com

BOEHM Nelly

Faculté de Médecine - Univ. Strasbourg
Strasbourg
boehm@unistra.fr

BOUDARD Delphine

Université Jean Monnet
CHU Saint-Etienne
Saint-Étienne
delphine.boudard@univ-st-etienne.fr

BOURTHOMIEU Sylvie

Faculté de Médecine
Limoges
sylvie.bourthomieu@unilim.fr

CABRY Rosalie

CHU Amiens
Amiens
cabry.rosalie@chu-amiens.fr

CAPPELLEN David

Université - CHU de Bordeaux
Bordeaux
david.cappellen@u-bordeaux.fr

CHAPON Françoise

Faculté de Médecine
Caen
chapon-f@chu-caen.fr

CHAULET Hervé

Agilent Technologies
Venissieux

CHAZAUD Claire

Clermont Université Faculté de Médecine
Clermont-Ferrand
claire.chazaud@udamail.fr

CHEFDEVILLE Aude

CR en Neurosciences de Lyon
Lyon
a.chefdeville@hotmail.fr

CHEVRET Edith

Université de Bordeaux
Bordeaux
edith.chevret@u-bordeaux.fr

CHRÉTIEN Fabrice

Institut Pasteur
Paris
fabrice.chretien@pasteur.fr

COHEN-SALMON Martine

Collège de France
Paris
martine.cohen-salmon@college-de-france.fr

COPIN Henri

CHU d'Amiens et Univ. Jules Verne
Amiens
copin.henri@chu-amiens.fr

Liste des participants

COTTIER Michèle

Université Jean Monnet
CHU Saint-Etienne
Saint-Etienne
Michele.cottier@univ-st-etienne.fr

COURTADE-SAIDI Monique

Faculté de Médecine
Toulouse
monique.courtade-saidi@univ-tlse3.fr

DEFRENAIX Pierre

Excilone
Vicq
pierre.defrenaix@excilone.com

DERAMECOURT Vincent

Université de Lille 2
Lille
vincent.deramecourt@chru-lille.fr

DERANGÈRE Valentin

Inserm U866
Dijon
derangere.valentin@neuf.fr

DESESTRET Virginie

Hôpital Neurologique Pierre Werlleine
Bron
virginiedesestret@gmail.com

DUBUS Pierre

Université de Bordeaux
Bordeaux
pierre.dubus@u-bordeaux.fr

DUGAY Frédéric

Université de Rennes 1
Rennes
frederic.dugay@chu-rennes.fr

DUPONT Jean-Michel

Hôpitaux Univ. Paris Centre - Cochin
Paris
jean-michel.dupont@cch.aphp.fr

EL KHATTABI Laïla

Hôpital Cochin APHP
Paris
laila.el-khattabi@cch.aphp.fr

EVARD Solène

IUCT - Oncopole
Toulouse
evrard.s@chu-toulouse.fr

FELLMANN Dominique

Univ. de Franche Comté - CHU de Besançon
Besançon
dominique.fellmann@univ-fcomte.fr

FIETTE Laurence

Institut Pasteur
Paris
lfiette@pasteur.fr

GAY-BELLILE Mathilde

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
mgay-bellile@chu-clermontferrand.fr

GHERRARDI Romain

UPEC & Inserm, AP-HP
Créteil
romain.gherrardi@hmn.aphp.fr

GOUAS Laetitia

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
lgouas@chu-clermontferrand.fr

GOURMY Carole

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
cgourmy@chu-clermontferrand.fr

