

25

INTERACTIONS CELLULAIRES

Jean-Louis COUSIN

Président

Geneviève Boulla

Serge Charpak

Daniel Choquet

Michel-Clément Cogne

Pierre-Olivier Couraud

Gérard Cremel

Dominique Croix

Anne Debant

André Groyer

Laurent Journot

Brigitte Kieffer

Véronique le Comte

Jean-Louis Nahon

Philippe Naquet

Jacques Neyton

Thierry Rabilloud

Chantal Rabourdin-Combe

Jean-Pierre Regnault

Danièle Saltarelli

Philippe Vernier

L'évolution de la neurobiologie de l'immunologie et de l'hématologie a été considérable pendant les 10 dernières années ; sorties de l'ère phénoménologique puis de l'ère réductionniste, ces disciplines sont entrées dans celle de l'intégration. L'expérimentation reste centrée sur la cellule mais intégrée dans l'organisme, structurée en système, lui même en interaction permanente avec les autres grands systèmes. Le spectre de ces disciplines va des données les plus structurales aux données les plus physiologiques. Une autre avancée considérable dans ces domaines est celui de l'application médicale.

Il est possible de résumer l'essentiel des problématiques abordées par la biologie des interactions cellulaires en disant qu'elles visent toutes, d'une manière ou d'une autre, à comprendre comment les assemblées, les réseaux de cellules s'organisent dans le temps et dans l'espace pour conférer à ces cellules les propriétés qui leur sont propres. L'objectif de ce vaste domaine de recherche est de comprendre comment des signaux, émis ou reçus, modifient le destin des cellules ou leur activité, et organisent les assemblées cellulaires. De façon plus précise, il s'agit d'analyser comment des signaux, en général de nature chimique (hormones, cytokines, chimiokines, neuromédiateurs, molécules d'adhérence, etc.), parfois de nature physique (lumière, charge électrique, tension superficielle, etc.),

sont transformés en informations significatives. Une information prend un sens pour la cellule quand elle est capable d'adapter le fonctionnement cellulaire à celui d'une assemblée de cellules (réseau d'interaction cellulaires, organe) ou de modifier le destin des cellules (mitose, différenciation, apoptose), en fonction des circonstances de la vie de l'animal.

Ces définitions étant posées, les membres de la section 25 ont identifié quelques thèmes de recherche et les approches méthodologiques qui leurs semblent importants pour les années à venir.

1 – ÉVOLUTION DES THÉMATIQUES

L'évolution des connaissances a continué à un rythme très rapide ces dix dernières années tant au niveau moléculaire que cellulaire. Elle a conduit à renouveler profondément nos conceptions de l'organisation des molécules dans les cellules, et des cellules dans des réseaux (réseaux neuronaux, organes lymphoïdes, etc.). Le changement le plus sensible est le passage d'une analyse des molécules ou des cellules isolées les unes des autres, très réductrice, à l'étude des assemblées moléculaires ou des assemblées cellulaires, plus intégratrice. Les neurobiologistes, en raison de la nature même de l'organe qu'ils étudient, ont dû se rendre compte que la communication entre cellules et la possibilité de transmettre et de traiter des informations dépendait au moins autant de la manière dont les molécules et les cellules sont assemblées que de la nature de ces molécules et de ces cellules elles-mêmes, rejoignant ainsi une notion familière pour les immunologistes. Une grande partie des découvertes majeures de ces dix dernières années concerne l'organisation spatiale des cellules dans les organes, ce qui est particulièrement spectaculaire dans le cas des organes lymphoïdes et du système nerveux. C'est aussi

de l'organisation spatiale des molécules, des composants de la cellule que dépend largement la spécificité du traitement des signaux reçus et émis par les cellules. Le développement de ces concepts a conduit les chercheurs à modifier sensiblement leurs méthodes d'investigation. Il est désormais indispensable d'étudier l'activité des molécules et des cellules *in situ*, dans les cellules elles-mêmes, au sein des réseaux cellulaires fonctionnels, voire chez l'animal entier. Les méthodes d'analyse cellulaire, d'imagerie microscopique, et toutes les techniques afférentes connaissent un développement considérable, tout comme l'obtention et l'étude d'animaux transgéniques. Un dernier groupe de méthodes se développe très vite, celles qui permettent d'analyser les interactions moléculaires de façon plus globale, telles que les « transcriptomes » et « protéomes », néologismes qui traduisent l'évolution conceptuelle à laquelle les biologistes sont confrontés d'une manière générale. Cet aspect sera développé plus loin.

