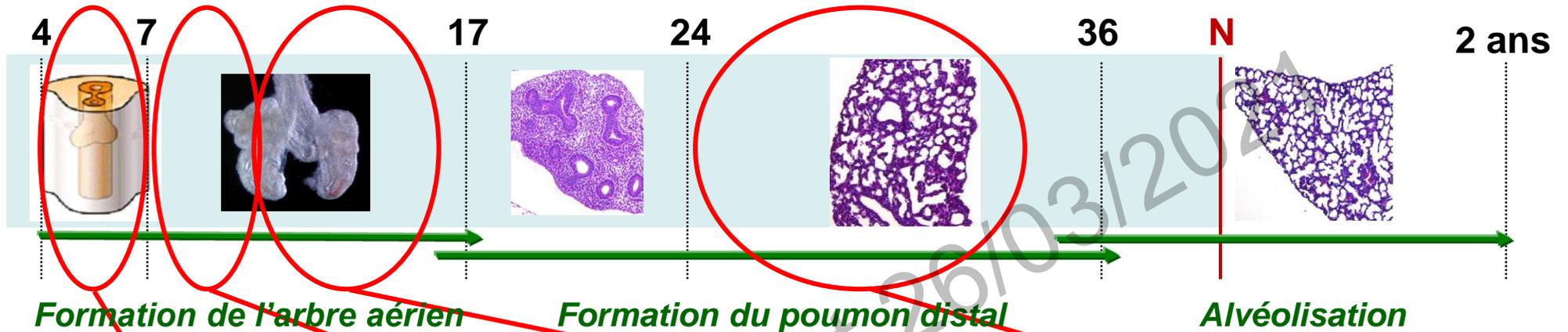
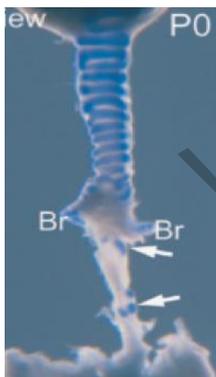


# Malformations pulmonaires congénitales : quels mécanismes moléculaires ?

# Pathologies du développement pulmonaire



**Pathologies de la  
différentiation  
précoce**



*Atrésie oesophage*

**Pathologies du  
branching**



*Hernie du diaphragme*  
*Anomalies de la vascularisation*  
*Anomalies de l'arbre aérien*

**Pathologies localisées  
de l'arbre bronchique**



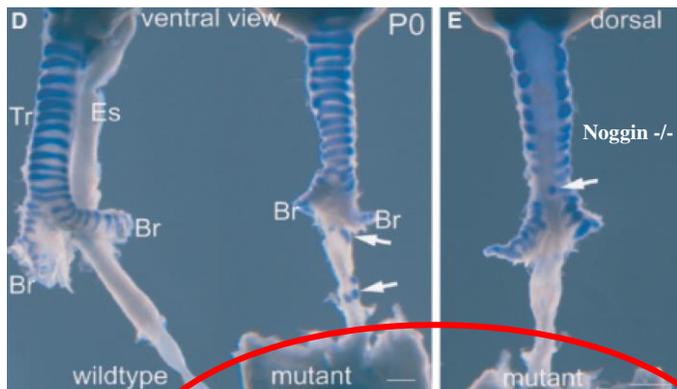
*MAKP*  
*Séquestrations*  
*Atrésies bronchiques*  
*Emphysème lobaire congénital*

