

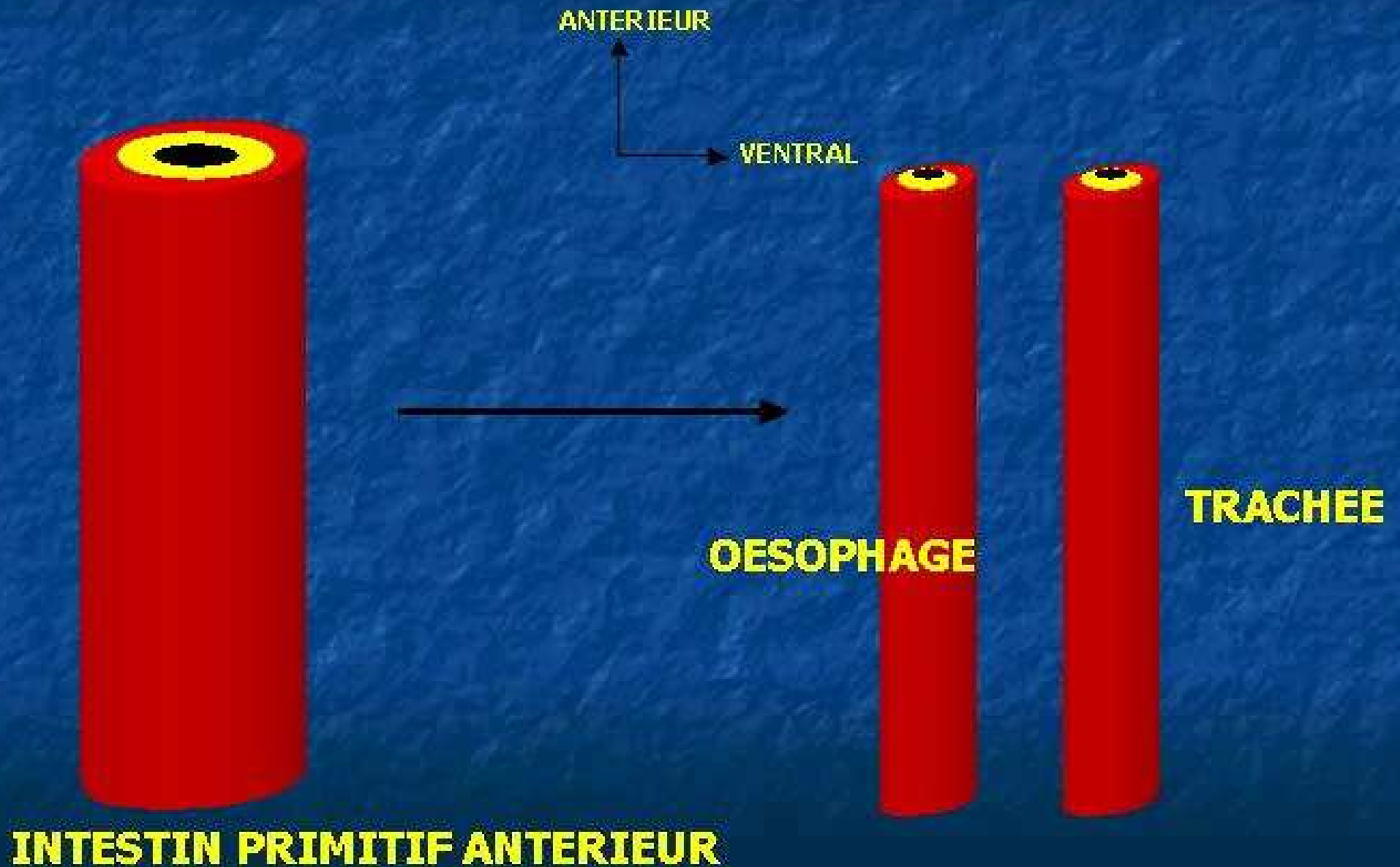


ROLE DU GENE SONIC HEDGEHOG DANS LE DEVELOPPEMENT DE LA TRACHEE ET DE L'ŒSOPHAGE

Dr Anne Moro *†, Dr Peter Kim †, Dr Pierre-
yves Risold *, Pr Michèle Jouvenot *

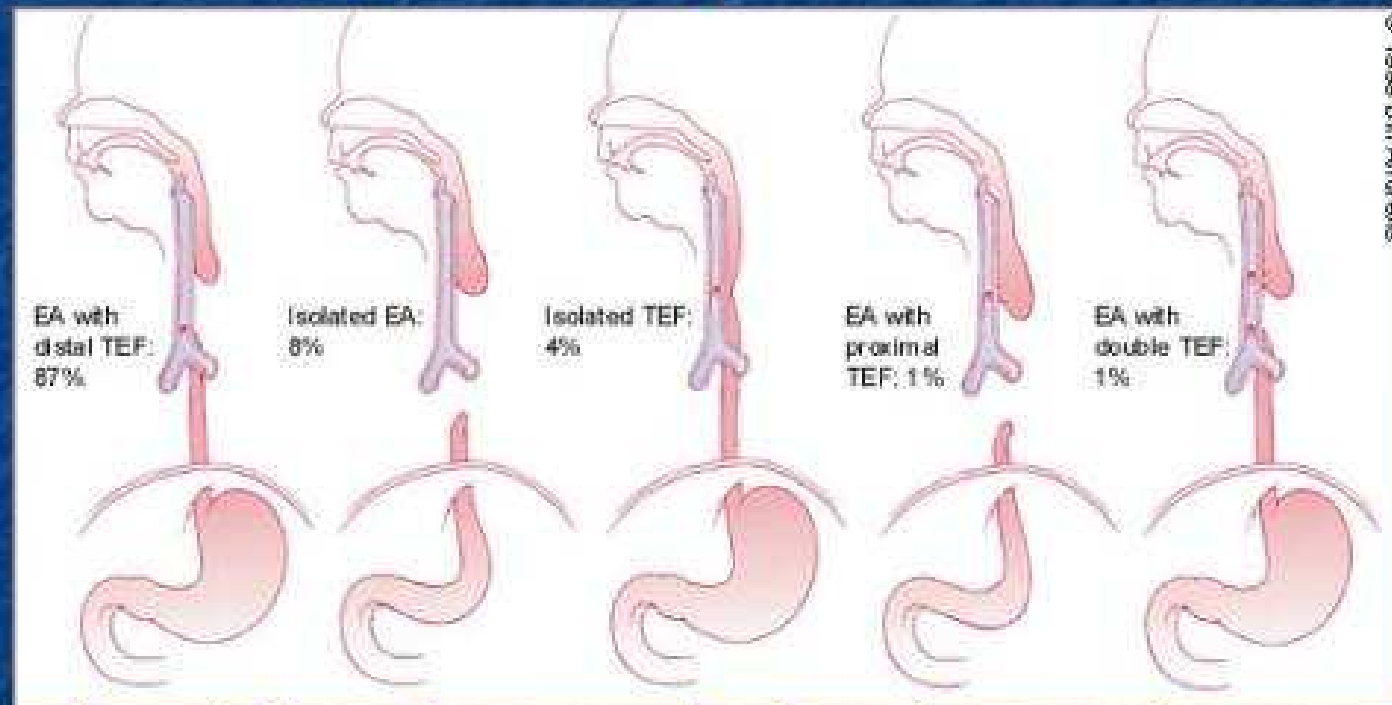
*Laboratoire d'histologie, EA 3922 IFR 133, Besançon
†Hospital for Sick Children, Toronto, Canada

TRACHEE ET OESOPHAGE



MALFORMATIONS CONGENITALES DE L'INTESTIN PRIMITIF ANTERIEUR

- **Fréquence 1/3500 naissances**



Atrésies de l'oesophage avec fistule tracheo-oesophagienne associée ou non

(Brunner and Van Bokhoven, 2005; Felix et al., 2004; Merei and Hutson, 2002; Clark, 1999)