Pour les prochaines années, l'enjeu principal est de pouvoir analyser le fonctionnement dynamique des assemblages de molécules et de cellules. Le défi est, comme toujours, autant conceptuel que méthodologique. Il s'agit de ré-introduire la dimension temporelle dans les investigations.

Plusieurs thèmes de recherche importants qui correspondent au champ d'expertise de la section 25 ont été précisés dans les paragraphes suivants.

1.1 LA MISE EN PLACE DES ASSEMBLÉES MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES

La différenciation des tissus, la morphogénèse du système nerveux et la réponse immunitaire présentent de nombreux points communs : différenciation cellulaire en réponse à des signaux, migration de tout ou partie des cellules, constitution d'assemblées cellulaires. Il

faut souligner que ces signaux ont été extraordinairement conservés au cours de l'évolution, et qu'ils sont étudiés dans un très large éventail d'espèces, au premier rang desquels on trouve le nématode *C. elegans* et la drosophile chez les protostomiens, et le danio (« zebrafish ») et la souris chez les vertébrés.

Signaux de différenciation et développement

Les bases moléculaires et cellulaires de la différenciation ont été clarifiées avec l'identification et le traçage des grands lignages cellulaires (lymphocytes Th1, Th2, Th3 par exemple) et des systèmes de signalisation particuliers, en petit nombre et qui sont mis en jeu dans la morphogénèse et la différenciation des organes. Des avancées importantes ont été réalisées dans l'étude des interactions entre gènes et entre gènes et environnement lors de la différenciation cellulaire, ainsi que dans celle des mécanismes d'expression génique (remodelage chromatinien, facteurs de transcription, réarrangement des gènes et remodelage du génome, etc.). L'identification des cellules souches a ouvert des perspectives considérables dans le domaine de la thérapie génique ou cellulaire. Ces résultats ont permis de classer de nombreux syndromes d'immunodéficience, d'états cancéreux (leucémies, lymphomes, etc.) et des maladies neurologiques.

La différenciation cellulaire dépend de la mise en œuvre de programmes génétiques qui impliquent des réseaux de gènes plus ou moins spécifiques (par exemple les gènes neurogéniques comme *Mash*, *Math*, *neurogénines*, etc., gènes de différenciation spécifiques comme les gènes *LIM-hd*, *MyoD*, *myogénine*, *facteurs GATA*, etc.), régulés et coordonnés par des signaux extracellulaires de type BMP (Bone Morphogenic Protein), FGF (Fibroblast Growth Factor), Hedgehog, etc. ou des hormones des cytokines et des neuromédiateurs). Ces phénomènes doivent être aussi coordonnés avec la sortie du cycle cellulaire et l'apoptose, dont le rôle est majeur au cours de

l'embryogénèse. Ces étapes de régulations sont également celles dont le dysfonctionnement concourt à la transformation cancéreuse des cellules.

Il faut mentionner en particuliers les facteurs sécrétés BMP (famille du Transforming Growth Factor β , TGF- β), Hedgehog, Wnt, et FGF qui, avec leurs récepteurs respectifs (TGF β -R, Patched, Frizzled, FGF-R) et leurs systèmes de signalisation propres (SMAD, Mitogen Activated Protein Kinases, protéines G, β -caténine, etc.) sont capables de diriger toutes les premières étapes de la spécification et de la détermination cellulaire. Ces systèmes de signalisation contrôlent aussi la prolifération cellulaire et sont impliqués dans plusieurs aspects de la cancérogénèse.