**Pathologies du  
poumon distal**



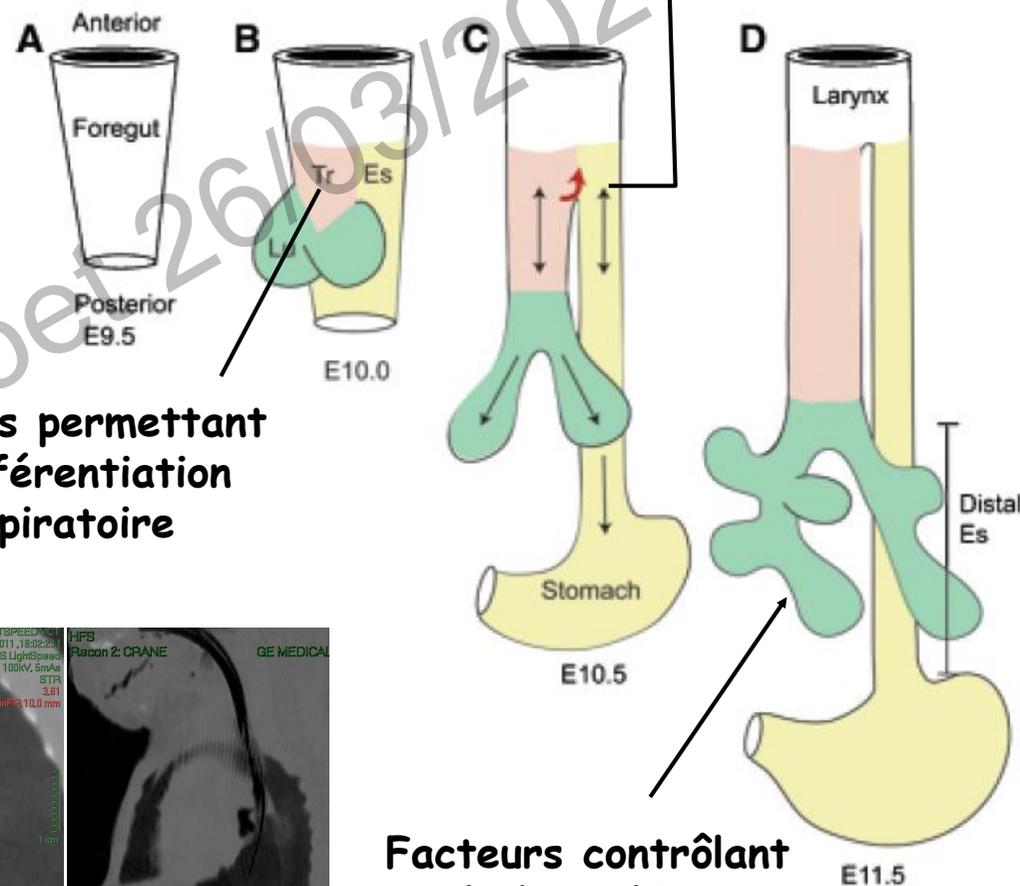
*Prématurité*

# De la différenciation précoce au branching : des interactions épithélium-mésenchyme régulées dans le temps et l'espace



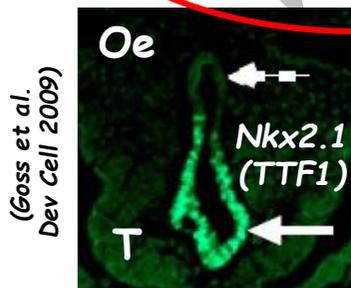
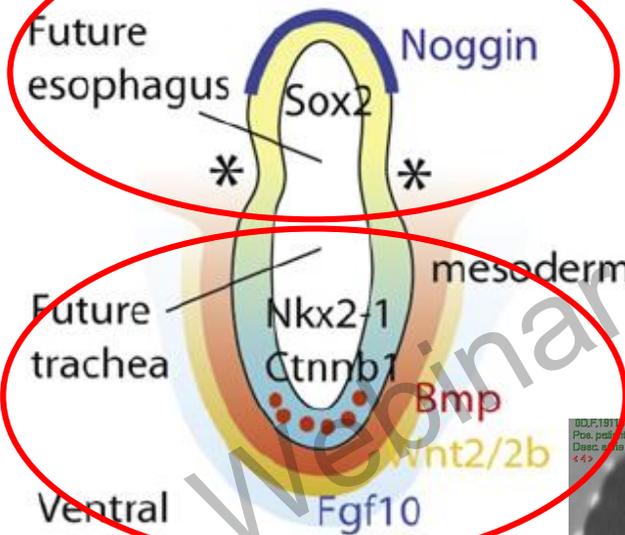
Que et al. Differentiation 2006

