



G-CSF POUR LA SLA : DES SOURIS AUX HUMAINS

Caterina Bendotti, Italie

Subvention : € 70 000

Il n'y a actuellement aucun traitement efficace contre la SLA, l'issue de cette maladie est dramatique et rapidement fatale. Plusieurs études récentes se sont concentrées sur l'utilisation potentielle de cellules dérivées de moelle osseuse (BMC), en particulier sur les cellules souches les plus immatures pour réparer des lésions du système nerveux comme celles qui surviennent sur les motoneurons de patients atteints de SLA. L'intérêt des BMC a été conforté par l'observation que des stimuli spécifiques et des conditions d'environnement appropriées permettent leur transdifférenciation in vitro en différents types de cellules adultes, dont les cellules neurales et gliales. L'utilisation de ces cellules souches in vivo induit des améliorations fonctionnelles dans certains modèles expérimentaux d'accident vasculaire cérébral et de maladie de Parkinson. De plus, la possibilité de régénération neuronale à partir de BMC est renforcée par les démonstrations, sur des modèles animaux de la migration possible de ces cellules du sang périphérique (SP) vers le système nerveux central (SNC) et de leur capacité à stimuler la croissance à la fois de cellules de la microglie et du neuroectoderme. Des observations similaires ont été rapportées pour des cellules souches dérivées de moelle osseuse humaines.

Depuis plusieurs années, la mobilisation des BMC fait partie intégrante de façon courante des protocoles de transplantation utilisés pour traiter des maladies hématologiques sévères. L'ensemble de ces observations confortent l'intérêt d'étudier l'utilisation des BMC pour traiter des patients atteints de SLA. Grâce à sa puissante capacité de mobilisation, le facteur de croissance granulocytaire G-CSF est la cytokine la plus souvent employée dans les protocoles de transplantation. Des études suggèrent que le G-CSF a des effets protecteurs chez le modèle de souris transgénique SOD1, on ne sait pas encore si ces effets sont dépendants de la mobilisation et la migration de BMC vers le système nerveux central. Il existe aussi des 1^{ères} données chez des patients atteints de SLA issues d'études en ouvert qui montrent que le G-CSF pourrait avoir des effets en ralentissant la progression de la maladie. .

Par conséquent, nous proposons de réaliser les études précliniques pertinentes pour valider le bénéfice potentiel du G-CSF et pour étudier ses mécanismes d'action en vue de démarrer un essai clinique.

Dans ce projet, nous étudierons les effets du G-CSF chez la souris transgénique SOD1G93A, le plus fiable et le mieux caractérisé des modèles de SLA familiale. Nous comparerons les effets de 2 doses de G-CSF : 30 µg/kg, dose qui a démontré une efficacité modeste sur la durée de vie de la souris SOD1G93A par un effet neuroprotecteur partiel des motoneurons, et la dose de 300 µg/kg, pour laquelle ont été démontrés des effets neuroprotecteurs et des améliorations fonctionnelles dans différents modèles expérimentaux de neurodégénération en induisant le passage des BMC dans le système nerveux central en favorisant la neurogénèse.





Le plan d'expérimentation est le suivant :

Comme 1^{ère} étape, 3 groupes de souris SOD1G93A vont recevoir par voie sous cutanée 30 µg/kg ou 300 µg/kg ou le placebo chaque jour 5 jours par semaine pendant 2 semaines. Ces souris seront analysées pour 1) comparer l'efficacité des 2 doses de G-CSF pour augmenter les niveaux de CD34, un marqueur des cellules souches myéloïdes, dans le sang et dans le système nerveux central (moelle épinière et cerveau) à l'aide d'un protocole standardisé de cytométrie en flux 2) surveiller les niveaux de G-CSF dans le sang par ELISA et pour finir dans les tissus du SNC.

Quelques souris recevront, en plus du G-CSF, une injection intra péritonéale de EdU 50/mg/kg (InVitrogen), un marqueur de la prolifération des cellules. Ceci permettra de comparer les effets des 2 doses de G-CSF sur le nombre et le phénotype des cellules induites dans le système nerveux central (à la fois de la moelle osseuse marquée avec l'anticorps CD34 et de prolifération locale de microglie avec l'anticorps CD11b).

