

Développement d'un modèle *in vitro* de la barrière hémato-encéphalique

Colloque de l'ARC dans le cadre du 87^e congrès de l'ACFAS 2019

Marie-Eve Janelle¹, Benoit Mailhot² et Steve Lacroix².

Cégep de Lévis-Lauzon¹ et Centre de recherche du CHU de Québec², Université Laval.

Résumé

La sclérose en plaques (SP) est une maladie inflammatoire du système nerveux central (SNC) caractérisée par une infiltration de cellules mononucléaires dû à une fragilisation de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Pour étudier les mécanismes impliqués dans la SP et mettre au point des approches thérapeutiques efficaces, il est primordial d'utiliser des modèles pertinents et représentatifs de la maladie. Notre étude a permis le développement d'un modèle *in vitro* de la BHE par le biais de cellules en culture. Afin de mimer le plus exactement possible la structure de la BHE *in vivo*, nous avons mis au point un modèle présentant les 3 types de cellules constituant la BHE soit les cellules endothéliales, les péricytes et les astrocytes. Ce modèle nous permet de simplifier l'étude des interactions entre divers types cellulaires présents au niveau de la BHE et de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le développement de la SP dans l'espoir d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Ce modèle pourra également être modifié et adapté à l'étude d'autres désordres dégénératifs.