La mise en jeu de combinaisons spécifiques de facteurs de transcription est au cœur des mécanismes de différenciation complexes tels que la régionalisation du système nerveux au cours du développement ou la migration des cellules immunitaires. L'établissement de frontières entre les segments du système nerveux et le « homing » des cellules immunitaires fait intervenir des combinaisons de signaux extracellulaires et la mise en jeu de programmes transcriptionnels spécifiques.

Établissement des interactions cellulaires, des connexions

Dans le système nerveux, l'établissement des connexions nécessite d'abord la croissance et le guidage des axones vers leurs cibles, mettant en jeu des molécules de guidage (sémaphorines, netrines, etc.). De même, l'attraction des cellules immunitaires dans les organes lymphoïdes ou les tissus lésés met en jeu des couples de chimiokines et de leurs récepteurs. D'une manière générale, dans un organe, tout phénomène de morphogénèse implique l'échange d'informations par des molécules de reconnaissance intercellulaires. Une deuxième étape est représentée par la « stabilisation » des interactions cellulaires, par exemple, dans le système nerveux, la stabilisation des synapses.

Un ensemble de phénomènes intervient : l'interaction entre les molécules de la matrice extracellulaire et les molécules d'adhérence CAM (Cell Adhesion Molecules), cadhérines, etc., la formation d'échafaudages moléculaires à l'interface entre la membrane plasmique et le cytoplasme, le recrutement des récepteurs des neurotransmetteurs des cytokines et des facteurs de croissance, l'assemblage dynamique des voies de signalisation intracellulaires.

Il est de ce point de vue tout à fait significatif d'observer que de nombreuses molécules que l'on pensait spécifiques, soit du système nerveux, soit du système immunitaire sont maintenant trouvées dans les deux systèmes, où elles contribuent aux mécanismes de reconnaissance entre cellules et à la formation des connexions synaptiques. La synapse immunologique et la synapse neuronale ne sont pas que des métaphores pédagogiques, mais bien l'expression d'une réalité biologique commune.

Pour tous ces systèmes de signalisation, la distribution et l'organisation subcellulaire de leurs composants moléculaires reste très mal connue, et cette description doit rester une priorité des programmes de recherche pour les années à venir.

1.2 ORGANISATION ET DYNAMIQUE DES ASSEMBLÉES MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES

Un aspect critique de la biologie contemporaine est de savoir comment les molécules fondamentales pour le fonctionnement d'un système sont organisées dans l'espace des cellules, mais aussi dans les organes et l'organisme entier. Durant ces vingt dernières années, des milliers de molécules impliquées dans les mécanismes de la signalisation cellulaire ont été isolées. Ces molécules sont, en général, les produits de familles de gènes et forment des « modules » qui confèrent à la transmission des signaux ses particularités et sa spécificité.

Quelques néologismes, « transducisomes » ou « réceptosomes » marquent l'évolution des idées. C'est l'organisation spatiale des molécules dans la cellule qui donne un sens à l'émission et la réception des signaux pour modifier le comportement cellulaire et élaborer les réponses appropriées au sein des réseaux et des systèmes cellulaires.

Le neurone étant par excellence une cellule polarisée et fortement différenciée, la mise en place des assemblées moléculaires y prend un relief particulier, comme dans les synapses (pré et post-synapse) ou les nœuds de Ranvier par exemple. La synapse immunologique formée par les cellules présentatrices de l'antigène et les cellules T est un autre exemple. Cette organisation n'est pas figée, bien au contraire. L'organisation synaptique et sa dynamique, le réaménagement des connexions en fonction de l'activité sont des phénomènes fondamentaux de la physiologie nerveuse et de la réponse immune. Enfin, les mécanismes de la transmission synaptique et non synaptique (« volumique ») des neuromédiateurs, des cytokines ou des hormones restent un domaine de recherche extraordinairement actif.