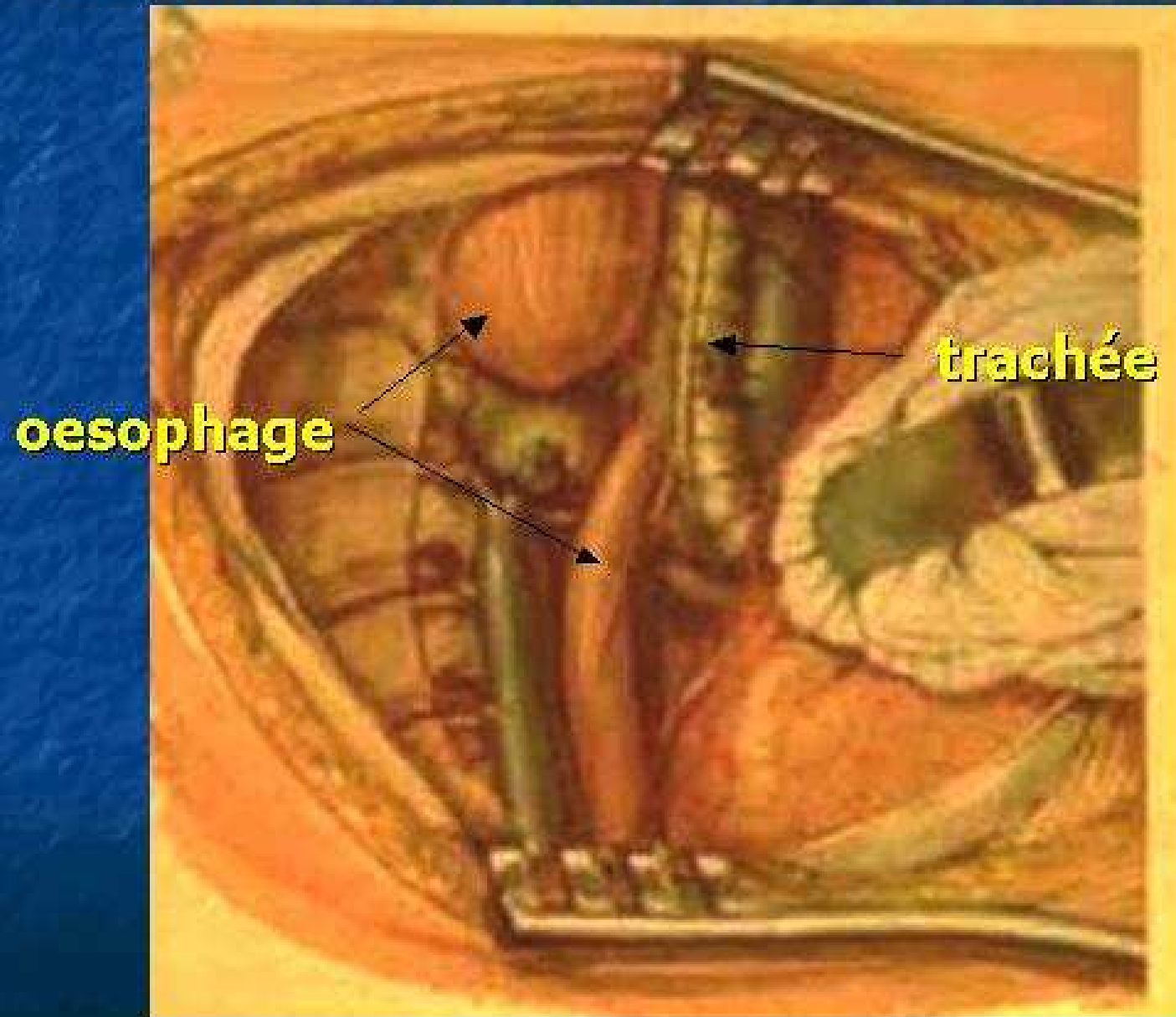


ATRESIE DE L'OESOPHAGE

- Malformations associées 50 % (VACTERL)
- Chirurgie Réparatrice = multiples interventions
- Morbidité importante
 - ~ 57 % Immédiates: 37 % sténoses, 15 % lachages anastomose, 5 à 10 % récidives
 - > 50 % Tardive: dysphagie 13 à 20 %, reflux gastro-oesopagien 40 à 70 %, troubles nutritionnels, troubles respiratoires 46 %.
- Mortalité 12 à 60 % dans les formes sévères

(Ein et al., 1989, 2003, 2006, Canada)

L'ATRESIE DE L'OESOPHAGE



MODELES EXPERIMENTAUX

■ Pharmacologiques

- Injections Adriamycine Rat (1996), puis souris

■ Génétiques

- Shh (-/-) tube unique, avec poumons hypoplasiques, VACTERL (*Litingtung et Chiang 1998, Kim 2001 et 2003*)
- Nog (-/-) tube unique, fistule oesophagienne antérieure (*Que, 2006*)
- Nkx2.1 (-/-) pas de séparation de trachée et œsophage (*Minnoo, 2001*)
- RAR α 1 (-/-); RAR α 2 (-/-) ressemble Shh (*Mendelison et Chambon 1999*)

SONIC HEDGEHOG (Shh)

- Molécule du signal cellulaire
- Homologue du gène Hedgehog (HH) chez la drosophile
- Très conservé chez vertébrés, 3 Gènes, Sonic (Shh), Indian (Ihh), Desert (Dhh)
- Morphogène capital
- Mammifères, Shh est + important et seul exprimé dans l'intestin primitif antérieur.



Sonic The Hedgehog, 1993

Souris knockout pour le gène Sonic Hedgehog (Shh)

- Petite taille
- Queue courte
- Holoprocéphalie
- VACTERL
- follicules pileux
- Pancreatique
- testiculaire

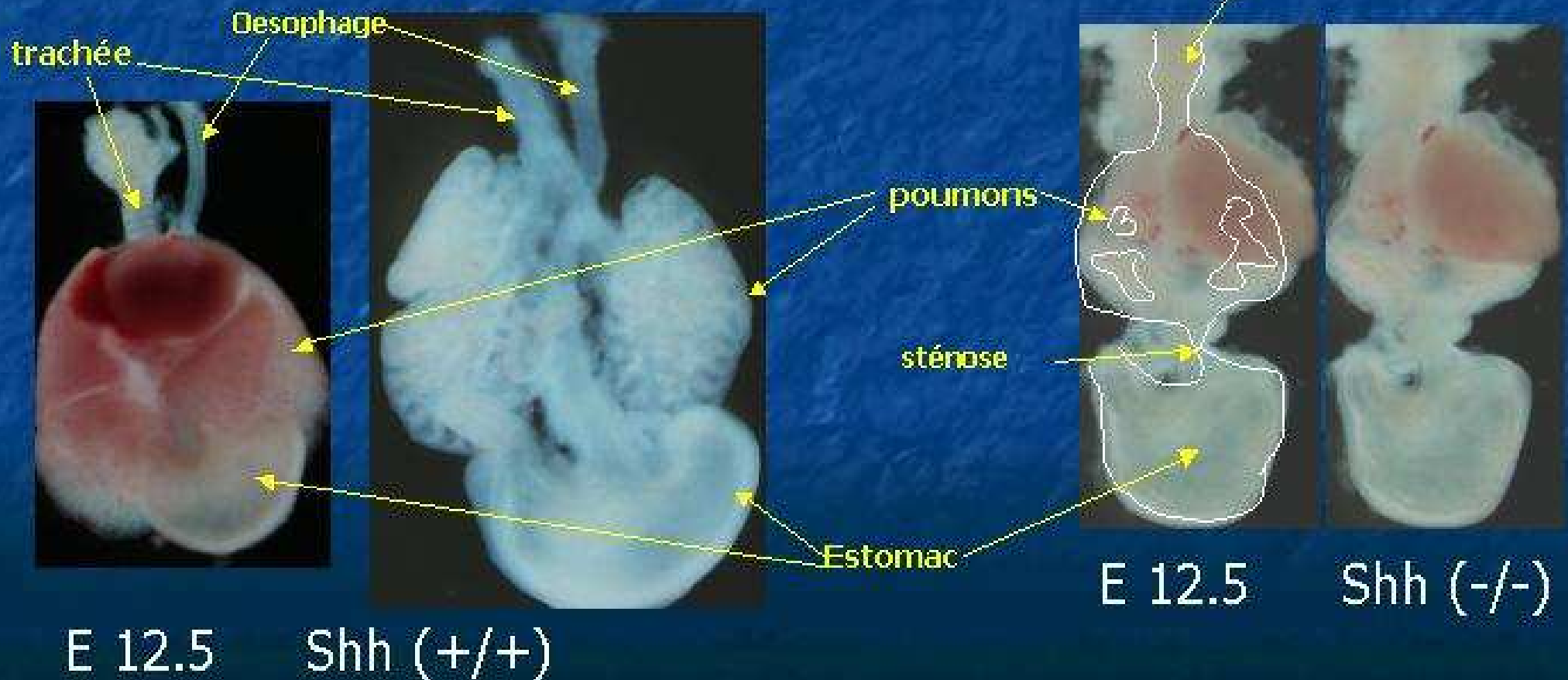


E 12.5 Shh (+/+)

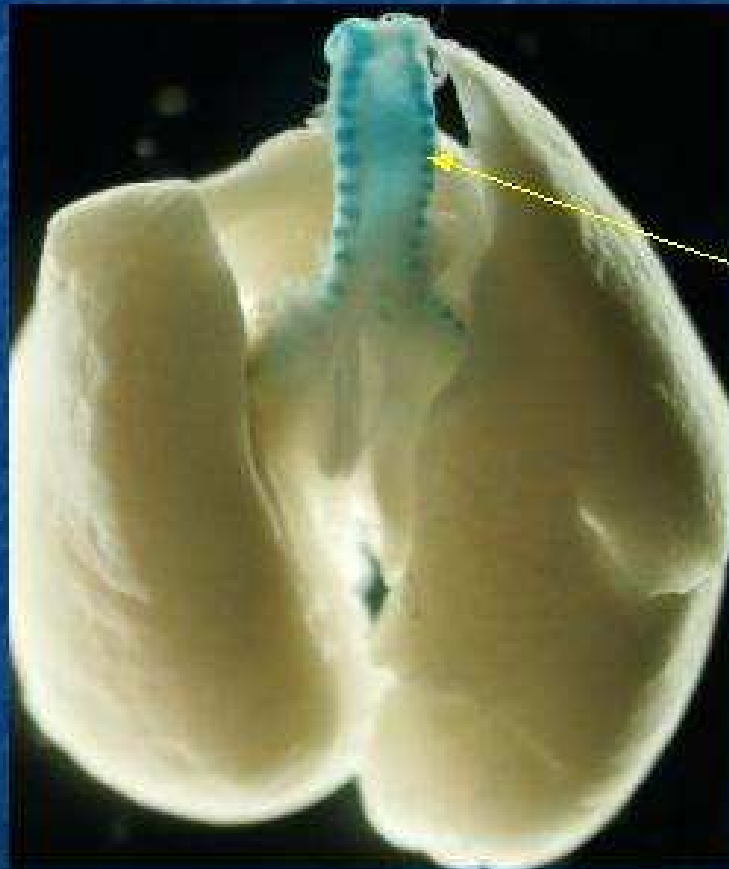
Shh(-/-)

Trachée et œsophage

- Malformations de IPA = 100 % (>100 embryons)
- Défaut de division du tube commun
- Poumons hypoplasiques



Hypoplasie pulmonaire



E 16.5 Shh (+/+)