Dans la 2^e étape, 3 autres groupes de souris SOD1G93A recevront par voie sous cutanée 30 µg/kg ou 300 µg/kg ou le placebo chaque jour 5 jours par semaine, en commençant à l'apparition des symptômes et jusqu'à ce que les animaux atteignent la phase terminale de la maladie. La progression de la maladie et la durée de survie seront évaluées selon des protocoles standardisés habituellement utilisés dans le laboratoire de C. Bendotti.

Le sang, la moelle épinière, le cerveau et les nerfs des souris en phase terminale seront collectés pour des analyses histo-pathologiques et biochimiques ultérieures.

Le projet démarrera le 15 septembre et nous espérons obtenir les résultats dans 18 mois.

Si le G-CSF montre des effets positifs sur le passage de cellules dans le système nerveux central et sur la progression de la maladie, alors un panel de cytokines pertinentes pour la SLA incluant les cytokines retrouvées par Chio et al. modifiées après traitement par G-CSF dans le liquide céphalo rachidien et le sérum de patients SLA (étude préliminaire de Chio et al. , Muscle et Nerve, sous presse), seront mesurés par ELISA et RT-PCR dans le sang et les tissus du SNC collectés dans les étapes 1 et 2. Cette partie de l'étude, qui fournira d'autres éléments pour comprendre les mécanismes du G-CSF nécessitera probablement une demande d'extension de la subvention accordée par la Fondation.

En conclusion, cette étude nous permettra d'évaluer les mécanismes d'action d'un effet bénéfique potentiel du G-CSF dans des modèles animaux fournissant les informations clés pour planifier un future essai multicentrique, en double aveugle contre placebo chez des patients SLA, essai qui sera coordonné par le Professeur Adriano Chio, directeur du Centre SLA de Turin

ÉQUIPE

Le **Dr Caterina Bendotti** est chef du laboratoire de neurobiologie moléculaire, département des neurosciences de l'Institut de recherches pharmacologiques Mario Negri à Milan. Le Dr Bendotti et son équipe sont reconnus internationalement pour leur expertise en matière de modèles animaux de neurodégénérescence, spécifiquement pour la caractérisation neuropathologique et comportementale de modèles murins de SLA. Une de ses contributions majeures est le développement de directives sur l'utilisation de modèles animaux précliniques de SLA pour tester de nouvelles thérapeutiques.



Le traitement par G-CSF est-il bénéfique dans la SLA ?

Appel à projets 2010

Subvention: 70 000 €

Durée du projet : 18 mois

Investigateurs: Ilaria Caron (IP) & Caterina Bendotti, Laboratoire de Neurobiologie Moléculaire, , Dept. Neuroscience, Mario Negri Institute for Pharmacological Research, Milan, Italie

Point sur les résultats Décembre 2012

Le G-CSF (Granulocyte colony-stimulating factor) est une cytokine largement utilisée en clinique pour mobiliser les cellules souches hématopoïétiques vers le sang périphérique. Comme il a été démontré que les cellules souches hématopoïétiques pouvaient migrer du sang vers des zones endommagées du Système Nerveux Central (SNC), l'utilisation en thérapeutique du G-CSF a été proposée pour les maladies neurodégénératives incluant la SLA.

Des études précédentes avaient dans un modèle murin de SLA montrées un effet bénéfique du G-CSF, cependant le traitement avait été donné bien avant l'apparition des symptômes, ce qui ne se retrouve pas en clinique. Il était donc important de vérifier l'effet du traitement dans des conditions plus proche de la clinique.

L'étude a été réalisée sur des souris transgéniques SOD1G93A, le modèle le plus largement reconnu, le traitement a été commencé lors du début des symptômes. L'évaluation a porté sur les signes cliniques et sur la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques et leur migration dans le SNC. Le traitement par GSF augmente clairement le nombre de cellules microgliales dans la moelle épinière. Toutefois, malgré cet effet, il n'y a pas de bénéfice retrouvé sur la survie, la plus forte dose de GCSF étant même délétère lorsque la maladie est plus grave.