Propriétés élémentaires des molécules de signalisation

L'identification des propriétés élémentaires des canaux ioniques, des récepteurs, des transporteurs, des molécules d'adhérences, ou de toute autre molécule impliquée dans la signalisation intercellulaire, est toujours un champ d'investigation important. Cette thématique, à la frontière entre biologie structurale, pharmacologie et physiologie, bénéficie désormais des progrès des techniques de modélisation moléculaire, d'analyse structurale des protéines membranaires et de mutagenèse, notamment par l'insertion d'acides aminés modifiés qui peuvent servir de sondes. Ces travaux sont également importants pour comprendre comment ces propriétés élémentaires des canaux et des récepteurs affectent les interactions avec les autres partenaires

des complexes macromoléculaires auxquels ils participent. Enfin, ces données sont indispensables pour connaître les contraintes qu'elles imposent aux propriétés élémentaires des cellules et comment elles peuvent modifier l'activité des celles-ci, (modification des réponses synaptiques au sein des réseaux neuronaux par exemple).

L'assemblage des molécules de signalisation

L'étude biochimique des récepteurs et des molécules de la signalisation intracellulaire a révélé l'extraordinaire multiplicité de combinaisons moléculaires qui conditionne la survenue d'une réponse cellulaire. Chaque récepteur, métabotrope ou ionotrope existe sous plusieurs formes moléculaires (gènes paralogues, variants d'épissage ou d'édition, etc.) et chaque récepteur peut être associé à un ensemble de molécules de signalisation. Par exemple, un récepteur-canal ionique comme le récepteur nicotinique est composé de cinq sous-unités dont chacune existe sous différentes formes, la nature des sous-unités conférant au canal des propriétés particulières. De la même façon, les récepteurs métabotropiques comme les récepteurs tyrosine-kinase ou les récepteurs couplés aux protéines G sont associés à des protéines qui assurent sa localisation au sein des compartiments cellulaires et à d'autres protéines qui participent à des voies de signalisation intracellulaires, l'ensemble étant fortement compartimenté dans la cellule. La spécificité de ces réponses dépend principalement de la manière dont les récepteurs membranaires et les protéines de signalisation s'assemblent à la synapse ou dans des microdomaines de la membrane des cellules, en partie grâce à des molécules d'échafaudage. L'étude de la formation des assemblées moléculaires impliquées dans la transmission des signaux, la description de ces assemblées moléculaires souvent différente en fonction du type cellulaire, ou même en fonction des compartiments subcellulaires va rester, sans aucun doute, l'un des axes forts des recherches pour les années qui viennent.

Dynamique des assemblées moléculaires et cellulaires

Un des rôles de la formation de ces assemblées cellulaires est de conférer un caractère profondément dynamique, plastique aux réponses cellulaires. Ceci fait appel à cette dynamique moléculaire au sein des cellules. Les récepteurs et leurs appareils de transduction de signaux sont diversement recrutés aux points stratégiques pour le fonctionnement cellulaire. La localisation et la composition des molécules qui composent les assemblées, les modules moléculaires sont strictement régulées. Les mécanismes appelés désensibilisation, séquestration, ou changement d'état font en réalité partie d'une régulation plus générale de la compartimentation cellulaire qui conditionne la manière dont une cellule est capable de recevoir et de répondre aux informations extérieures, en fonction son histoire récente. Les interactions entre le cytosquelette, les compartiments vésiculaires et les molécules de la signalisation cellulaire, phénomènes que l'on qualifiait soit de morphologiques, soit de biochimiques, ne sont que les différentes facettes d'un trafic moléculaire très complexe qui commence d'être finement analysé. Les relations entre adhérence cellulaire et ses nombreuses variations, organisation des récepteurs membranaires et compartimentation des voies de signalisation et de régulation ont également connues des avancées spectaculaires. Il s'agit là de thématiques qui connaissent un essor considérable, grâce aux développements technologiques qui permettent de les étudier.