GOURNAY Marjorie

Université de Rennes 1
Rennes
marjorie.gournay@etudiant.univ-rennes1.fr

GROS Audrey

Hôpital Haut-Lévêque
Pessac
audrey.gros@chu-bordeaux.fr

GUERBAA Myriam

Perkin Elmer
France
myriam.guerbaa@perkinelmer.com

GUIBOURG Briac

CHU Brest
Brest
briac.guibourg@chu-brest.fr

HACHICHA Myriam

IMRB
Creteil
hachicha.myriam@yahoo.com

HARDY David

Institut Pasteur
Paris
david.hardy@pasteur.fr

HEYMANN Dominique

Université de Nantes
Nantes
dominique.heyman@univ-nantes.fr

HILAIRE-SOULE Muriel

Institut Pasteur
Paris

HYON Capucine

AP-HP Hôpital Trousseau
Paris
capucine.hyon@trs.aphp.fr

JABER Mohamed

Inserm 1084 - Université de Poitiers
Poitiers
mohamed.jaber@univ-poitiers.fr

JAUFFRET Vincent

Université de Rennes 1
Rennes
vincent.jauffret@chu-rennes.fr

JOUVION Gregory

Institut Pasteur
Paris
gregory.jouvion@pasteur.fr

KAZDAR Nadia

Université de Rennes 1
Rennes
nadia.kazdar@etudiant.univ-rennes1.fr

Liste des participants

KELLER Maureen

Université de Caen
Caen
maureen.keller@gmail.com

KEMENY Stephan

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
skemeny@chu-clermontferrand.fr

KLEIN Jean-Philippe

Université Jean Monnet
CHU Saint-Etienne
Saint-Etienne
jeanphiklein@hotmail.fr

KOHLER Chantal

Faculté de Médecine de Nancy
Vandoeuvre-Les-Nancy
chantal.kohler@univ-lorraine.fr

KUENTZ Paul

CHU Besançon
Besançon
pkuentz@chu-besancon.fr

LACAVE Roger

Hôpital Tenon
Paris
roger.lacave@tnn.aphp.fr

LACOSTE-COLLIN Laetitia

Faculté de Médecine Rangueil
Toulouse
laetitia.collin@univ-tlse3.fr

LACROIX Odile

CHU La Conception
Marseille
odile.lacroix-paulmyer@ap-hm.fr

LADOIRE Sylvain

Centre GF Leclerc
Dijon
sladoire@cgfl.fr

LAFUSTE Peggy

UPEC - Inserm
Créteil
peggy.lafuste@inserm.fr

LAGANIER Sylvie

Institut Pasteur
Paris
laganier@pasteur.fr

LANDEMORE Gérard

CHU Côte de Nacre
Caen
landemore-g@chu-caen.fr

LATROCHE Claire

Institut Pasteur
Paris
claire.latroche@pasteur.fr

LAVABRE-BERTRAND Thierry

Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes
Nîmes
thierry.lavabre.bertrand@chu-nimes.fr