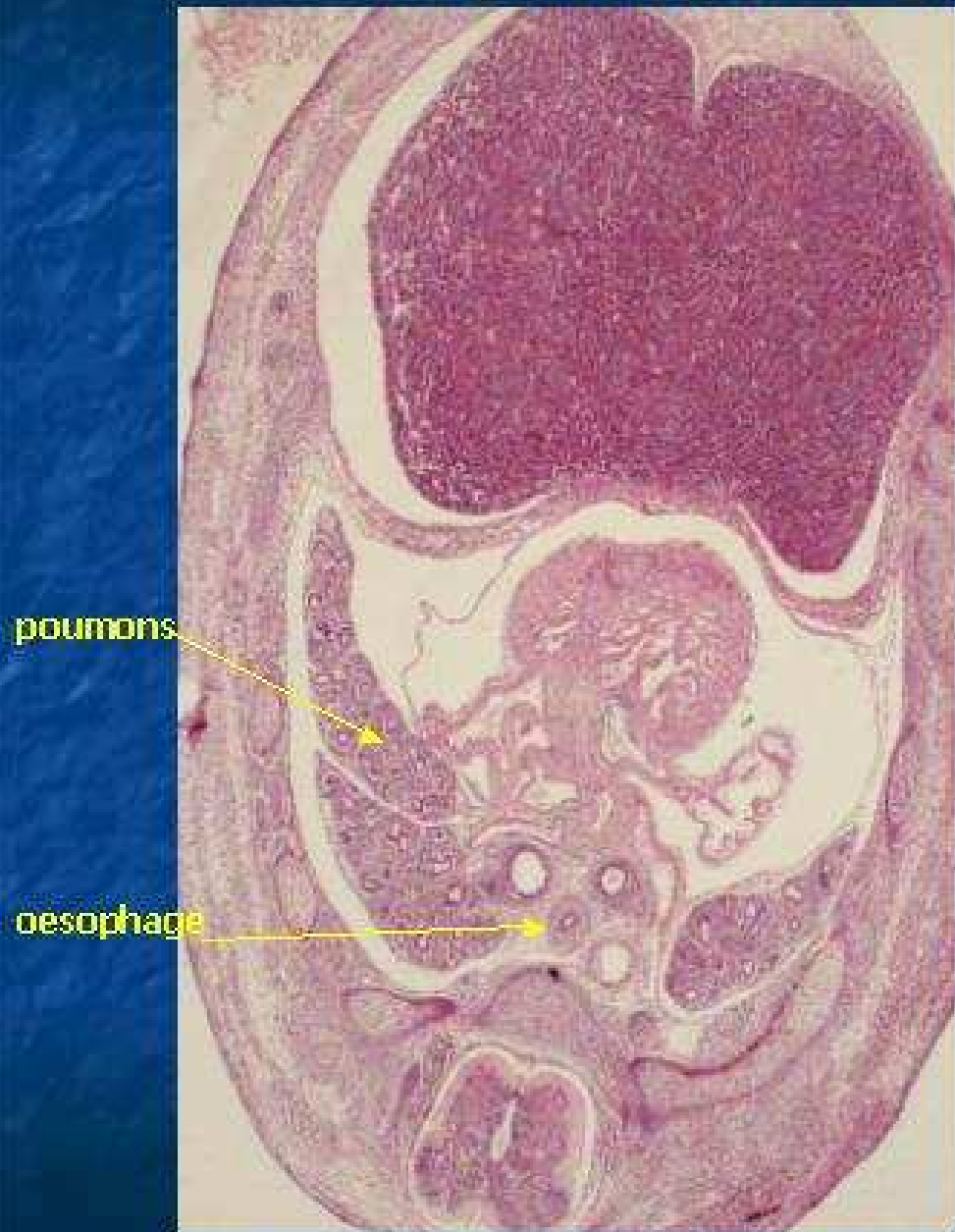
Bleu Alcian

Vue dorsale

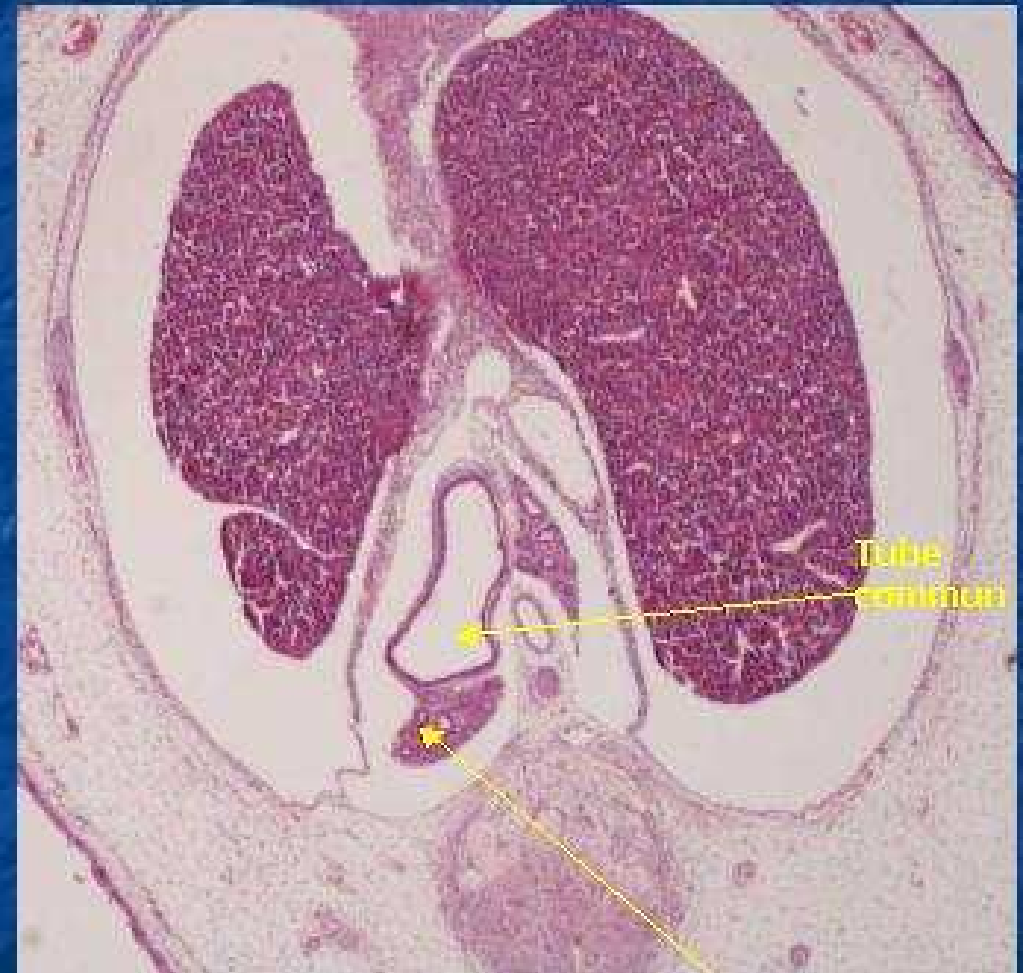


E 16.5 Shh (-/-)

Normal versus knockout



E 16.5 Shh (+/+)



E 16.5 Shh (-/-)

Normal versus knockout

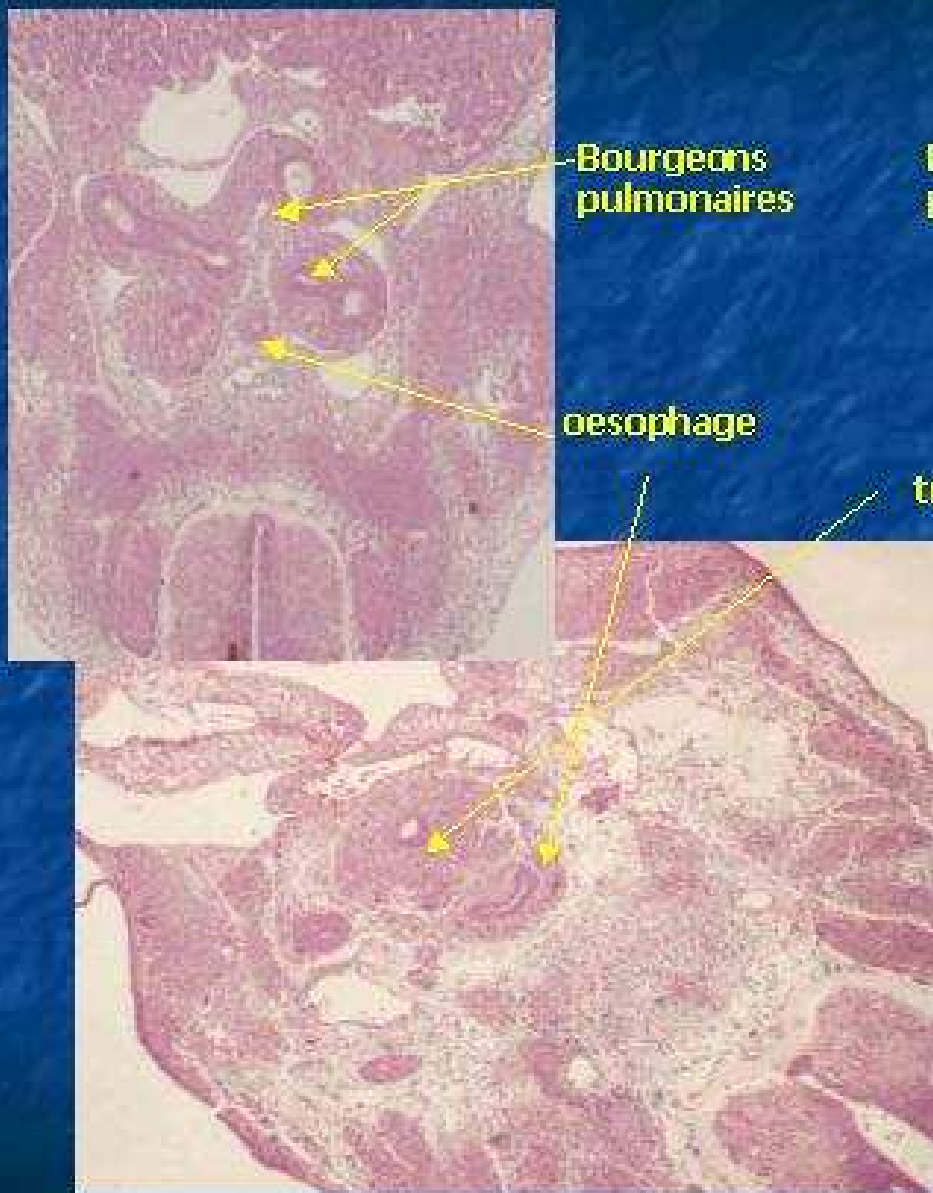


E 16.5 Shh (+/+)