1.3 POINTS SPÉCIFIQUES

Métabolisme et libération des neurotransmetteurs

La manière dont l'arrivée d'un potentiel d'action aux terminaisons axonales est couplée à la libération des neurotransmetteurs et l'identification, l'analyse des étapes complexes de l'exocytose, restent des domaines importants

de la neurobiologie cellulaire. Si la plupart des molécules qui participent au stockage des neurotransmetteurs, au recrutement des vésicules et à la libération des transmetteurs sont identifiées, l'organisation spatiale et l'assemblage dynamique des molécules qui préside à ces phénomènes restent très difficiles à appréhender. Ici encore, les mécanismes d'exocytose et d'endocytose que l'on a longtemps cru spécifiques des neurones ne sont qu'un cas particulier de phénomènes élémentaires de la biologie des cellules en général. C'est la dynamique extrêmement rapide des phénomènes, la difficulté de travailler sur des préparations de synapses et la lourdeur des moyens techniques à mettre en œuvre pour analyser ces phénomènes qui freinent encore les avancées dans cette thématique capitale pour la neurobiologie cellulaire.

Pourtant, des avancées significatives ont été réalisées grâce à la prise en compte d'assemblages moléculaires jusqu'ici inconnus. C'est le cas des mécanismes de recapture des neurotransmetteurs assurés par les transporteurs, dont la régulation dépend de la localisation, du couplage aux canaux ioniques, aux récepteurs et aux voies de signalisation intracellulaires. L'importance de ces mécanismes est encore renforcée par la démonstration de leur implication dans de nombreux phénomènes pathologiques (états délirants, maladie de Parkinson, dépendance aux drogues, etc.).

Sur la question ancienne du métabolisme des neurotransmetteurs, le couplage entre la régulation du métabolisme général des cellules nerveuses et celle de la neurotransmission est un phénomène dont l'importance apparaît croissante. En effet les neurotransmetteurs les plus abondants dans le système nerveux sont soit des acides aminés (glutamate, glycine) soit des dérivés simples d'acides aminés (acide γ -aminobutyrique, catécholamines, indolamines, histamine, etc.), très peu de données existaient sur la façon dont ces composés sont compartimentés entre le métabolisme cellulaire et les voies de neurotransmission. Il semble maintenant évident qu'il existe un ensemble de relations fonctionnelles entre le métabolisme des cellules gliales et celui des neurones, une

balance entre la biosynthèse des neurotransmetteurs et le métabolisme énergétique qui gouverne l'efficacité de la neurotransmission dans beaucoup de systèmes neuronaux, surtout quand ils sont très actifs. Ces phénomènes sont également impliqués dans la physiopathologie de l'épilepsie et d'autres anomalies de l'excitabilité neuronale.

Redécouverte de l'immunité innée et des cellules régulatrices

Les 10 dernières années ont vu l'irruption de nouveaux principes de fonctionnement du système immunitaire :

– a) la « re » découverte de l'immunité naturelle qui a permis de repositionner l'ensemble de la discipline conceptuellement (théorie Soi/non-Soi versus Danger/Innocuité) et opérationnellement (nouveaux protocoles de vaccination ou de tolérisation notamment dans le domaine de la cancérologie et des maladies infectieuses). Cette redécouverte est parfaitement ancrée dans le domaine des interactions cellulaires à travers l'identification des récepteurs Toll et co-sigaux d'activation lymphocytaire, des médiateurs (chimiokines ou cytokines, molécules d'adhérence de signalisation, les « cluster of differentiation ») permettant le fonctionnement du système immunitaire, la redécouverte des cellules dendritiques, des lymphocytes natural killer (NK), et d'autres sous populations cellulaires lymphocytaires ou macrophagiques ;

– b) la notion de suppression elle aussi occultée pendant de nombreuses années (cellules régulatrices) qui joue un rôle central dans le contrôle des pathologies autoimmunes. Les premiers gènes (hors Human Leucocytes Antigens) de prédisposition aux pathologies autoimmunes ou infectieuses commencent à être identifiés ;

– c) la notion d'homéostasie des cellules immunes, à la base des processus de mémoire et de mise en place de réponses immunitaires dans le temps et l'espace Thématiques en perte de vitesse.