Facteurs permettant le maintien d'une différenciation digestive

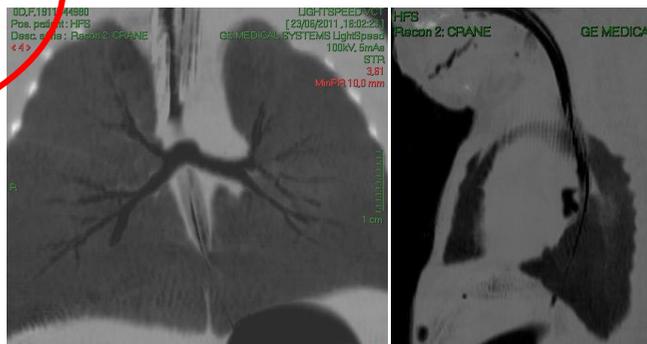


Facteurs permettant la différenciation respiratoire

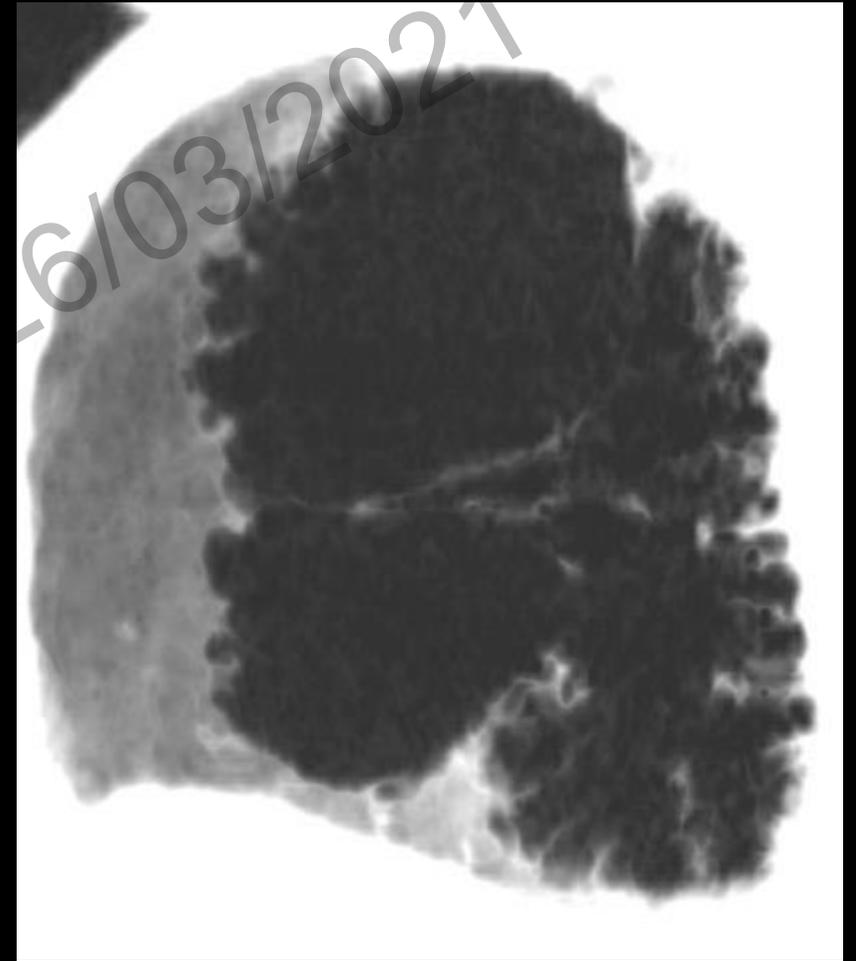
Facteurs contrôlant le branching



(Goss et al. Dev Cell 2009)

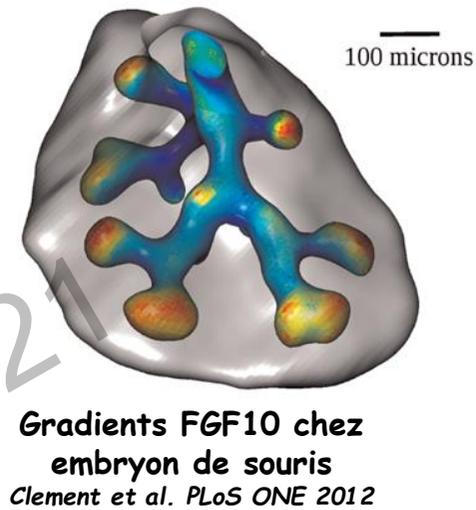
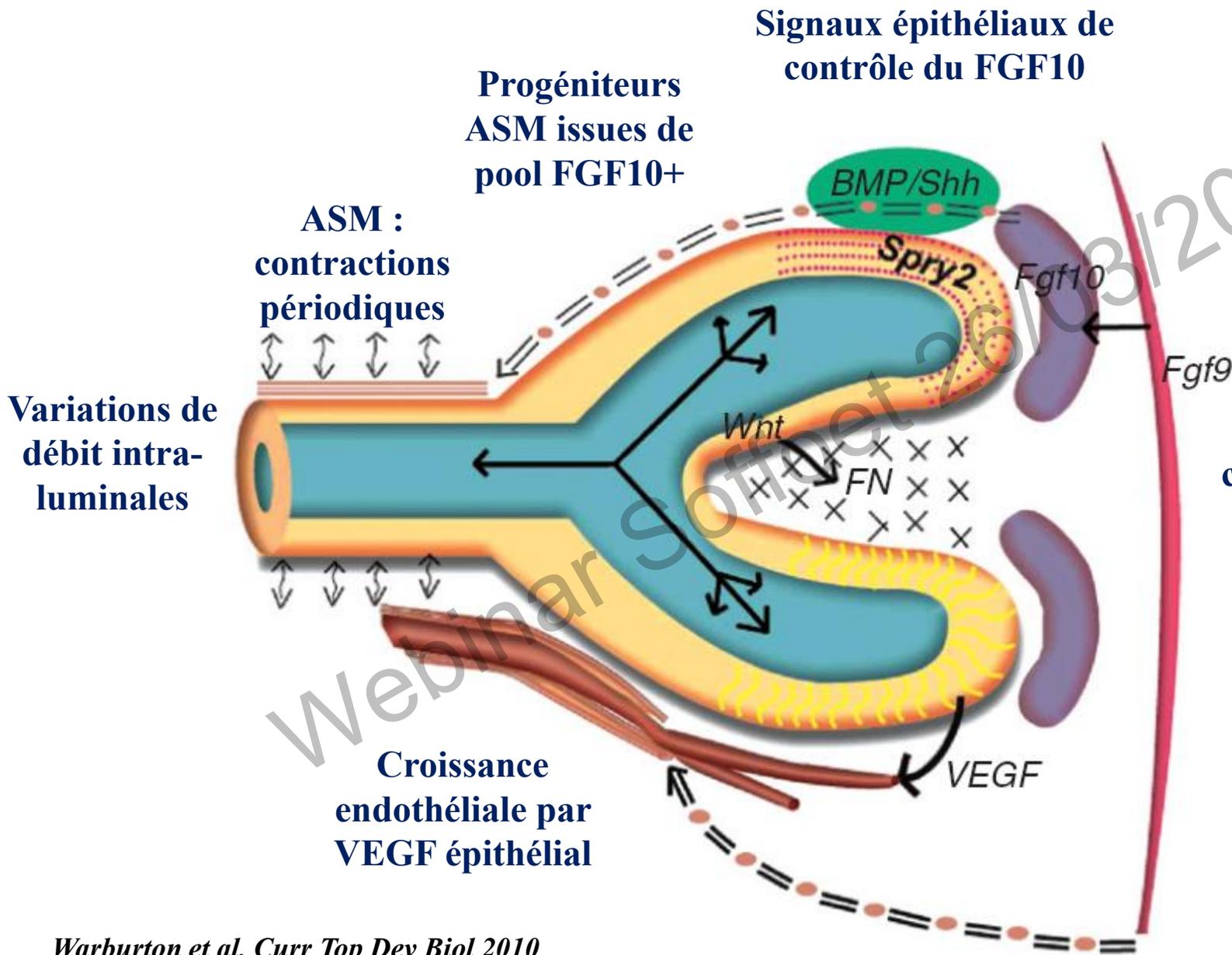


