

> la migration de ces cellules mutantes dans le côlon, lui-même sain; et chez les souris *lethal spotted*, l'absence du ligand *edn3*, habituellement produit par l'intestin embryonnaire, rendait impossible la migration des cellules de la crête neurale dans le tube digestif.

Quelques années plus tard, le groupe de Nicole Le Douarin montra que l'endothéline 3 stimule fortement la prolifération des cellules de la crête neurale et les maintient dans un état indifférencié. On comprenait donc mieux l'affection de certains bébés présentant l'association d'une maladie de Hirschsprung et d'anomalies de pigmentation de la peau (syndrome de Waardenburg de type 4) : en l'absence d'endothéline 3, les cellules de leur crête neurale s'étaient différenciées prématurément en neurones. Or ces derniers ne migrent pas. Ils n'avaient donc pas envahi la partie la plus terminale du tube digestif, le côlon. L'endothéline 3 endosse ainsi deux rôles dans l'organisme: elle régule la pression artérielle chez l'adulte et retarde la différenciation cellulaire chez l'embryon. On nomme *moonlighting* («travail au noir») la capacité d'une protéine à remplir plusieurs rôles; la recherche révélera peut-être à l'avenir une unité cachée derrière ces fonctions en apparence si différentes.

L'histoire n'était cependant pas terminée. Les études génétiques montrèrent que les gènes de l'endothéline 3 ou de son récepteur n'étaient mutés que chez 5% environ des cas humains de

Hirschsprung. L'endothéline était donc bel et bien un acteur de la maladie, mais *quid* des 95% restants? La découverte en 1994 d'une seconde famille de gènes impliqués dans la maladie brava les recherches sur un récepteur nommé RET.

LA PISTE DU CHROMOSOME 10

Le groupe d'Arnold Munnich, à l'hôpital Necker enfants malades, à Paris, ainsi que celui de Giuseppe Martucciello, à l'université de Gênes, avaient découvert un patient atteint d'aganglionose intestinale totale (une maladie de Hirschsprung très étendue) auquel il manquait un fragment de chromosome 10. Ce fragment contenait donc probablement un gène essentiel à la migration des cellules de la crête neurale dans l'intestin. Des études de corrélation de séquences d'ADN dans des familles comportant plusieurs sujets atteints de la maladie permirent de resserrer l'étau autour d'une région particulière de ce chromosome.

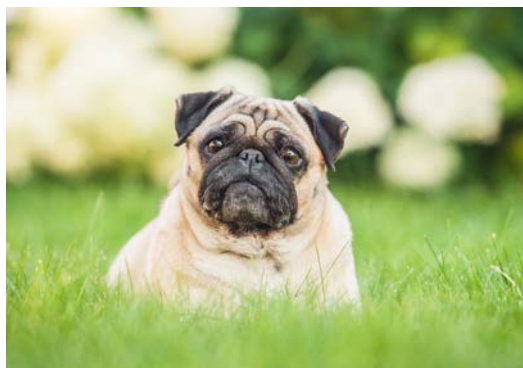
L'année suivante, on montra que nombre de malades portaient une mutation dans un gène de cette région qui codait le récepteur RET; l'invalidation des deux copies de ce gène chez la souris donnait lieu à des intestins dépourvus de ganglions nerveux ainsi qu'à des malformations rénales. La surexpression du gène menait au contraire à des cancers agressifs – de la thyroïde, par exemple. On trouve ici un exemple frappant d'un paradigme qui s'est imposé ces dernières années à la communauté scientifique: détournés

L'HYPOTHÈSE DE DOMESTICATION

La maladie de Hirschsprung a aidé à comprendre un tout autre phénomène: la domestication. Cette dernière consiste à croiser successivement des individus d'une espèce afin d'accentuer un trait, par exemple la masse d'entrecôte d'une vache ou la gentillesse d'un chien. Dans son ouvrage de 1868 *The Variation of Plants and Animals under Domestication*, Charles Darwin nota un ensemble de changements morphologiques et comportementaux communs à tous les mammifères sauvages domestiqués: ils deviennent plus dociles, leur pelage change de couleur et se tache, leurs dents et leur mâchoire rétrécissent, les oreilles jadis pointues tombent. Des changements similaires s'opèrent aussi chez les poissons, les oiseaux.