La réintégration de ces données dans l'organisme

L'analyse dynamique des microenvironnements tissulaires permet l'organisation des fonctions dans le temps et l'espace, en physiologie comme en pathologie. Ceci conduit à considérer les interactions entre « systèmes » avec une finesse accrue. Par exemple, un domaine totalement réinvesti par les immunologistes est celui des pathologies infectieuses à la recherche des facteurs de virulence des microorganismes et de susceptibilité chez l'hôte. Des pathologies comme le SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise), l'expansion des pathologies tropicales anciennes (tuberculose, paludisme, etc.) ou nouvelles (fièvres hémorragiques, etc.) ont profondément réorienté les recherches dans ce domaine.

L'irruption de nouveaux modèles animaux (drosophile, nématode par exemple) ou végétaux (défense anti-infectieuse des plantes) a joué un rôle moteur, la mise à plat des génomes des procaryotes ayant fourni de nouveaux objets d'étude.

Ces champs d'investigation, qui incluent l'étude de la compartimentation des signaux cellulaires, l'analyse génomique structurale et fonctionnelle, la biologie structurale ou la physiologie des organes débordent le cadre strict de l'expertise de la section 25. Ils sont à la frontière de celle des sections 23, 24, 26 et 28. La spécificité de la section 25 reste celle de la dynamique des assemblées cellulaires et des signaux qui les coordonnent, comme nous l'avons défini dans l'introduction.

1.4 THÉMATIQUES EN PERTE DE VITESSE

Certains aspects des recherches qui étaient considérés comme importants il y a encore quelques années semblent aujourd'hui un peu désertés ou désaffectés. En particulier, les approches fondées sur une seule méthode

qu'elle soit biochimique, électrophysiologique, anatomique ont montré leurs limites. Il semble difficile aujourd'hui d'obtenir des résultats significatifs sur les récepteurs, les canaux ioniques ou les voies de signalisation intracellulaires, par une approche purement moléculaire, anatomique, pharmacologique, physiologique simplement descriptive.

Quelques disciplines, comme la neuroimmunologie, ou la neuroendocrinologie ont perdu de leur autonomie pour se fondre dans des thématiques plus larges des neurosciences ou de l'immunologie. Les questions qu'elles abordent n'ont pas perdu de leur actualité ou de leur intérêt, bien au contraire. Il suffit pour s'en convaincre de voir les investissements considérables qui sont mis en œuvre pour comprendre le rôle de peptides comme la leptine, la MCH (Melanocyte Concentrating Hormone) ou la cortistatine dans les mécanismes de la faim et du sommeil. L'immunologie des infections du système nerveux, en particulier virales (virus de l'immunodéficience humaine, rougeole, etc.), et des maladies à composantes autoimmunes comme la sclérose en plaque est activement étudiée. Cependant toutes ces questions s'intègrent dans la problématique plus générale des mécanismes de transmission des signaux et de reconnaissance intercellulaire.

2 – DÉVELOPPEMENT TECHNOLOGIQUE ET INSTRUMENTATION

La réflexion menée ici concerne les développements méthodologiques et instrumentaux récents qui ont considérablement modifié les questions posées et qui sont souvent moteur dans l'évolution des thématiques. Par exemple :

- l'étude de la compartimentalisation de la transduction du signal par des méthodes optiques ;

– l'étude des édifices moléculaires (protéomique) et de leur réactivité (méthodes optiques) ;

– les principaux bouleversements méthodologiques concernent :

– les analyses globales et à grande échelle : transcriptomes, protéomes, bioinformatique ;

– la préparation des échantillons : tri cellulaire en flux, microdissection ;

– les collections d'échantillons biologiques ;

– les méthodes d'observation moléculaires : microscopie, optique non linéaire, développement de sondes, traitement de l'image.