# CPAM : Congenital Pulmonary AIRWAY Malformation



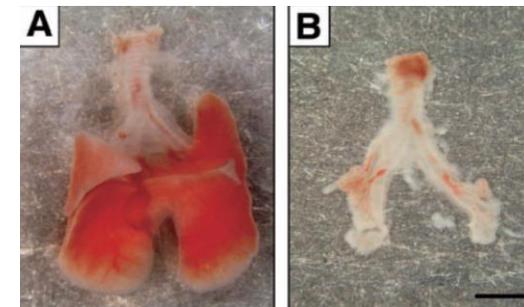
# **Fgf10/Fgfr2b Signaling Orchestrates the Symphony of Molecular, Cellular, and Physical Processes Required for Harmonious Airway Branching Morphogenesis**

*Matthew R. Jones<sup>1,2</sup>, Lei Chong<sup>3</sup> and Saverio Bellusci<sup>1,2\*</sup>*



**Signaux mésench.de contrôle du FGF10 et d'ASM vaisseaux**

**Invalidation signalisation FGF10-FGFR2b**

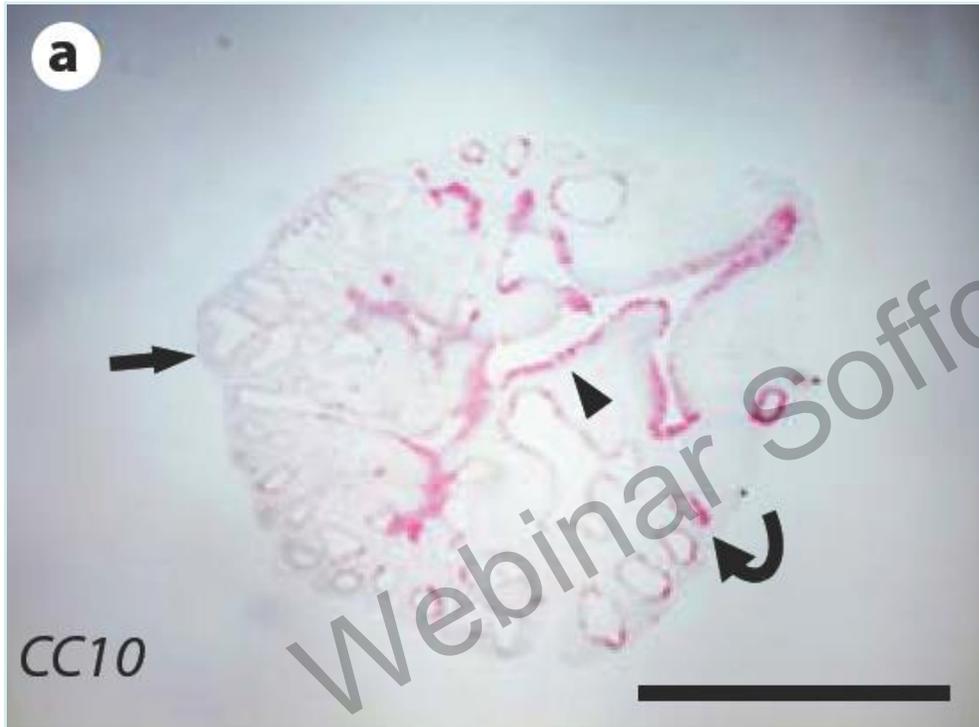


*Hokuto et JBC 2003*

# FGF10 and cystic malformations

Culture explant de poumon embryonnaire de rat (E14)

+ héparine (30 ng/ml)