La barrière hémato-encéphalique

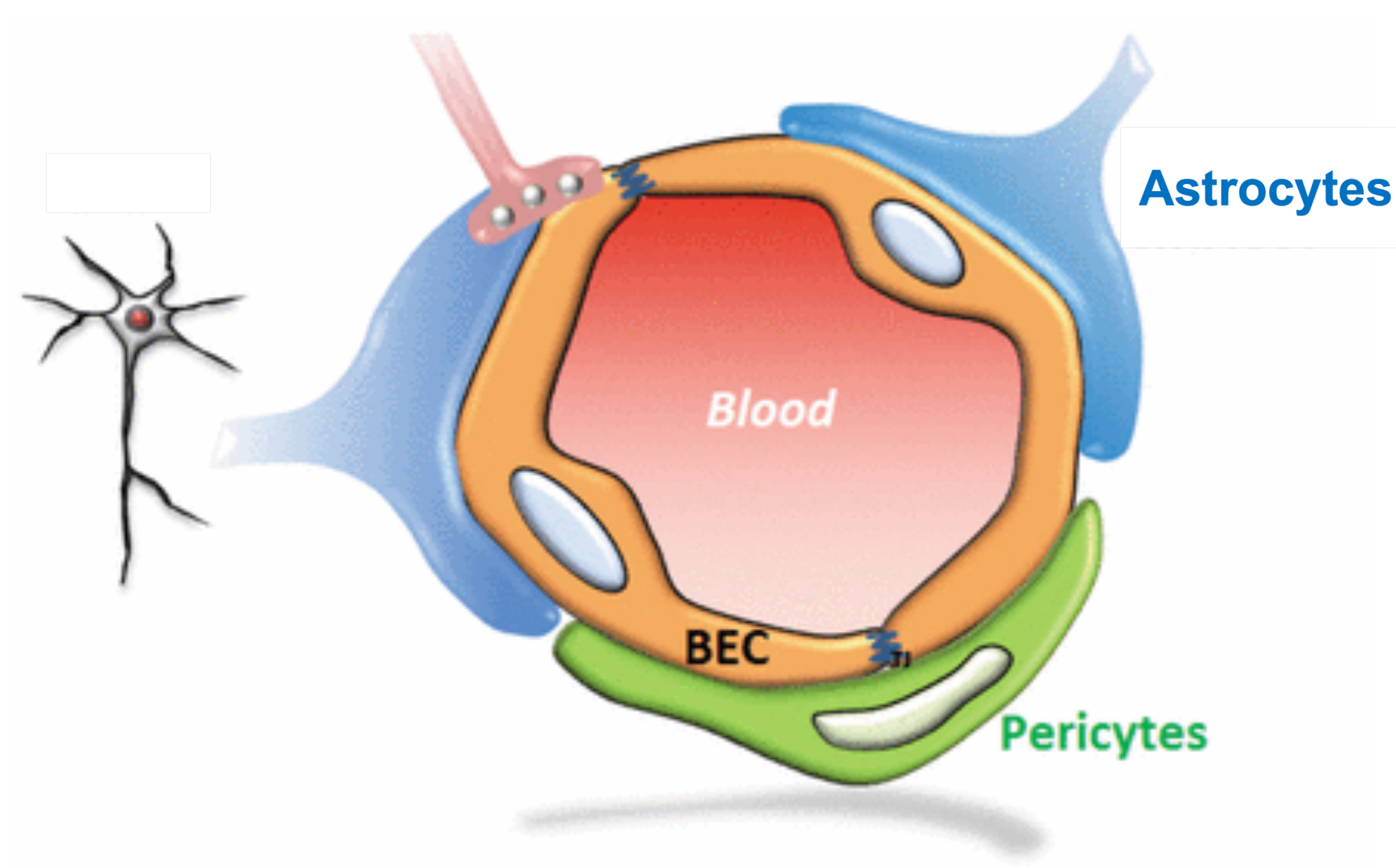


Figure 1: Représentation schématique de la BHE. Les capillaires cérébraux sont limités par des cellules endothéliales (BEC) en contact étroit avec des astrocytes, des péricytes et autres cellules de l'unité neurovasculaire. Excessivement sélective, la BHE permet normalement de maintenir un environnement stable à l'intérieur du système nerveux central (SNC) en limitant les échanges entre celui-ci et le sang.