Leur origine demeurerait mystérieuse jusqu'à ce qu'en 2014, Adam Wilkins, de l'université Humboldt, à Berlin, et ses collègues proposent une explication pour le moins séduisante. La sélection fondée sur la docilité tend à favoriser des individus ayant des réactions moins violentes. Or la violence est directement liée aux hormones de stress sécrétées par une partie de la glande surrénale dont les cellules proviennent de... la crête neurale. Un examen des changements observés par Darwin montre qu'ils sont tous liés à des organes formés par des cellules de la crête neurale: la mâchoire, les dents, le cartilage des oreilles, les pigments du pelage, etc. La domestication favoriserait ainsi, par des modifications génétiques ou épigénétiques, des individus ayant un léger déficit dans la quantité ou la vigueur migratoire des cellules de la crête neurale, ce qui se traduirait non seulement par une plus grande docilité, mais aussi par l'ensemble des traits que Darwin a constatés.

En 2017, une équipe menée par le paléogénéticien Ludovic Orlando, du Muséum d'histoire naturelle du Danemark et de l'université de Toulouse, a apporté une preuve en faveur de cette hypothèse: en étudiant le génome de chevaux d'un peuple nomade de l'âge du Fer, elle a montré qu'une forte proportion des mutations sélectionnées au cours de la domestication concernaient des gènes liés à la crête neurale.



chez l'adulte, les gènes de l'embryogenèse entraînent des cancers.

Quel est le rôle du récepteur RET dans la formation du système nerveux entérique? La réponse ne se fit pas attendre. Peu auparavant, on avait isolé une molécule, nommée GDNF, concentrée dans les reins et l'intestin d'embryons de grenouille. Des chercheurs firent le lien avec les déformations rénales et intestinales observées chez des souris dépourvues de RET. Suivant cette piste, ils montrèrent que GDNF était son ligand. À l'instar du couple *edn3-EDNRB*, le récepteur RET était exprimé à la surface des cellules de la crête neurale tandis que son ligand GDNF était concentré dans le tissu, devant le front de migration. Comme des fourmis tâtant de leurs antennes les traces de phéromones les menant à une source de nourriture, les cellules de la crête neurale suivaient la route du GDNF. Sans GDNF ou son récepteur RET, elles perdaient leur sens de l'orientation et ne migraient plus dans l'intestin.

UN MARATHON PÉRILLEUX

Ainsi, on connaît deux causes génétiques majeures de la maladie de Hirschsprung: des mutations touchant les couples *edn3-EDNRB* et *GDNF-RET*. On estime que la majorité des cas sont liés à un dysfonctionnement de la protéine RET. Cependant, des mutations du gène *RET* ne sont identifiées que dans environ 20 à 25% des cas. La majorité des patients produisent moins de protéine RET, conséquence d'une variation de régulation de l'expression du gène. Cette variation étant fréquente dans la population générale, elle ne suffit pas pour provoquer la maladie, mais constitue un facteur de prédisposition auquel s'ajoutent d'autres facteurs génétiques touchant un ou plusieurs gènes impliqués dans le développement du système nerveux intestinal.

Aujourd'hui, malgré ces avancées considérables et la découverte d'autres gènes impliqués, on ne sait établir de relation entre génotype et maladie que dans 50% des cas environ. Il est vraisemblable que les gènes susceptibles d'intervenir soient nombreux et variés. Plusieurs équipes, comme celle de Stanislas Lyonnet et Jeanne Amiel, à l'institut Imagine, à Paris, ou de Sylvie Dufour, à l'institut Mondor de recherche biomédicale, à Créteil, continuent de les caractériser.