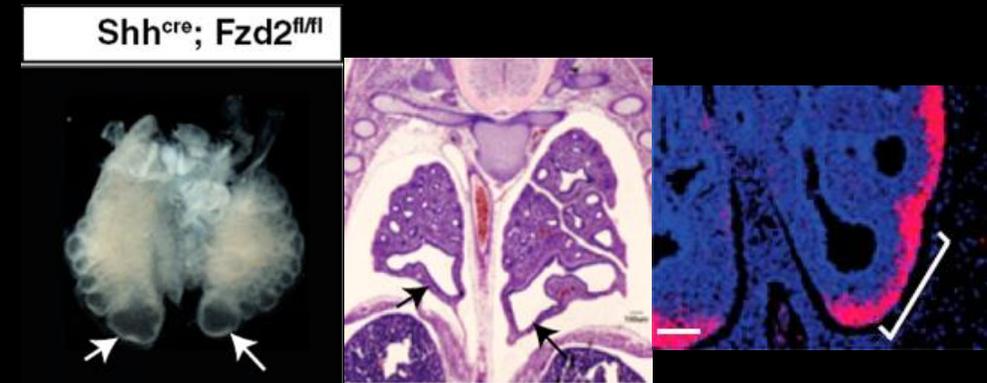
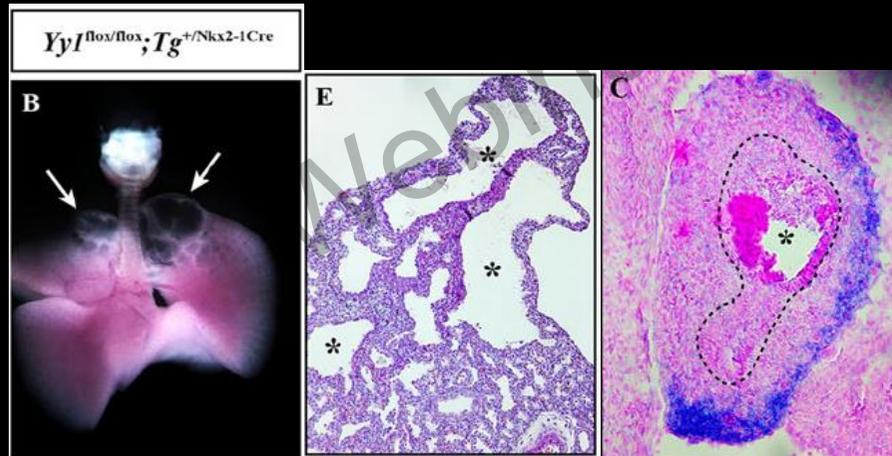
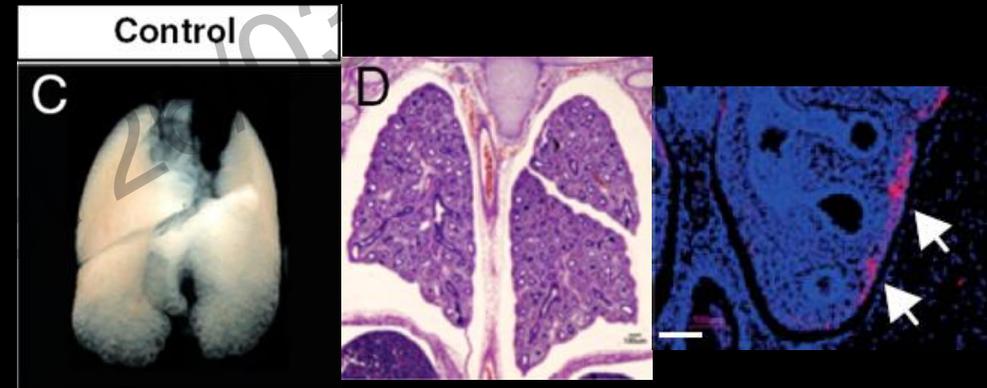
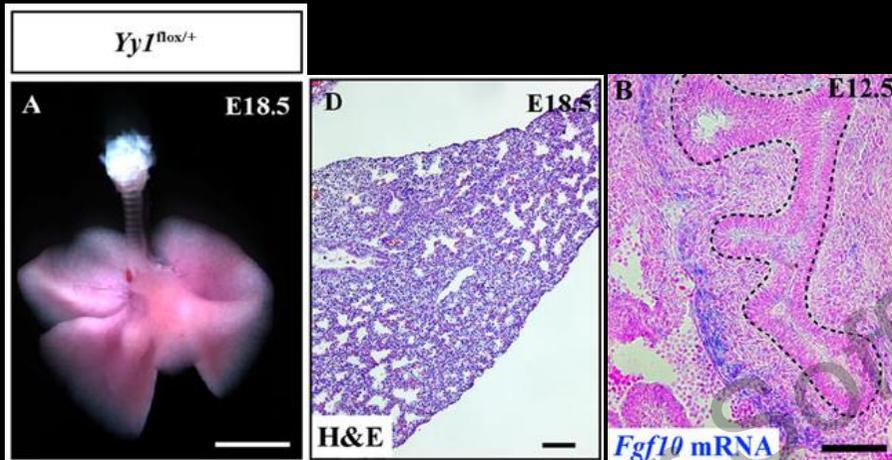
+ FGF10 (250 ng/ml) + héparine (30 ng/ml)