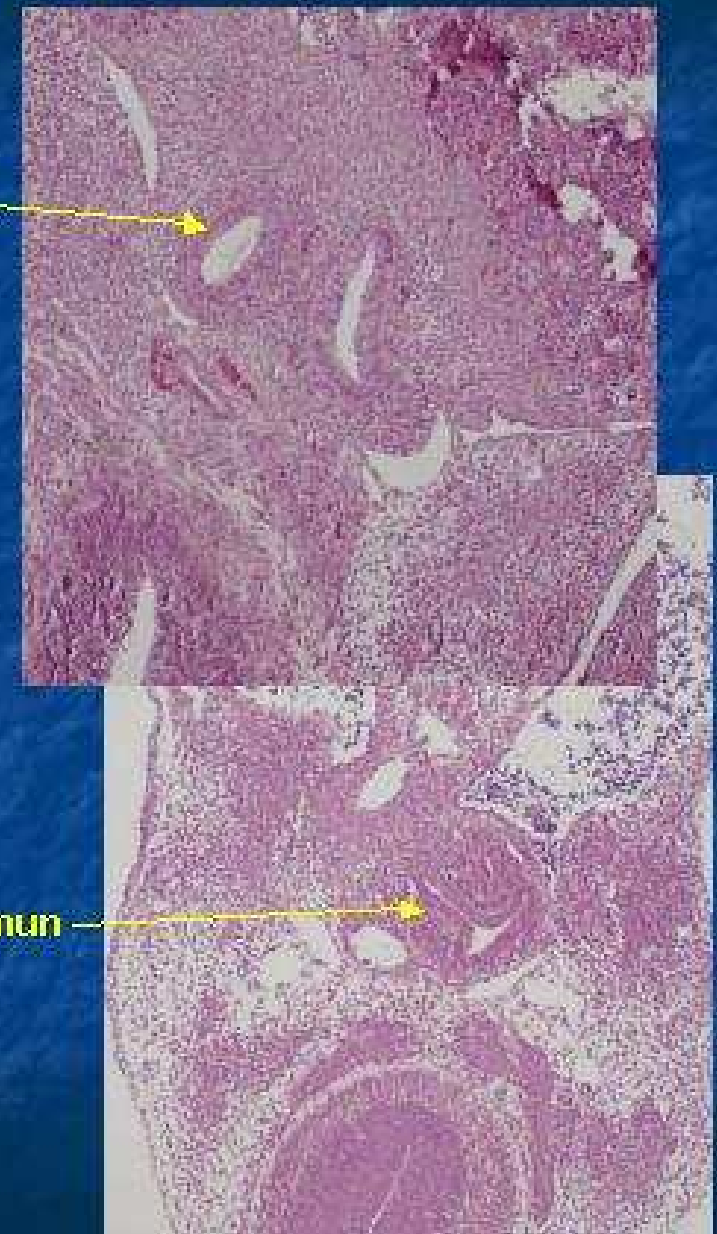


E 16.5 Shh (-/-)

Normal versus knockout

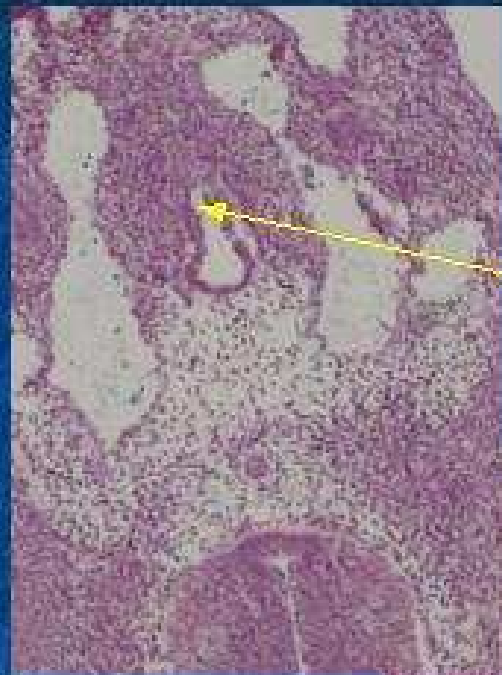


E 11.5 *Shh* (+/+)

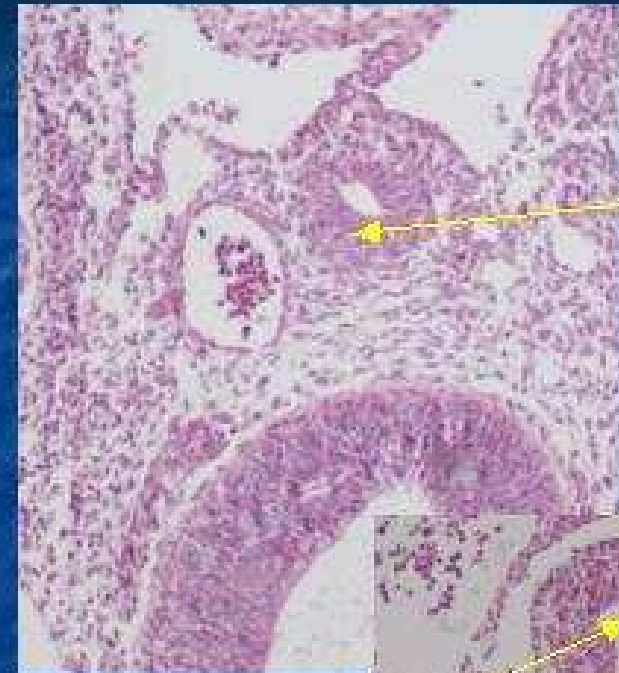


E 11.5 *Shh* (-/-)

Normal versus knockout

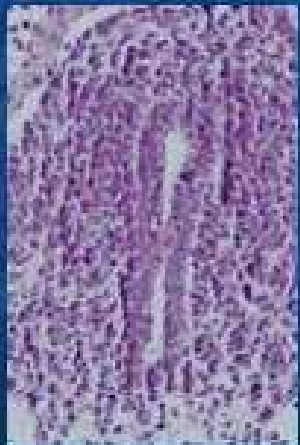


Sillon laryngo-trachéal



Tube commun

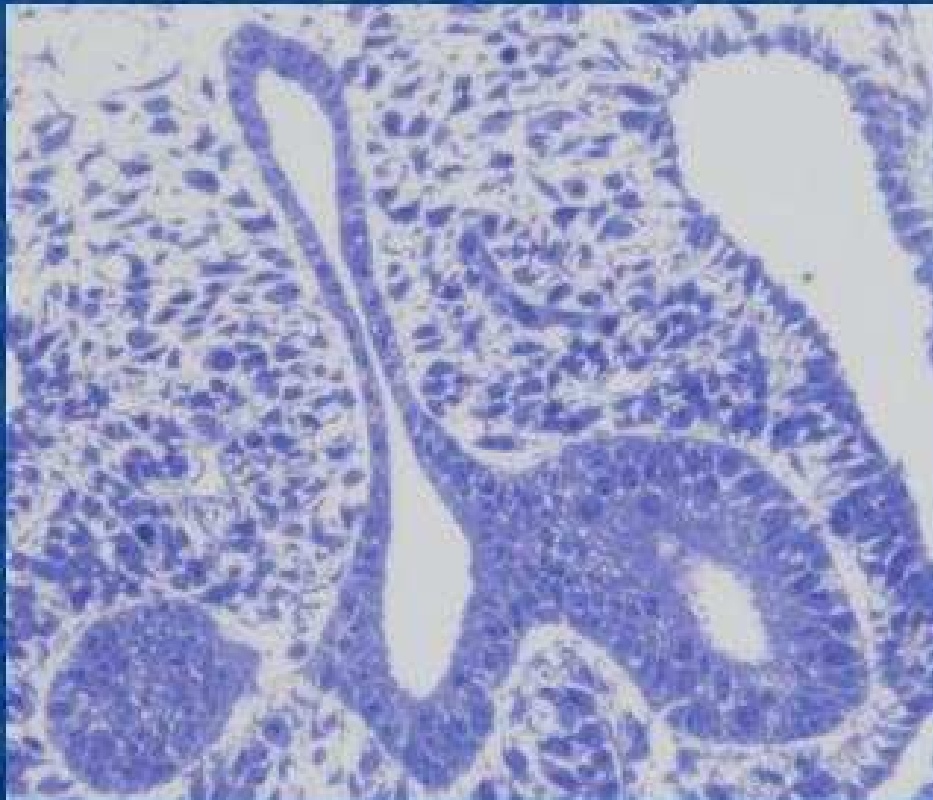
Sillon laryngo-trachéal



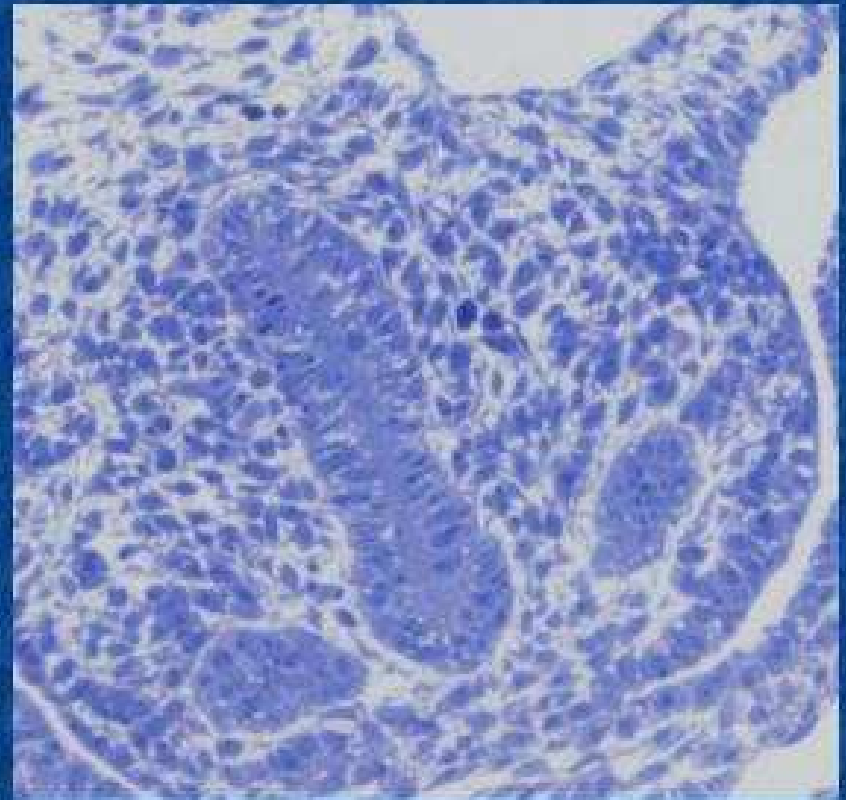
E 10.5 Shh (+/+)