Modèle de tri-culture *in vitro* de la BHE

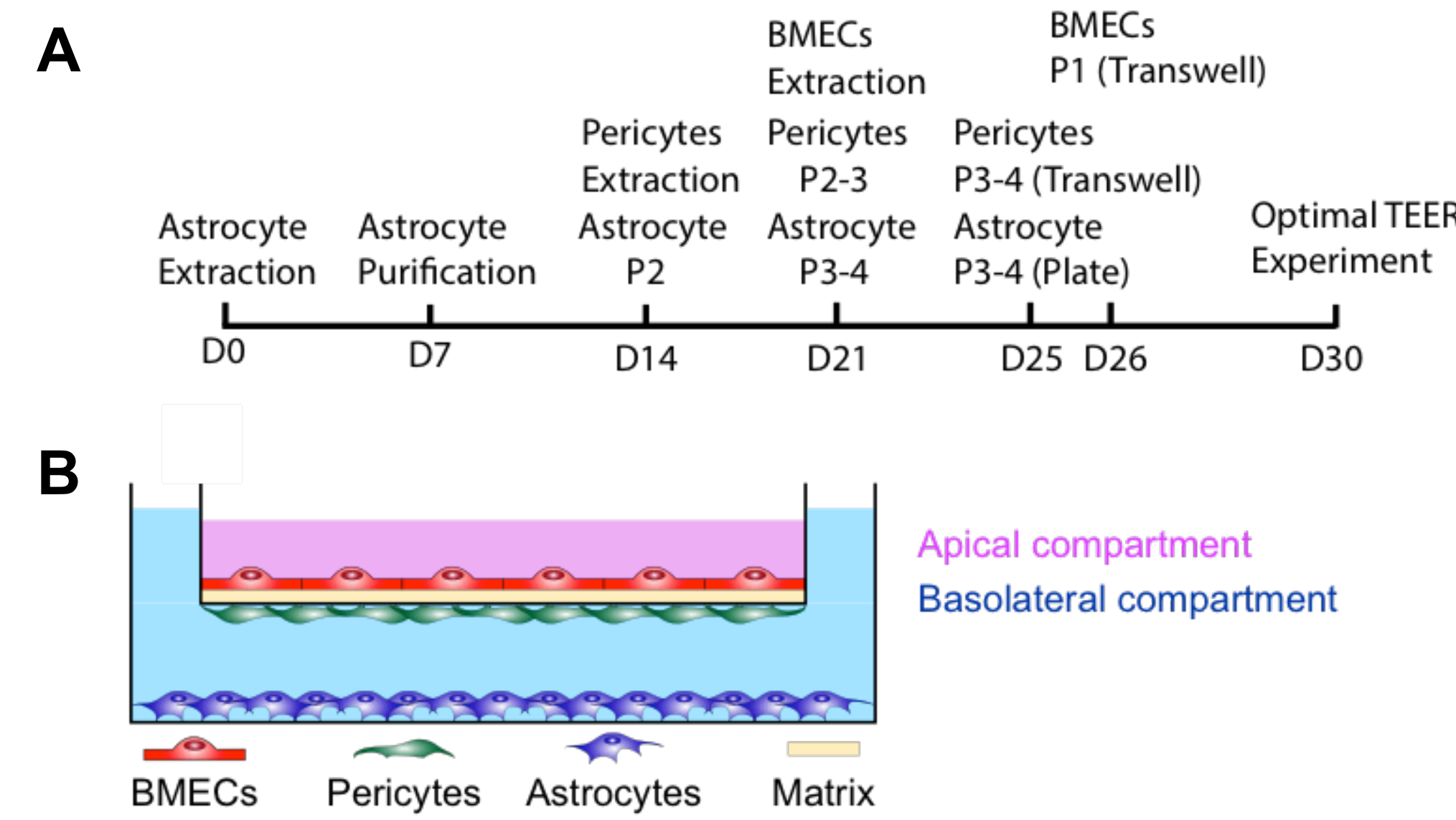


Figure 2. Représentation schématique de la configuration *in vitro* du modèle de la BHE. Notre modèle est construit à l'aide d'inserts de culture Transwell® et permet la tri-culture de cellules murines primaires. **A.** Les astrocytes sont d'abord extraits du cerveau de 4 souriceaux nouveaux-nés. Les cellules endothéliales et les péricytes sont par la suite extraits du cerveau de 10 souris adultes âgées de 6-8 semaines. **B.** Les cellules endothéliales de microvaisseaux cérébraux (BMECs) sont séparées des péricytes par un filtre perméable et les astrocytes sont cultivés dans le compartiment basolatéral.