# Dysrégulation signalisation FGF10 : un point commun de nombreux modèles murins de malformations pulmonaires kystiques

Invalidation *Yy1* (inducteur de *Shh* qui réprime *FGF10*)

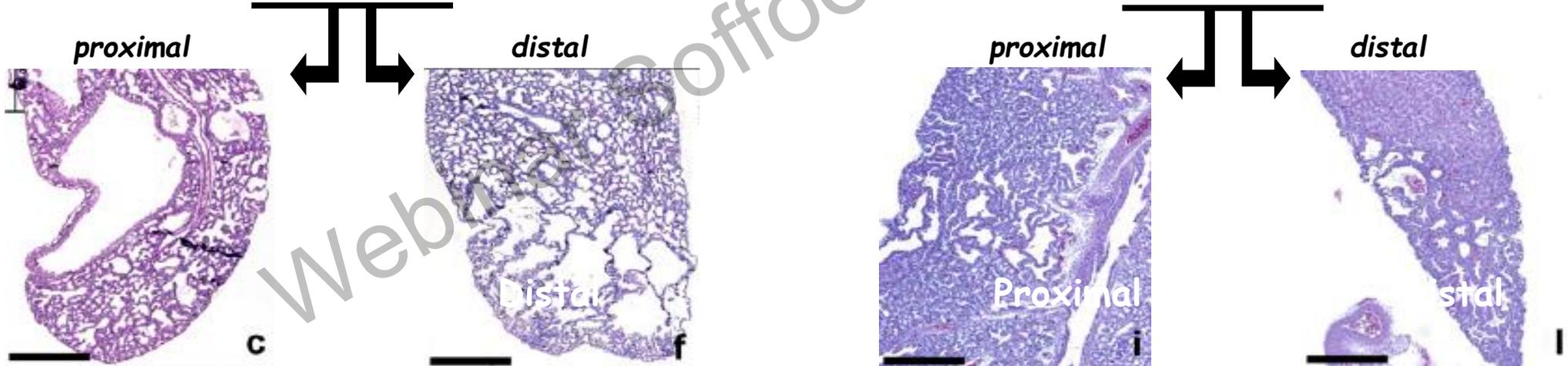
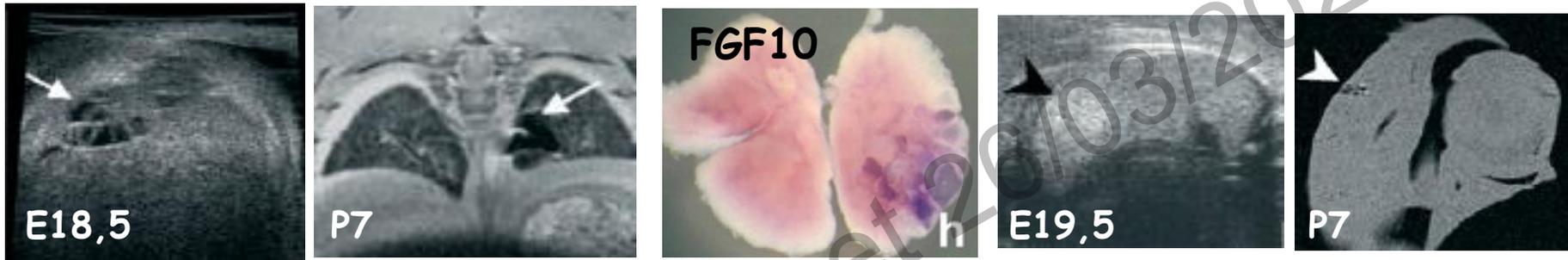
Invalidation *Frizzled 2* (récepteur *Wnt*)



# Surexpression FGF10 et induction directe de malformations kystiques

Injection Ad-FGF10 dans le parenchyme pulmonaire de fœtus de rats  
à E15,5 (pseudoglandulaire)

à E18,5 (canaliculaire)



(Gonzaga et al. AJRCMB 2008)

➔ **Hétérogénéité phénotypique reproduite par variations d'expression dans le temps et dans l'espace**