E 10.5 Shh (-/-)

Normal versus knockout



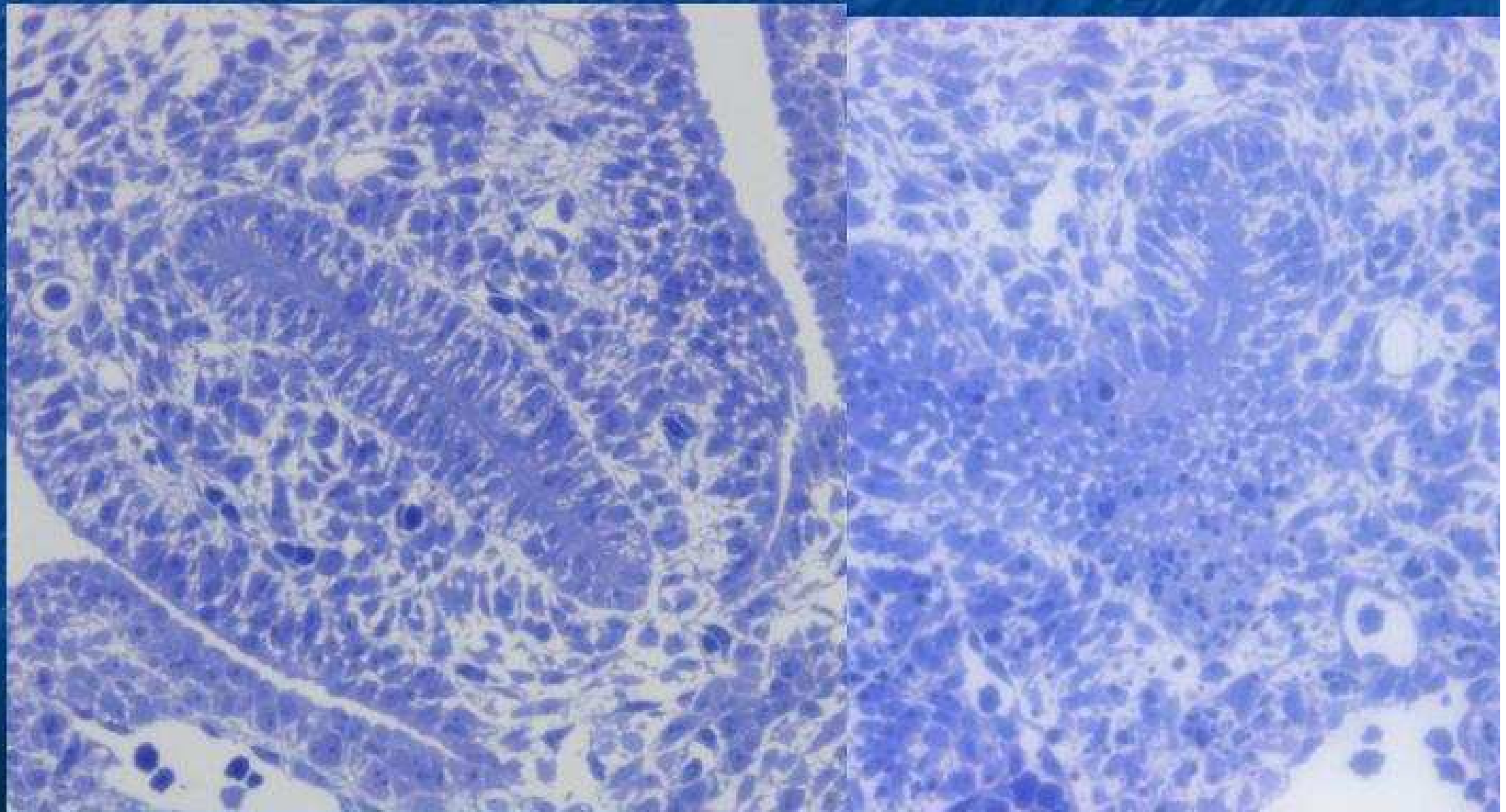
E10.5 Shh (+/+)



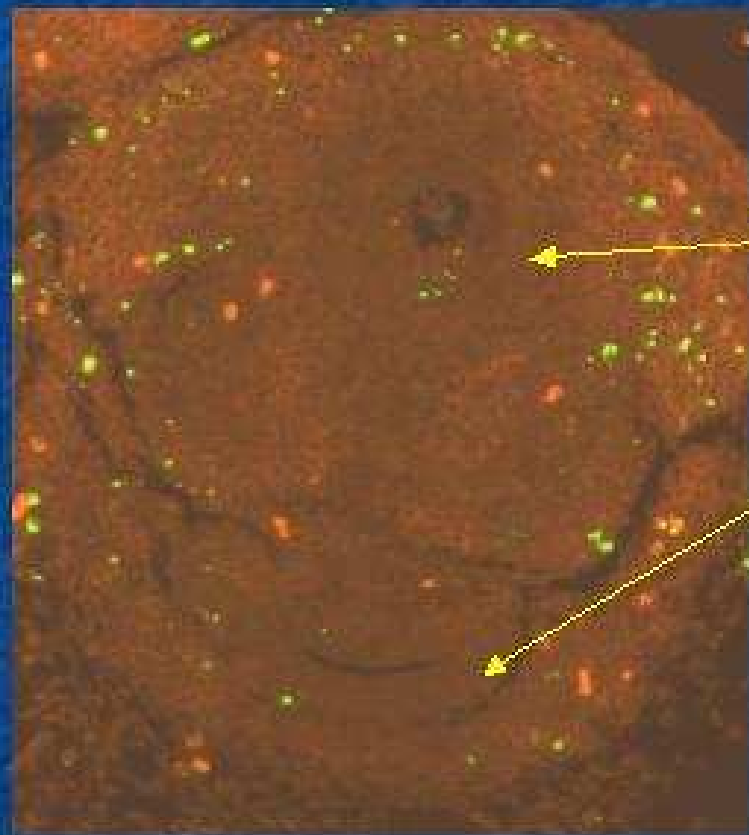
E10.5 Shh (-/-)

Apoptose et prolifération

E 10.5 Shh (-/-) ↗ Apoptose ↘ prolifération ???



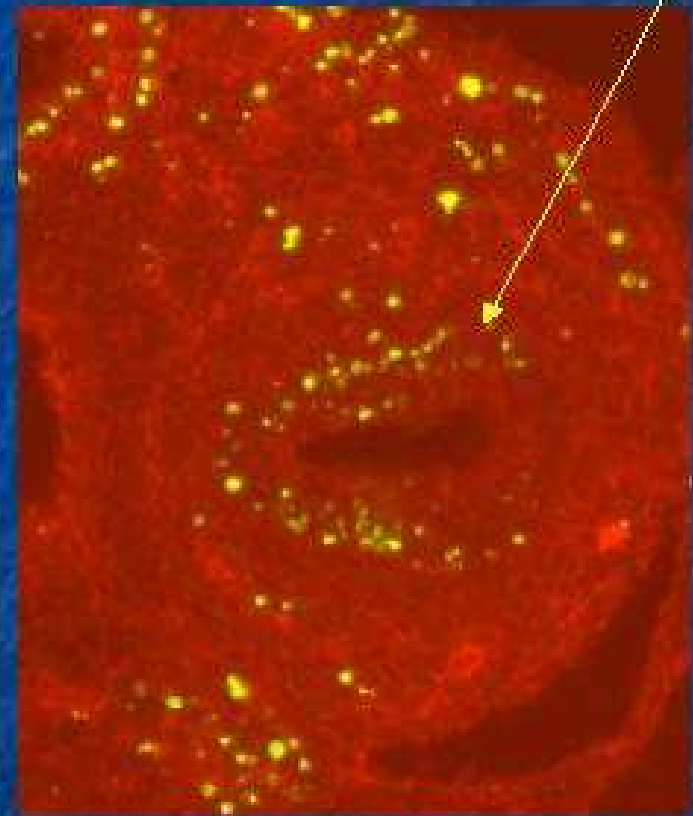
Apoptose: TUNEL ↗



trachée

oesophage

E 11.5 Shh (+/+)

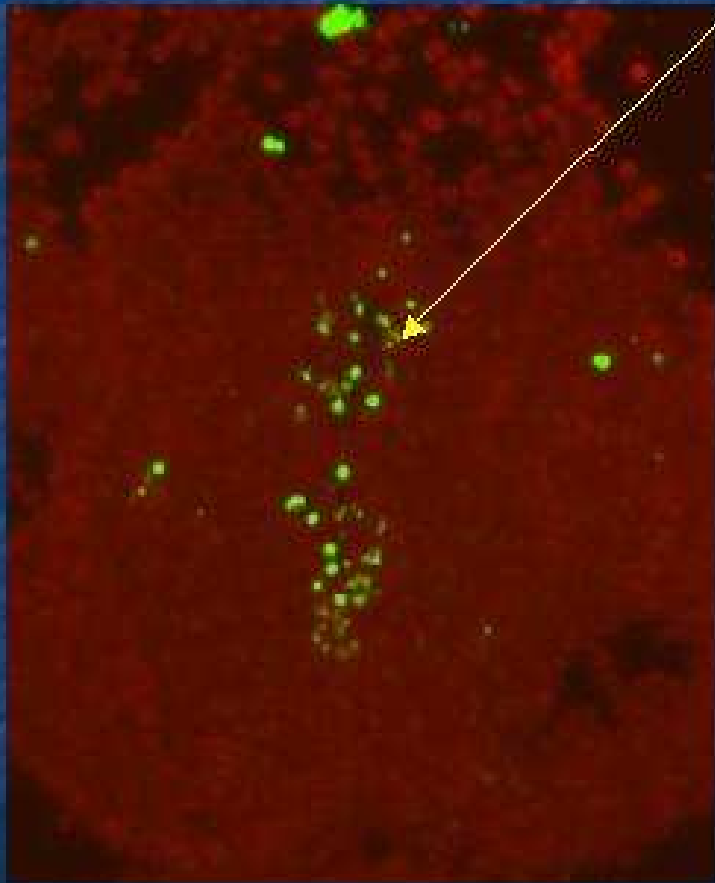


Tube unique

E 11.5 Shh (-/-)