LECHAPT-ZALCMAN Emmanuèle

Hôpital Sainte - Anne
Paris
e.lechapt@ch-sainte-anne.fr

LEPIDI Hubert

CNRS - AMU
Marseille
hubert.lepidi@univ-amu.fr

LEROY Camille

Hôpital Robert Debré
Paris
camille.leroy@rdb.aphp.fr

LEVALLET Guenaelle

CHU Caen
Caen
guenaelle.levallet@unicaen.fr

LÉVY Jonathan

AP-HP Hôpital Robert Debré
Paris
levyjonath@gmail.com

LLEDO Pierre-Marie

Institut Pasteur
Paris
pierre-marie.lledo@pasteur.fr

MACÉ Bertrand

CHU Charles Nicolle
Rouen
bertmace@gmail.com

MAGNO Flora

Institut Pasteur
Paris
laganier@pasteur.fr

MALAN Valérie

Hôpital Necker - Enfants Malades
Paris
valerie.malan@nck.aphp.fr

MARTIN NEGRIER Marie-Laure

Université de Bordeaux
Bordeaux
marie-laure.martin-negrier@u-bordeaux.fr

MAUDUIT Claire

Hospices Civils de Lyon
Pierre-Bénite
mauduit@univ-lyon1.fr

MAURAGE Claude-Alain

CHRU Lille
Lille
claude-alain.maurage@chru-lille.fr

MAZERAUD Aurélien

Institut Pasteur
Paris
aurelien.mazeraud@pasteur.fr

MC LEER Anne

Institut de Biologie et de Pathologie
Grenoble
aflorin@chu-grenoble.fr

MERLIO Jean-Philippe

Université de Bordeaux
Bordeaux
jp.merlio@u-bordeaux.fr

MONDET Julie

Faculté de Médecine - CHU de Grenoble
Grenoble
jmondet@chu-grenoble.fr

Liste des participants

NATAF Serge

Université Claude Bernard Lyon 1
Lyon
serge.nataf@inserm.fr

PAGÈS Mélanie

CH Saint-Anne
Paris
m.pages@ch-sainte-anne.fr

PELLESTOR Franck

CHRU Montpellier
Montpellier
f-pellestor@chu-montpellier.fr

PELLUARD Fanny

Université de Bordeaux
Cestas
fanny.pelluard@chu-bordeaux.fr

PIPIRAS Éva

Hôpital Jean Verdier
Bondy
eva.pipiras@jvr.aphp.fr

POIROT Catherine

CHI Poissy St-Germain-en-Laye
Saint-Germain-en-Laye
cpoirot@chi-poissy-st-germain.fr

PROST-SQUARCIONI Catherine

UFR Léonard de Vinci
Bobigny
catherine.prost@avc.aphp.fr

RAVEL Célia

Université de Rennes 1
Rennes
celia.ravel@univ-rennes1.fr

RELAIX Frédéric

IMRB U955
Créteil
frederic.relaix@inserm.fr

ROCHETEAU Pierre

Institut Pasteur
Paris
pierre.rocheteau@pasteur.fr

ROMANA Serge

Hôpital Necker - Enfants Malades
Paris
serge.romana@nck.aphp.fr

SALAUN Gaëlle

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
g.salaun@chu-clermontferrand.fr

SIFFROI Jean-Pierre

Hôpital Armand Trousseau
Paris
jean-pierre.siffroi@trs.aphp.fr

SIGALA Julien

Hôpital Jeanne de Flandres
Lille
sigju@yahoo.fr

SILVESTRE Jean-Sébastien

Inserm UMRS 970
Paris
jean-sebastien.silvestre@inserm.fr

SIMON Jean-Philippe

CHU Caen
Caen
jp.simon9@gmail.com

SOIGNON Gaëlle

Hôpital Femme Mère Enfant
Bron
gaelle.soignon@chu-lyon.fr

TALAGAS Matthieu

CHRU Brest
Brest
matthieu.talagas@chu-brest.fr

TCHIRKOV Andreï

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
atchirkov@chu-clermontferrand.fr

THIBAUDIN Marion

Inserm U866
Dijon
marion.thibaudin@hotmail.fr

VAGO Philippe

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
pvago@chu-clermontferrand.fr

VERDONK Franck

Institut Pasteur
Paris
franck.verdonk@pasteur.fr

VÉRONÈSE Lauren

CHU Estaing
Clermont-Ferrand
lveronese@chu-clermontferrand.fr

VUIBLET Vincent

CHU Reims
Reims
vuiblet@chu-reims.fr

YARDIN Catherine

Faculté de Médecine
Limoges
catherine.yardin@unilim.fr



Collège des Histologistes, Embryologistes et Cytogénéticiens

Comité scientifique

Fred Relaix
Sylvain Ladoire

Comité d'organisation

Les membres du conseil d'administration du CHEC :

Fabrice Chretien : *Président*
François Jérôme Authier : *Vice Président*
Virginie Desestret : *Vice Présidente*
Guénaëlle Levallet : *Secrétaire*
Serge Nataf : *Secrétaire Adjoint*
Céline Basset-Leobon : *Trésorière*
Vincent Achard : *Trésorier Adjoint*
Marc Antoine Belaud-Rotureau
Monique Courtade-Saïdi
Sylvain Ladoire

Secrétariat scientifique

Pr. Fabrice Chrétien

Unité Histopathologie Humaine et Modèles Animaux
Département Infection et Epidémiologie
Centre François Jacob (26)-RDC
28, rue du Docteur Roux
75015 Paris - France
Tél. : +33 (0)1 40 61 39 12 - Fax : +33 (0)1 40 61 31 55
E-mail : histo@pasteur.fr

Secrétariat administratif

Alpha Visa Congrès / Histologistes 2015
624, rue des Grèzes - 34070 Montpellier
Tél. : +33 (0)4 67 03 03 00 - Fax : +33 (0)4 67 45 57 97
E-mail : info@histologistes.fr