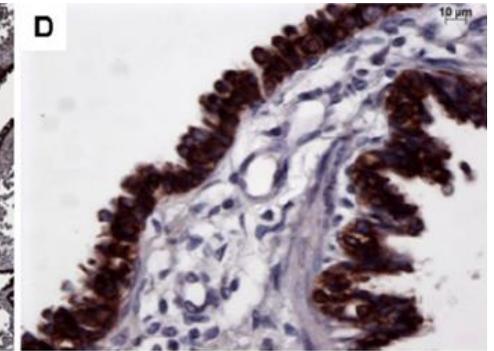
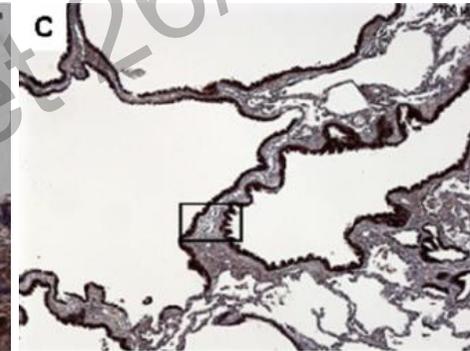
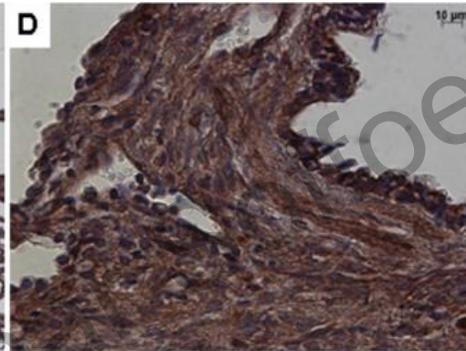
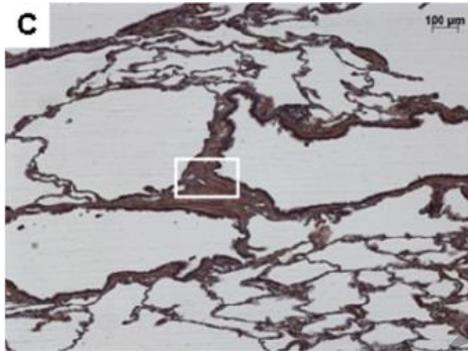
## FGF10 and cystic malformations

Strong expression of FGF10/FGR2b in CCAM, and not in other cystic lung diseases (e.g. PPB)

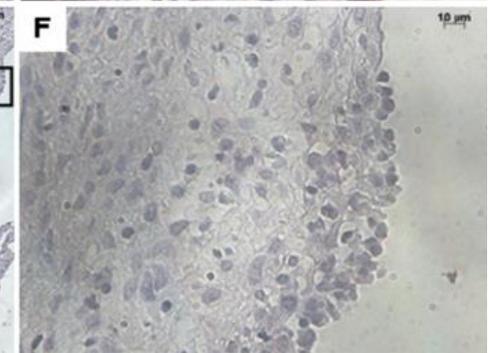
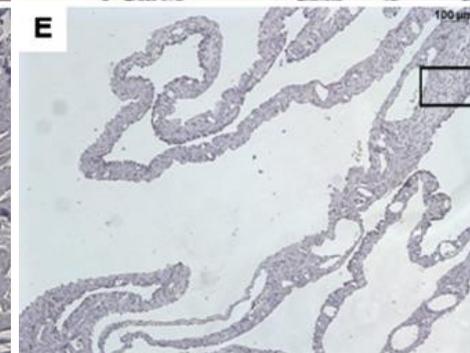
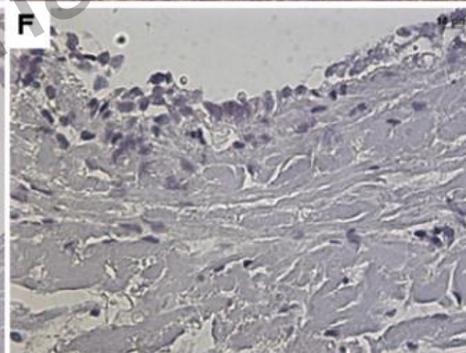
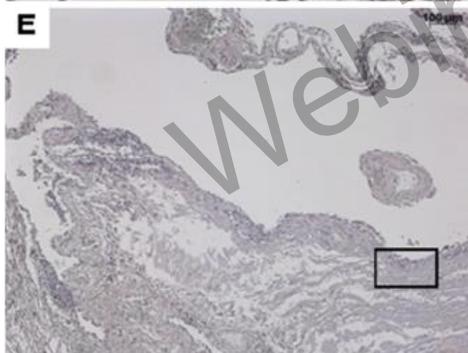
FGF10