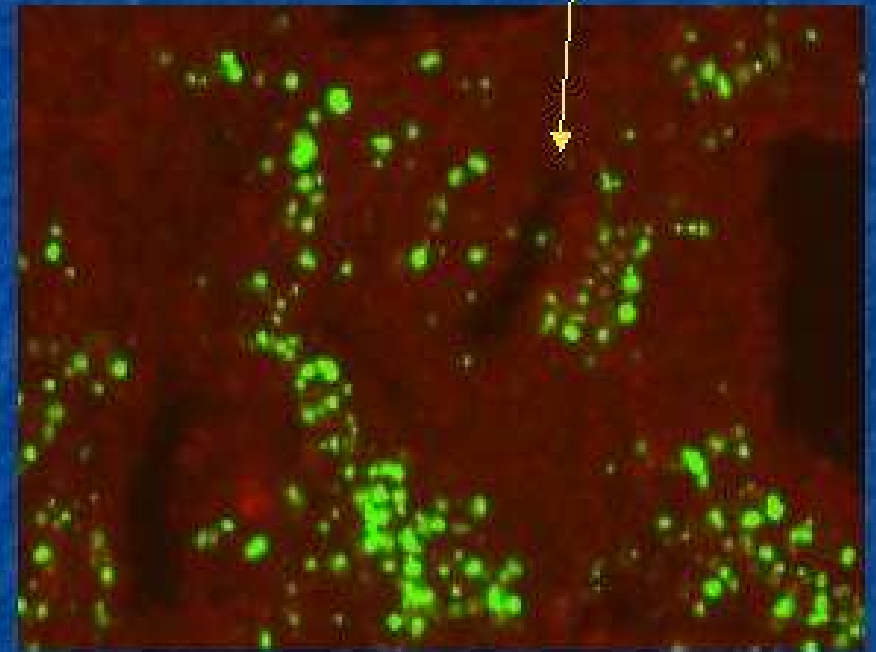
Apoptose: TUNEL ↗

Sillon laryngo-trachéal



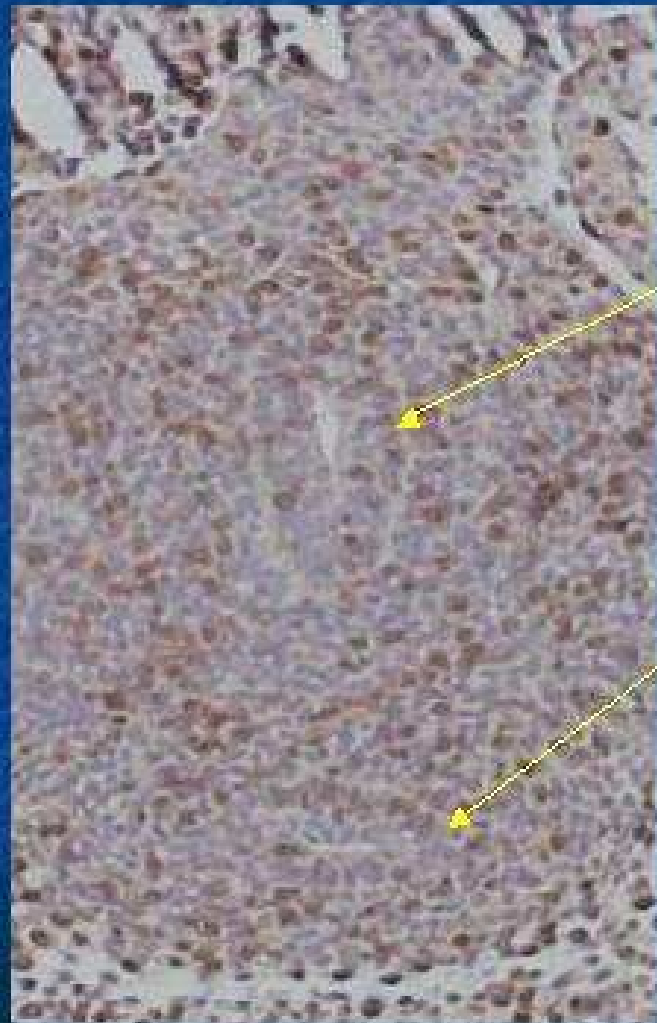
E 10.5 Shh (+/+)

Tube unique

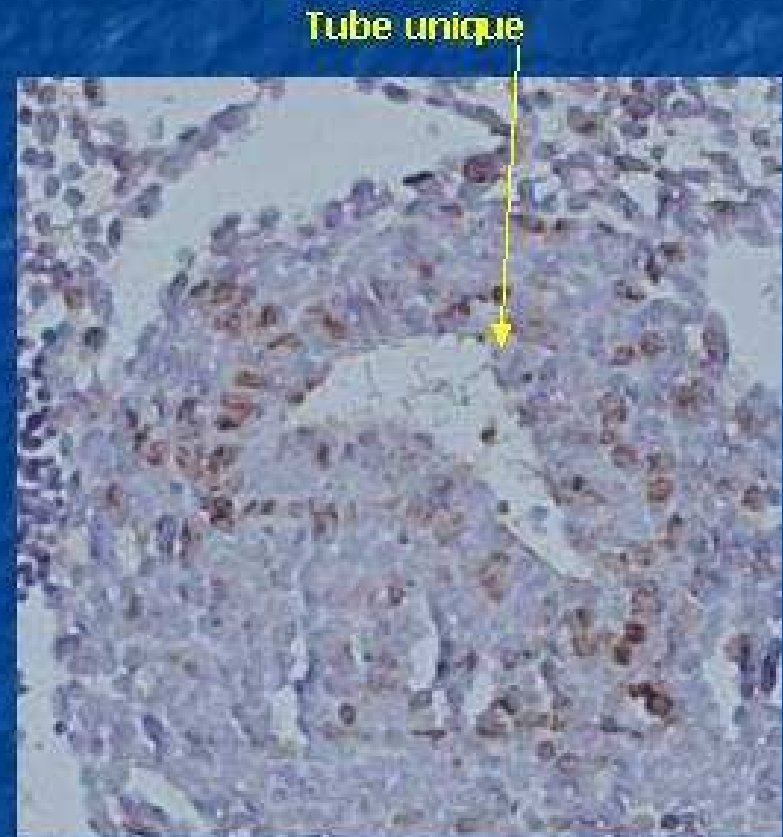


E 10.5 Shh (-/-)

Prolifération: Brdu ↘

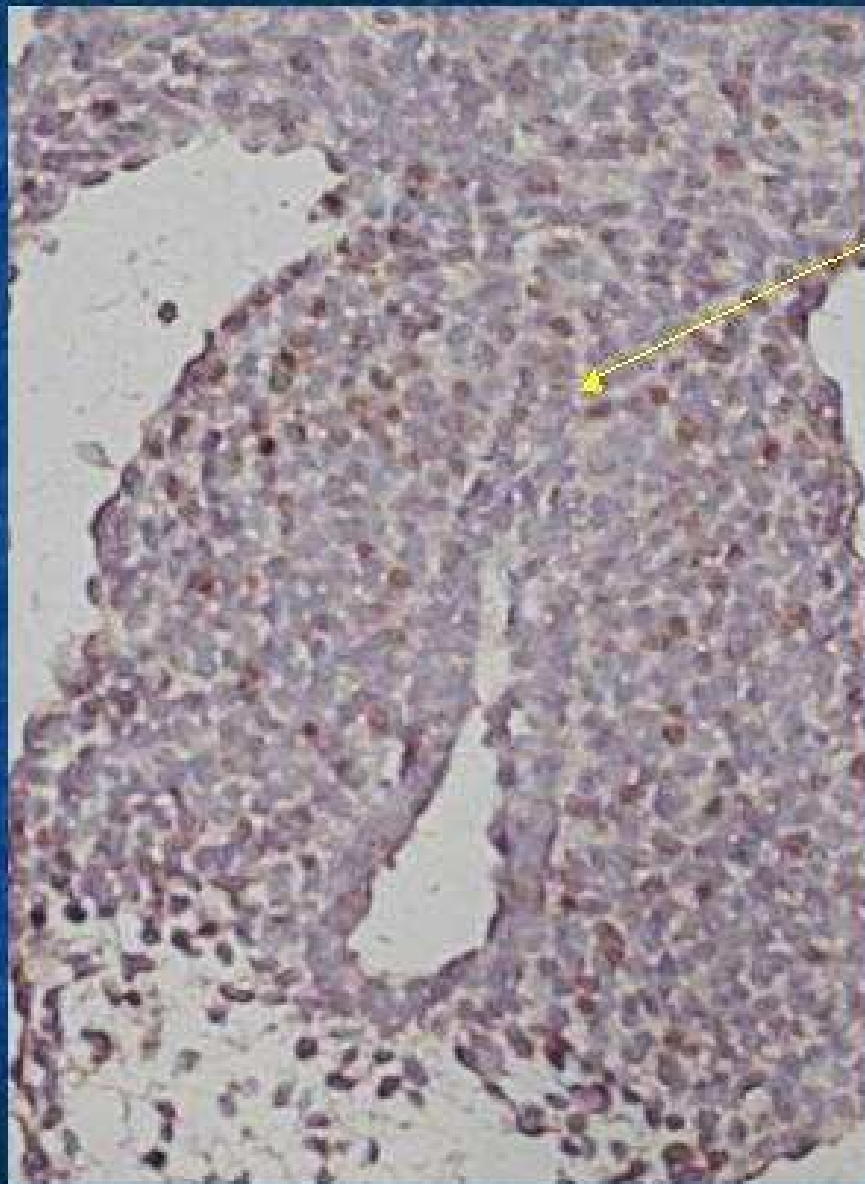


E 11.5 Shh (+/+)