Caractérisation phénotypique du modèle de tri-culture

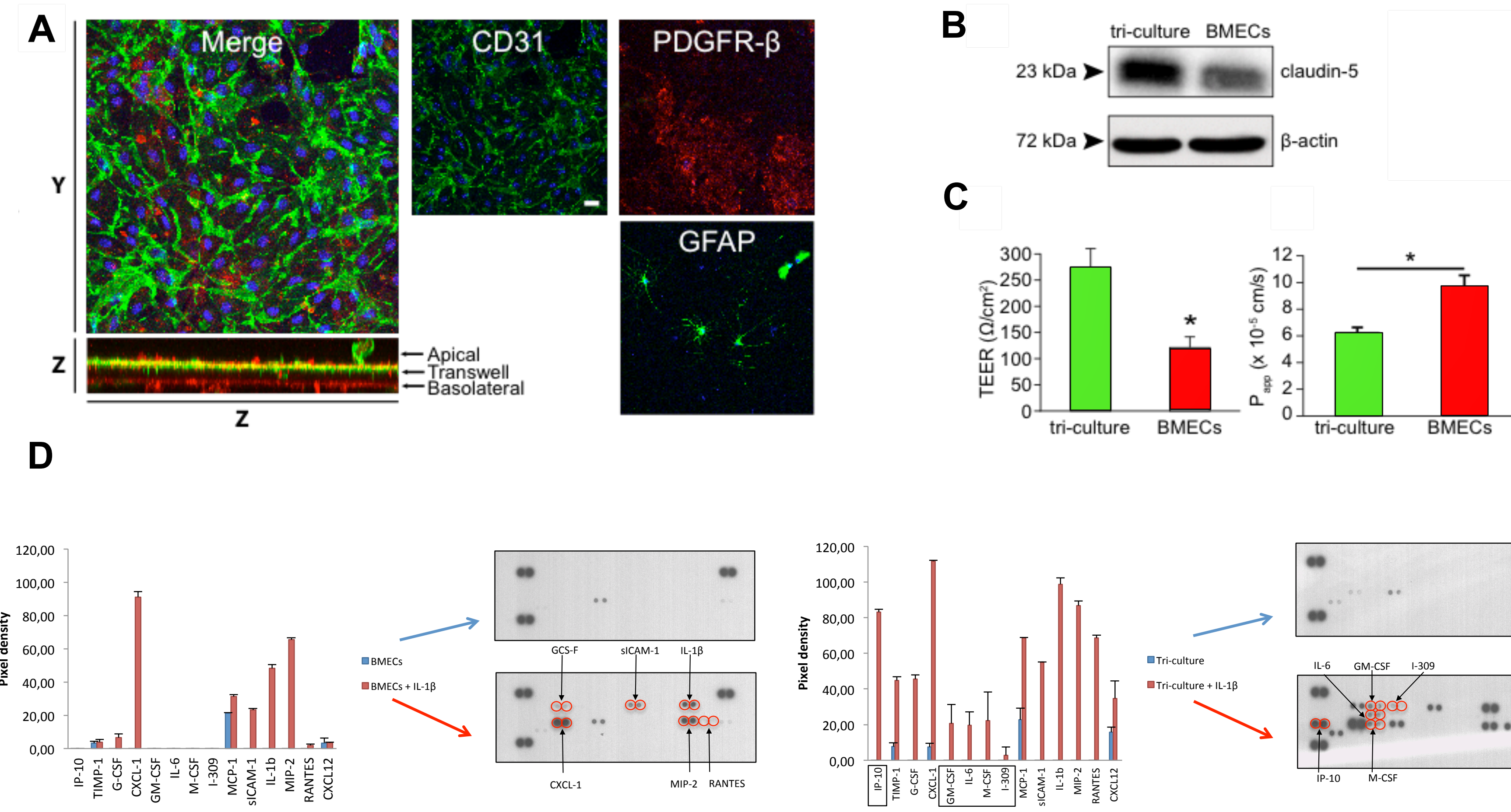


Figure 3. Comparaison phénotypique entre le modèle de tri-culture et une monocouche de cellules endothéliales (BMECs). **A.** Immunofluorescence des cellules murines primaires composant la BHE *in vitro*; Cellules endothéliales (CD31+ en vert), péricytes (PDGFR-β+ en rouge), et astrocytes (GFAP+ en vert). **B.** Immunobuvardage représentant le niveau d'expression de la protéine associée aux jonctions serrées, Claudin-5. **C.** Mesure de la perméabilité paracellulaire à l'aide de la résistance transendothéliale (TEER) et de la vitesse de passage du jaune Lucifer (P_{app}). * $p < 0,05$ **D.** Profil de cytokines sécrétées suite à la stimulation par l'IL-1β (10 ng/ml). Le GM-CSF joue un rôle important dans le processus neuroinflammatoire notamment lors de la SP et est seulement détectable dans le modèle de tri-culture.

La BHE *in vitro* mime efficacement les effets *in vivo*.