- Les méthodes de modification génique (transgénése, recombinaison homologue, etc.) qui ont donné les bases moléculaires à la physiologie et physiopathologie des systèmes intégrés. Le défi est de pouvoir utiliser ces techniques de manière plus souple et plus rapide, en réinvestissant l'analyse génétique issue de croisements adéquats (ce qui pose des problèmes de logistique au sein des animaleries, loin d'être résolu) et en développant de nouvelles méthodes d'inactivation génique utilisables *in vivo* (on attend beaucoup de l'interférence par les ARN -RNAi- sur les cellules souches par exemple). Ces méthodologies devraient permettre l'étude des interactions géniques à l'échelle de comportements cellulaires chez l'animal.

Des banques de ressources seront de plus en plus nécessaires (congélation d'embryons, cellulothèques, etc.).

- Les méthodes d'analyse subcellulaire principalement basées sur l'imagerie dynamique ont permis d'identifier de nouvelles structures et fonctions cellulaires. C'est le cas par exemple de l'exploration des cellules dendritiques ainsi que le développement de la « microbiologie cellulaire » permettant la visualisation du devenir d'un pathogène à l'intérieur d'une cellule. Un autre domaine en pleine expansion est celui de l'étude des interactions moléculaires à l'échelle des membranes qui ont permis la

définition de structures dynamiques au niveau de la synapse neurologique ou immunologique ou de complexes de transduction comme les microdomaines (« rafts »). L'avenir devra probablement apporter les moyens de quantification des processus biologiques (définition moléculaire de seuils d'activation cellulaire, demi-vie des interactions et des molécules mRNA, protéines au sein de la cellule, dynamique intra cellulaire à l'aide d'étiquettes permettant de suivre les molécules, etc.).

- Les méthodes de simulations sont encore peu utilisées dans les champs relevant de la commission 25, mais on peut anticiper une évolution forte dans les domaines des réseaux de signalisation, de la biologie des populations cellulaires et des flux cellulaires *in vivo*.

- Certaines des techniques évoquées ci-dessus appellent la création de structures d'une taille encore peu courante en biologie. On citera les équipements liés aux manipulations génétiques et à l'analyse de leurs conséquences phénotypiques : animaleries transgéniques, clinique souris, imagerie *in vivo* (Résonance Magnétique Nucléaire du petit animal, micro Positron Émission Technology). Dans le domaine de la protéomique, de nouvelles techniques telles que le FTICR (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance mass spectrometry) devraient être accessibles à la communauté relevant de la section 25. Le développement de ces plateaux techniques de taille plus ou moins conséquente a pour conséquence un mode production des connaissances structuré en réseaux d'équipes fortement pluridisciplinaires :

- Dans le domaine des méthodes optiques, les chimistes ont un rôle important à jouer dans le développement de nouvelles sondes fluorescentes. Un exemple de cette démarche est la mise au point de sondes sensibles au calcium ou de la GFP (Green Fluorescence Protein) et de ses dérivés. Le développement de nouvelles sondes fluorescentes doit également s'accompagner d'efforts dans la mise au point de nouvelles techniques d'imagerie (Fluorescence Résonance Energy Transfer et

Bioluminescence Resonance Energy Transfer, imagerie multiphotonique, microscopie à ondes évanescentes, optique non linéaire dans le cas de l'imagerie par génération de seconde harmonique).

La notion de micro-domaines lipidiques (« rafts ») s'est récemment imposée dans le domaine de la transduction du signal ; il s'agit d'un domaine où la culture en physico-chimie et physique des membranes des chercheurs de la section 15 pourrait trouver une application intéressante dans le cadre de l'étude de la dynamique de ces micro-domaines.

- Différentes problématiques couvertes par la section 25 impliqueraient une meilleure compréhension de la mécanique tant au niveau de la cellule que des tissus : compréhension du fonctionnement des enzymes mécanosensibles (mécanique au niveau moléculaire), motilité cellulaire (mécanique au niveau cellulaire), embryogénèse (mécanique au niveau des tissus), etc. Ce type de problèmes devrait pouvoir bénéficier d'approches interdisciplinaires et les physiciens pourraient y jouer un rôle intéressant en développant de nouvelles approches tant expérimentales que modélisatrices. Par ailleurs, les mécanismes d'adhésion cellulaire sont fondamentaux dans nombres de phénomènes en immunologie et neuroscience (diapédèse, pousse neuritique, etc.). Là encore les méthodes physiques pour caractériser ces mécanismes peuvent apporter des renseignements quantitatifs nouveaux.