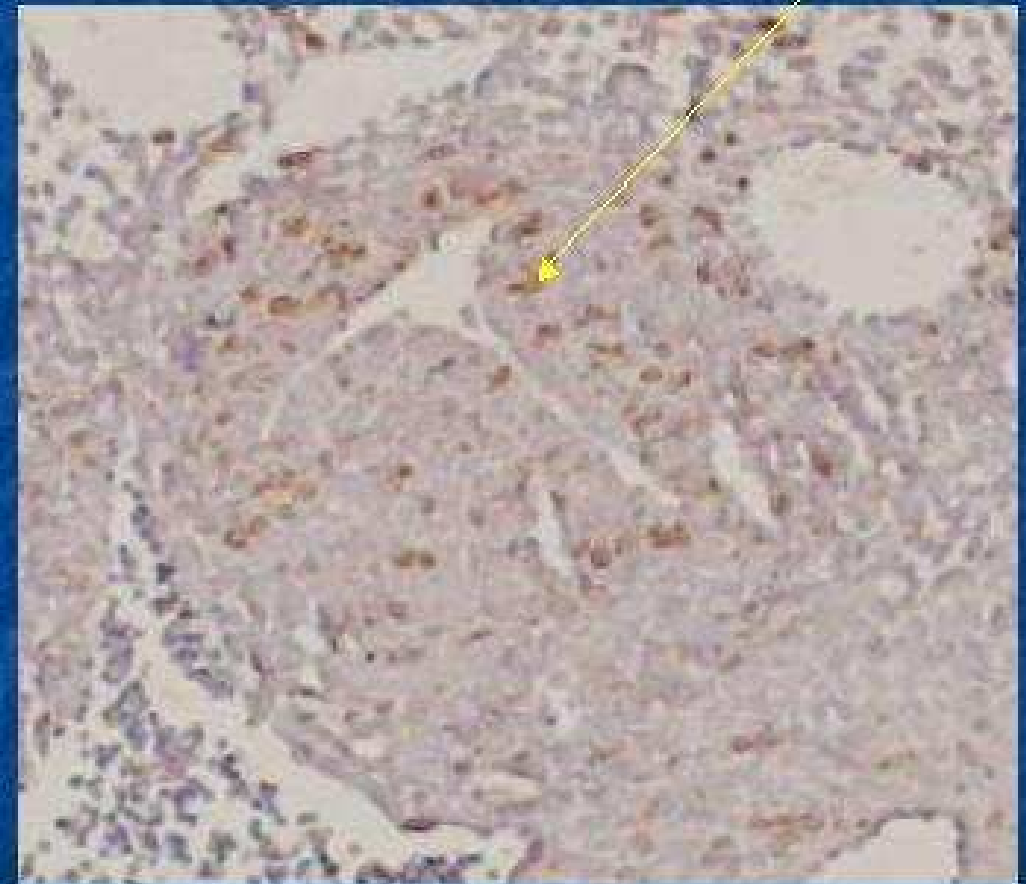
E 11.5 Shh (-/-)

Prolifération: Brdu ↘



E 10.5 Shh (+/+)

Sillon laryngo-trachéal



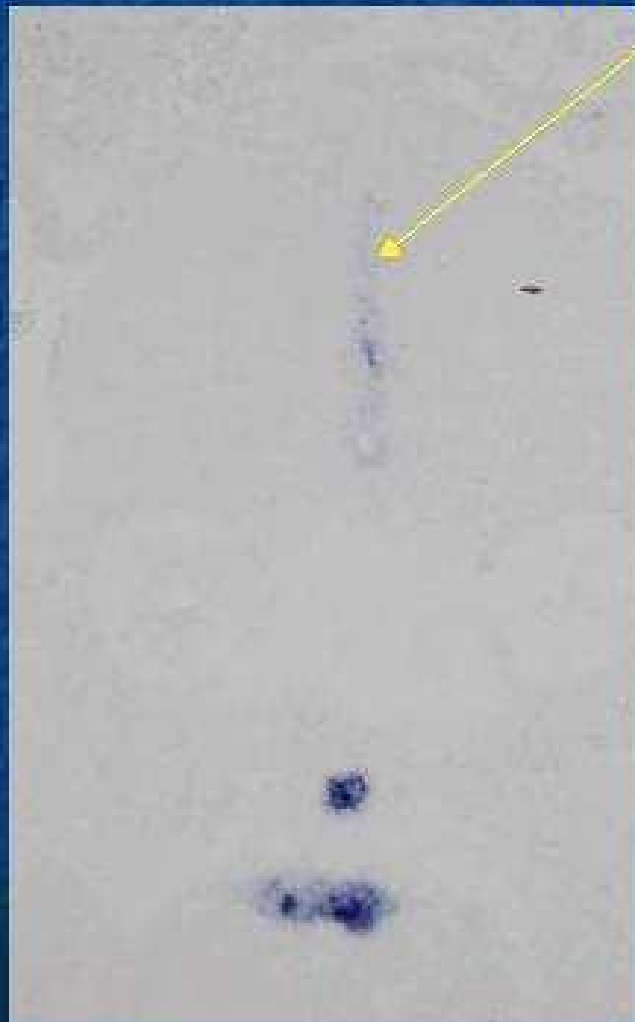
E10.5 Shh (-/-)

Tube unique

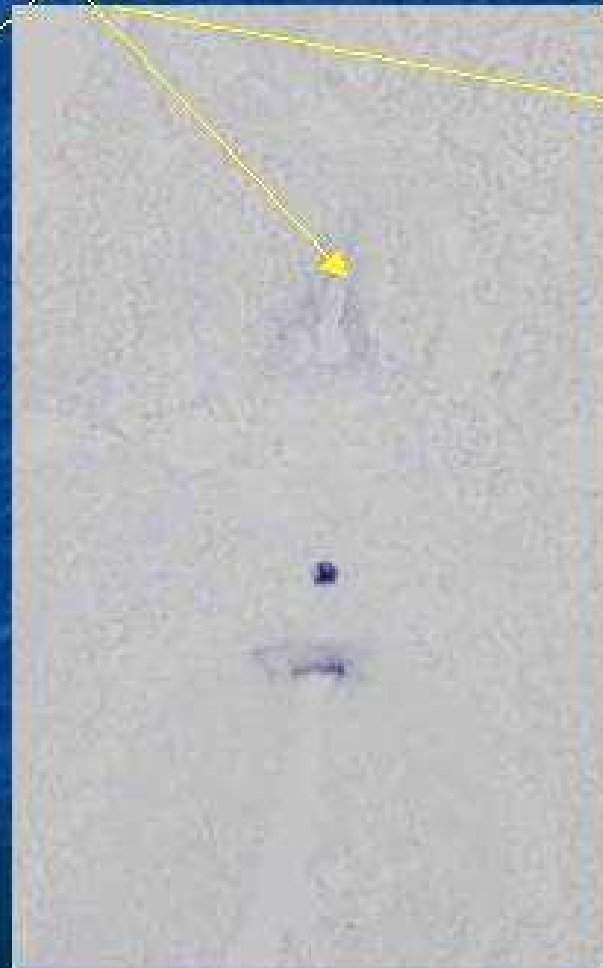
Shh: Hybridation in Situ

Endoderme de l'intestin primitif antérieur

Sillon laryngo-trachéal



E 10.5 Shh (+/+)



E 10.5 Shh (+/+)



E 10.5 Shh (+/+)

Hybridation in situ : Fox f1

Mesoderme intestin primitif antérieur

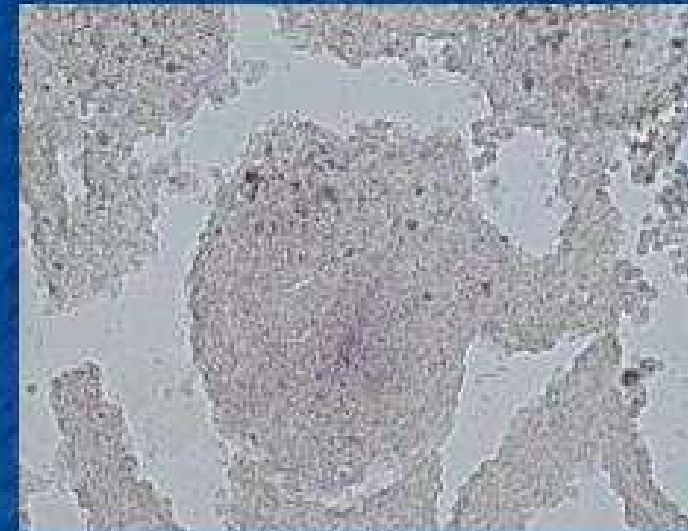


Transverse

E11.5 Shh (+/+)



Sagittal

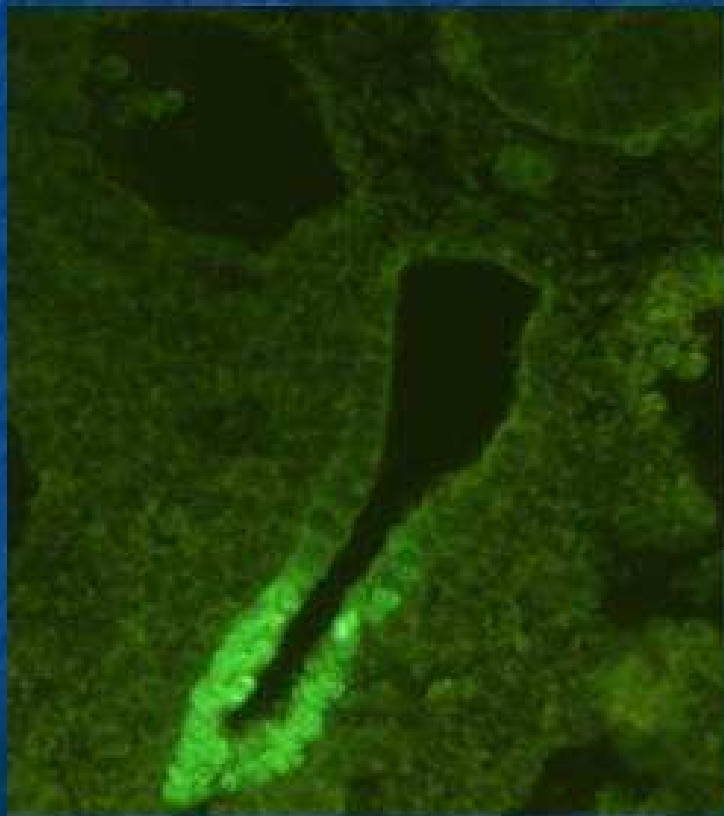


E 11.5 Shh (-/-)