On comprend en fait intuitivement que les causes de l'aganglionose du côlon sont multiples: pour coloniser l'ensemble du tube digestif, les cellules de la crête neurale doivent courir un marathon tout en se divisant. Ce périple est non seulement long, mais minuté: l'intestin s'allonge exponentiellement au cours du développement embryonnaire et atteint près de 3 mètres chez un nouveau-né. Les cellules migrantes ayant pris du retard courent le risque de ne pas franchir la ligne d'arrivée. Dans mon laboratoire, nous

avons par ailleurs montré que l'élasticité du tissu influe sur la migration: alors que les cellules de la crête neurale migrent initialement au travers d'un assemblage cellulaire très accommodant, celui-ci gagne en consistance d'heure en heure, déposant des fibres musculaires et de collagène qui structurent le tissu. Ces fibres et les muscles qui se différencient progressivement rendent la migration de plus en plus ardue. Des mutations des gènes codant le collagène ou des enzymes qui le découpent sont ainsi des candidats potentiels à certains cas non élucidés de la maladie et d'autres neurocristopathies.

Actuellement, l'identification des gènes impliqués dans la maladie de Hirschsprung permet de constater si une mutation associée est transmise au fœtus et de donner une probabilité d'apparition chez l'enfant. Néanmoins, on ne sait pas détecter le défaut de migration cellulaire durant la grossesse. De plus, à cause de l'expressivité variable des gènes impliqués, on ne sait pas non plus prévenir les formes les plus graves comme l'aganglionose totale, pour laquelle il n'existe aucune solution chirurgicale.

D'un point de vue thérapeutique, l'injection de cellules souches de la crête neurale pour rattraper les défauts d'innervation chez le nouveau-né est à l'étude. Des chercheurs ont ainsi récemment montré que, transplantées dans le côlon de souris *lethal spotted*, des cellules souches de la crête neurale humaine migraient et se différenciaient en neurones; toutes les souris transplantées ont survécu. Cependant, les difficultés sont encore nombreuses avant de passer à l'humain: quelle source de cellules souches? Comment les injecter et évaluer, au-delà du taux de survie, le rétablissement de la fonction digestive? Pour l'heure, la chirurgie reste la meilleure solution: des améliorations de la procédure de Swenson permettent de mieux préserver l'innervation du rectum et de la vessie et mènent à une guérison dans 95% des cas; les taux de complication postopératoire sont de l'ordre de 5 à 15%.

On dit souvent que la recherche du *xxi*^e siècle sera l'œuvre d'équipes spécialisées organisées dans des consortiums multinationaux. La vision romantique du savant solitaire laissant libre cours à ses observations et déductions a-t-elle encore une place? Une littérature scientifique partagée par tous est une clé qui a permis les avancées prodigieuses dans notre compréhension de la maladie de Hirschsprung. Mais ces fulgurances portent aussi, et même avant tout, la marque du coup d'œil singulier et obstiné d'individus: Harald Hirschsprung, qui posa le premier diagnostic de la maladie, Orvar Swenson, qui s'en remit à son bon sens plutôt qu'aux doctrines de l'époque, Nicole Le Douarin, qui déploya tout le potentiel d'une simple observation sur le noyau des cellules de caille... On le voit, le romantisme du savant, celui ne confinant pas à l'isolement, est plus que jamais d'actualité. ■

BIBLIOGRAPHIE

N. R. Chevalier et al., **How tissue mechanical properties affect enteric neural crest cell migration**, *Scientific Reports*, vol. 6, article 20927, 2016.

T. N. E. Butler et P. A. Trainor, **The developmental etiology and pathogenesis of Hirschsprung disease**, *Transl. Res.*, vol. 162, 1-15, 2013.

O. Swenson, **Hirschsprung's disease : A review**, *Pediatrics*, vol. 109(5), pp. 914-918, 2002.

M. D. Gershon, **The Second Brain**, HarperCollins, 1998.