Réciproquement, d'autres domaines de la connaissance devraient bénéficier des avancées faites dans les champs couverts par la section 25 :

- l'étude des systèmes intégrés (section 26) ne peut que bénéficier d'une meilleure compréhension des interactions entre cellules ;

- les approches « à grande échelle » doivent identifier de nouveaux gènes impliqués dans les communications cellulaires et qui peuvent constituer de nouvelles cibles thérapeutiques (section 22).

3 – INTERDISCIPLINARITÉ

On ne développera pas ici des Thèmes qui ont été largement abordés ailleurs. Soulignons néanmoins que l'on peut attendre un renforcement des interactions entre les laboratoires relevant de la section 25 et ceux d'autres sections surtout dans les domaines de l'imagerie (sections 04, 08) de la protéomique (section 20), de la biologie structurale (sections 05, 21), de la pharmacologie (section 22) et de la bioinformatique (section 07). Cette pratique existe déjà dans certains laboratoires, mais se trouve freinée par la faiblesse des crédits qui lui sont spécifiquement alloués, par la difficulté de son évaluation et par l'impossibilité de recruter de véritables Ingénieurs de Recherche ayant une véritable compétence d'ingénieur. La création à l'étranger d'Instituts spécialisés dans la biologie à grande échelle (RIKEN, NIH, MIT, Université de Singapour, HUPO, etc.) ou dans les méthodes optiques (MPI Göttingen et Heidelberg) devrait être prise en compte et pourrait inspirer des développements similaires en France.

4 – LE FUTUR

Vers plus de quantification, d'intégration, de régulation et de moyens d'intervention ?

L'intégration augmente à tous les niveaux d'étude mais en ce qui concerne le domaine des interactions cellulaires, on peut citer quelques applications majeures : régulation génique à grande échelle lors de la mise en place des fonctions cellulaires (transcriptome, protéome), analyse de fonctions cellulaires à l'échelle de populations, suivi dynamique dans le temps (résolution temporelle de plus en plus fine) ou l'espace (imagerie du petit animal), intégration des fonctions des cellules au sein de l'organisme (interface entre l'immunologie, la microbiologie, l'endocrinologie, la neurologie

notamment justifiant parfaitement le format de la section 25). Si les deux premiers niveaux d'étude sont surtout affectés par des phases de développement méthodologique, le dernier niveau repose plus sur des données conceptuelles : identité de fonctions cellulaires et moléculaires entre les différents modèles d'étude (fonction des cytokines dans le cerveau, interactions entre métabolisme lipidique et inflammation, rôle des neuromédiateurs ou des canaux ioniques sur les fonctions lymphocytaires, etc.), analyse de nouveaux modes d'interaction inter-systèmes (lignages cellulaires communs : macrophage et ostéoclaste, microglie ; re-programmation cellulaire ; rôle du système immunitaire dans les pathologies à prion ; réservoirs cellulaires de pathogènes, virus de l'immunodéficience humaine).

5 – COMMENTAIRES GÉNÉRAUX

L'un des constats majeurs concernant la discipline est l'impact déterminant des sociétés de biotechnologies sur l'évolution de ces thématiques (chimiokines, cytokines, molécules d'adhérence, génomique fonctionnelle, techniques de cultures de cellules souches, etc.) ayant entraîné un « brain drain » assez considérable de l'Europe vers les États Unis. À un moment clef qui verra l'irruption de nouveaux médicaments, la France n'a peut-être pas assez préservé son potentiel de pointe et risque de voir lui échapper de nombreuses applications.

Par ailleurs le retour aux modèles physiologiques impose le développement accru d'animales capables de faire face à des approches génétiques lourdes nécessaires pour explorer les pathologies chroniques multifactorielles et au développement de modèles infectieux. Cet effort a été entrepris : sera-t-il suffisant ?