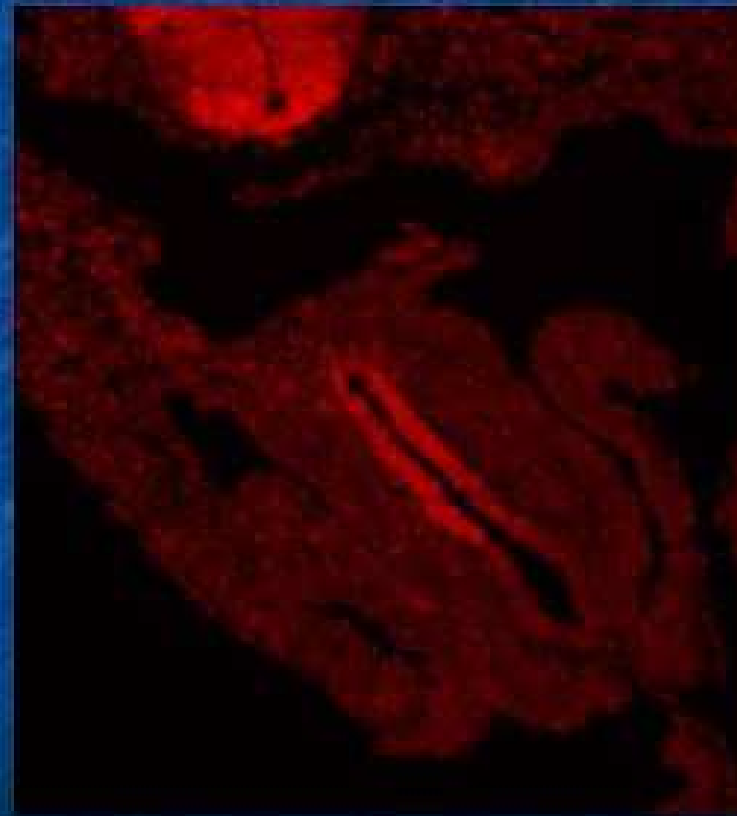
Transverse

Caractérisation de l'intestin primitif antérieur

E 9.5 Shh (+/+)



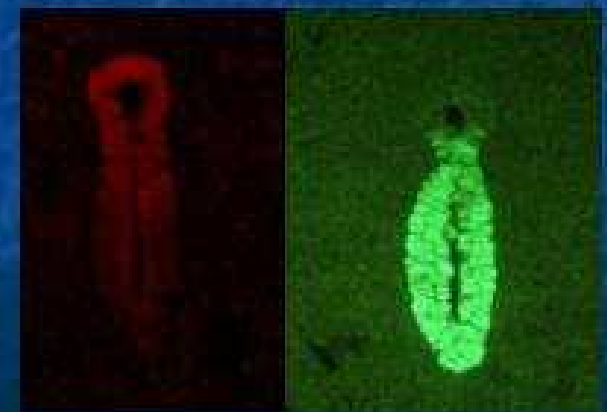
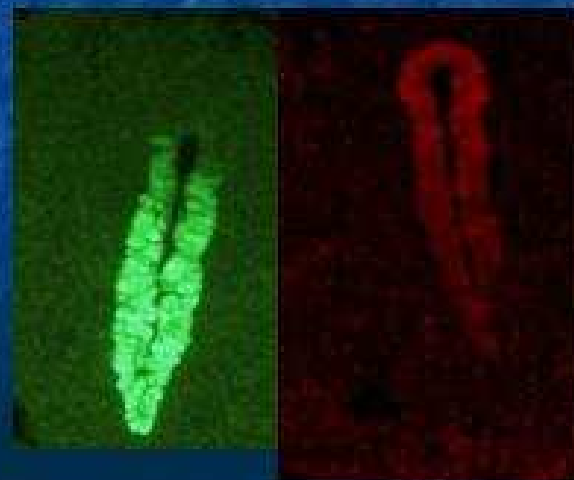
Nkx2.1



Sox 2

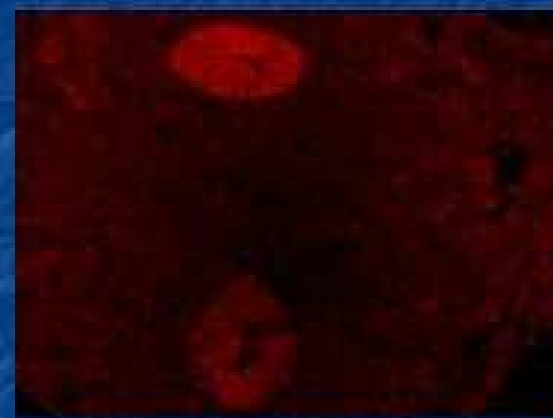
Caractérisation de l'intestin primitif antérieur

E 10.5 Shh (+/+)



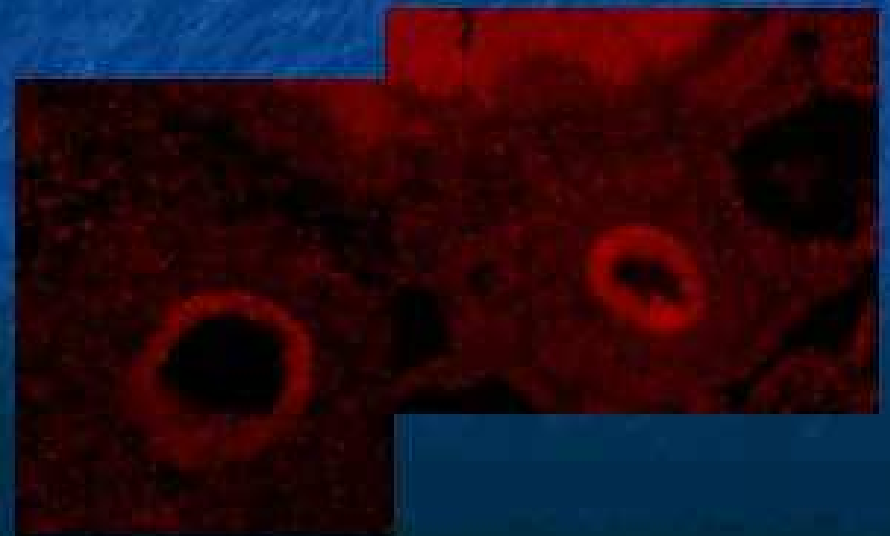
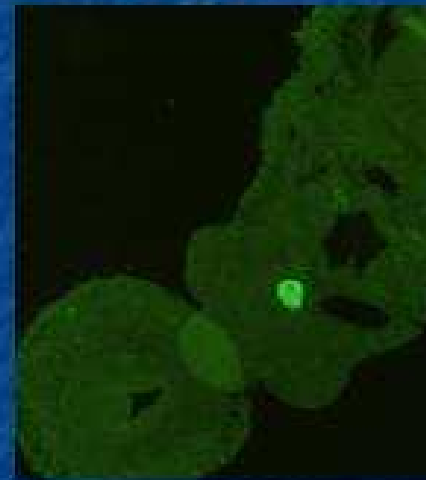
Caractérisation de l'intestin primitif antérieur

E 11.5 Shh (+/+)



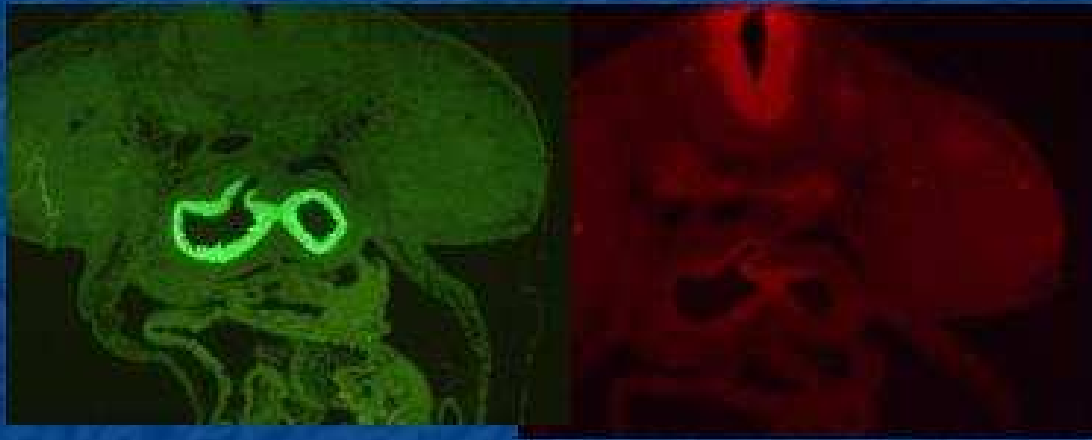
Caractérisation de l'intestin primitif antérieur

E 10.5 *Shh* (-/-)



Caractérisation de l'intestin primitif antérieur

E 11.5 Shh (-/-)



CONCLUSION

- Shh, un seul tube mal divisé
- ↗ Apoptose, ↘ Prolifération
- ↘ Mesoderme
- Marqueurs respiratoires et digestifs présents

PERSPECTIVES

- Vérifier l'expression des marqueurs d'adhésion cellulaire (N cadherine, Wnt 5 et B catherine)
- Finir de caractériser le tube (Shh -/-), trachée et œsophage

Marqueurs cellules différenciées, Cytokératine K14

- Marqueurs mésoderme, Pax 3, Bmp4, Fgf10

PERSPECTIVES

- Meilleure compréhension des facteurs cellulaires et moléculaires du développement de la trachée et de l'œsophage
- Culture organe et ingénierie tissulaire