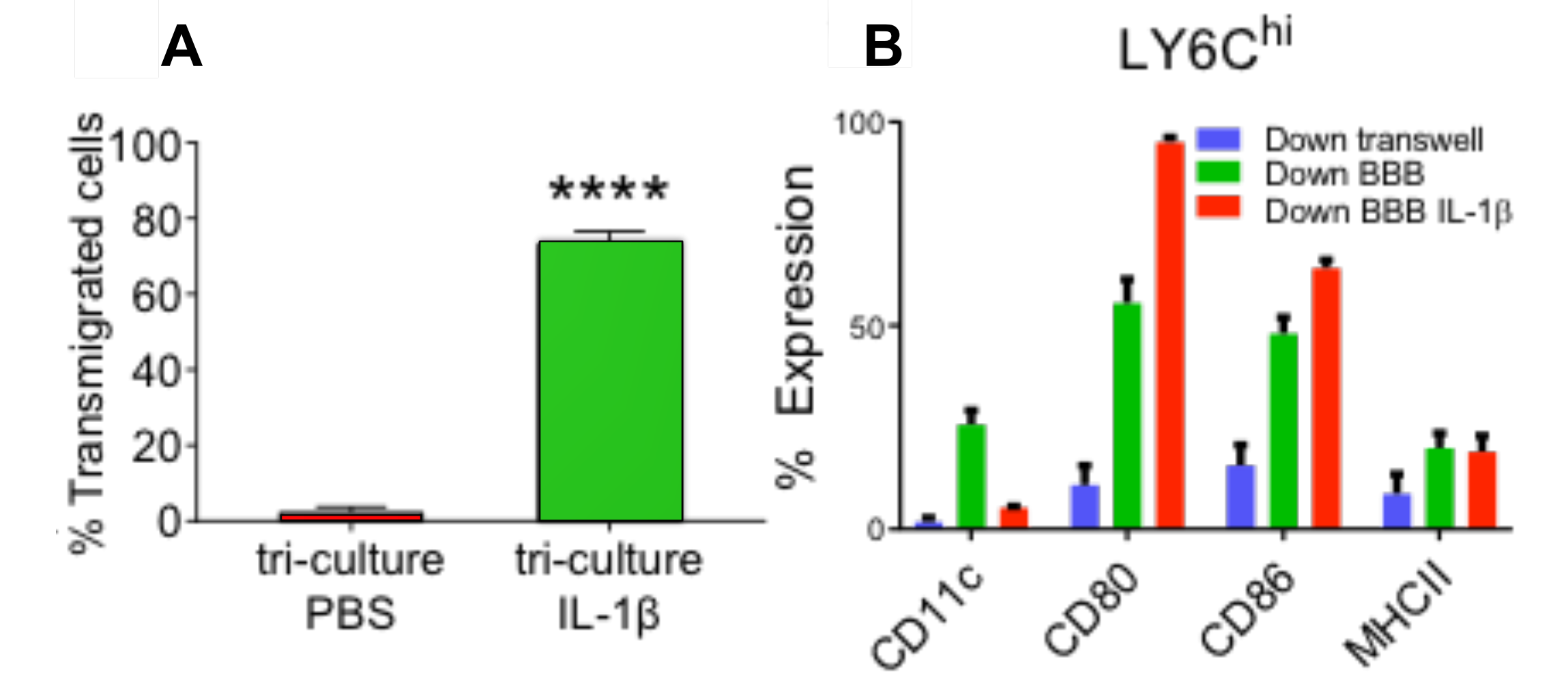


Figure 4. Transmigration des monocytes à travers la BHE. Analyse cytométrique des monocytes récupérés dans le compartiment basolatéral suivant une stimulation (18h) à l'IL-1β (10 ng/ml). **A.** L'IL-1β induit la transmigration des monocytes à travers la BHE. **** $p < 0,001$ **B.** Lors de leur transmigration à travers la BHE, les monocytes acquièrent un phénotype de cellules présentatrices d'antigènes et cet effet est potentialisé par l'IL-1β.

Synthèse et Conclusion

Le modèle *in vitro* de BHE développé dans le cadre de ce projet est constitué par la tri-culture de cellules endothéliales, de péricytes et d'astrocytes. Ce modèle validé nous permet: 1) de simplifier l'étude des interactions entre les divers types cellulaires présents lors de l'inflammation au niveau de la BHE, 2) de mieux comprendre les différentes voies de signalisation impliquées dans le développement de la SP, 3) d'élucider les mécanismes qui mènent à la perte d'intégrité de la BHE et 4) d'étudier comment la BHE module en conditions inflammatoires, l'acquisition des fonctions effectrices des cellules immunitaires.

Bibliographie

- 1-Tigges U, Welser-Alves JV, Boroujerdi A and Milner R (2012) A novel and simple method for culturing pericytes from mouse brain. *Microvasc Res*, volume 84 (1) : 74-80
- 2-Schildge, S., Bohrer, C., Beck, K., Schachtrup, C. (2013) Isolation and culture of mouse cortical astrocytes. *J Vis Exp* Jan 19 ; (71)
- 3- Alexandre Paradis, David Leblanc, Nancy Dumais (2016) Optimization of an *in vitro* human blood-brain barrier model: Application to blood monocyte transmigration assays. *MethodsX*; 3: 25-34.

Remerciements

Un merci particulier à toute l'équipe du Dr Lacroix ainsi qu'au FRQS pour sa contribution financière dans le cadre du *Programme de soutien à la recherche pour les enseignants-chercheurs et enseignantes-chercheuses de collège.*