FGFR2b

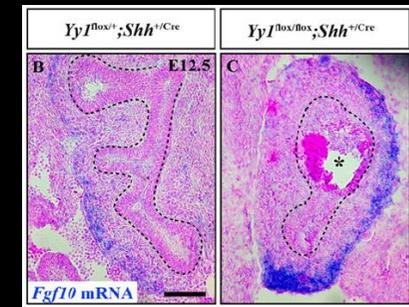
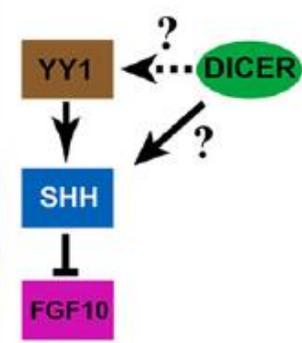
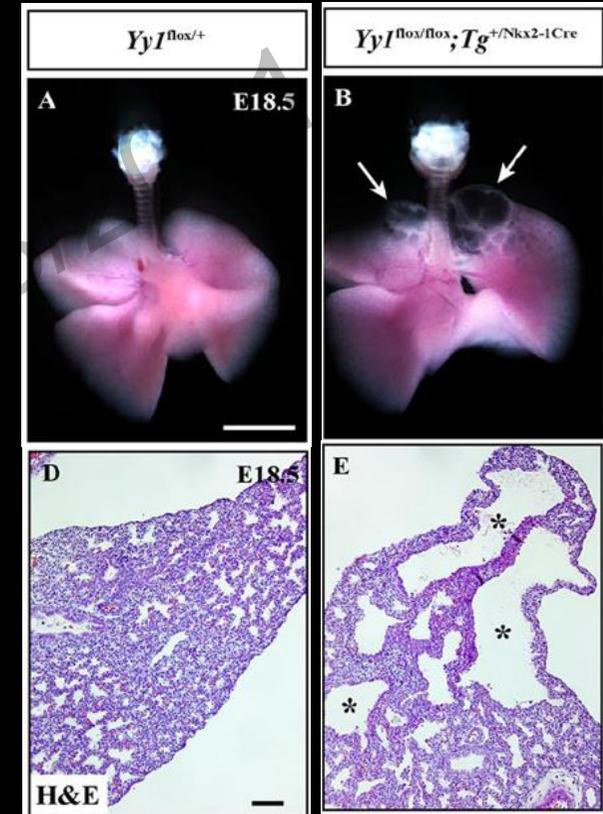
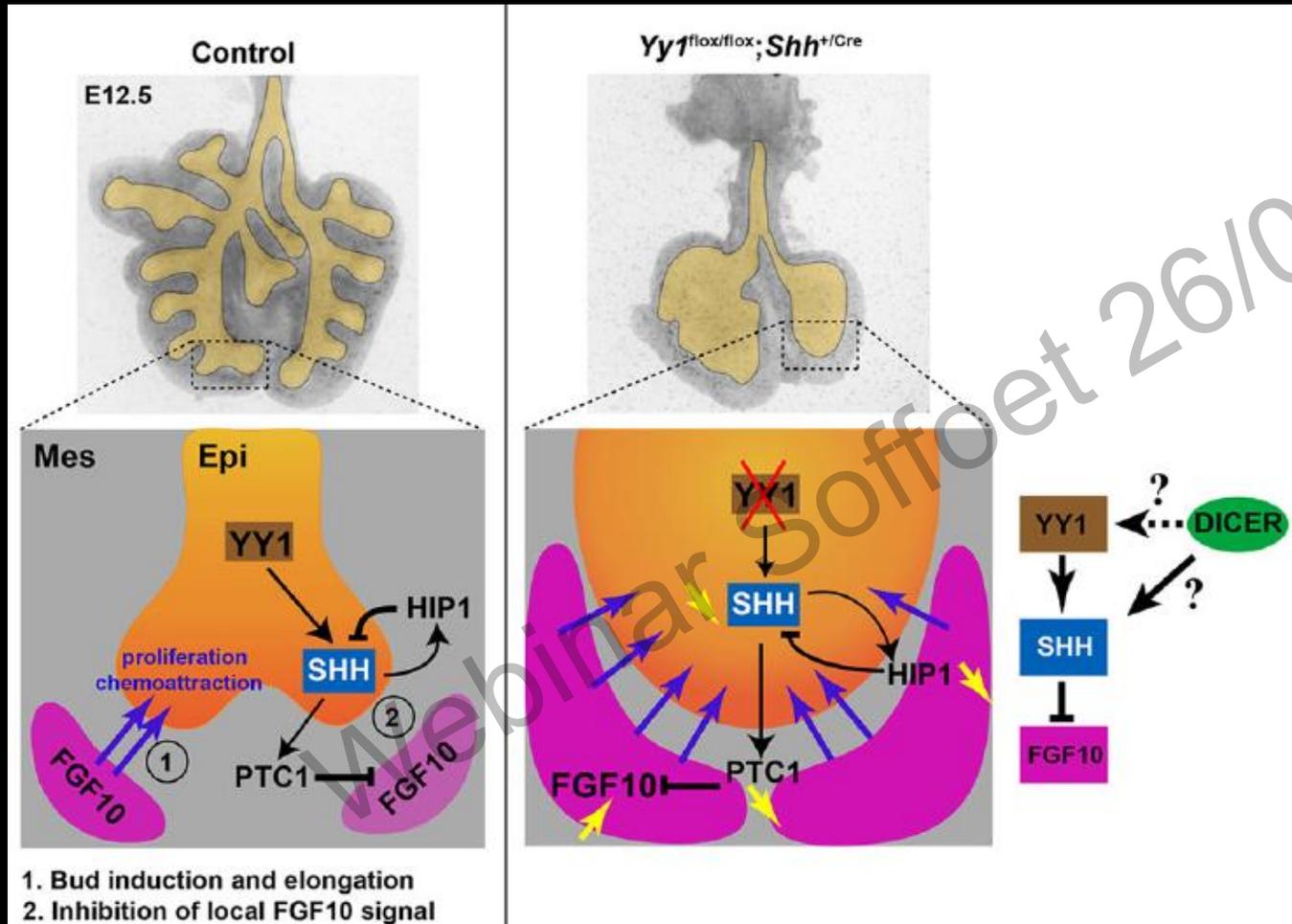
CCAM



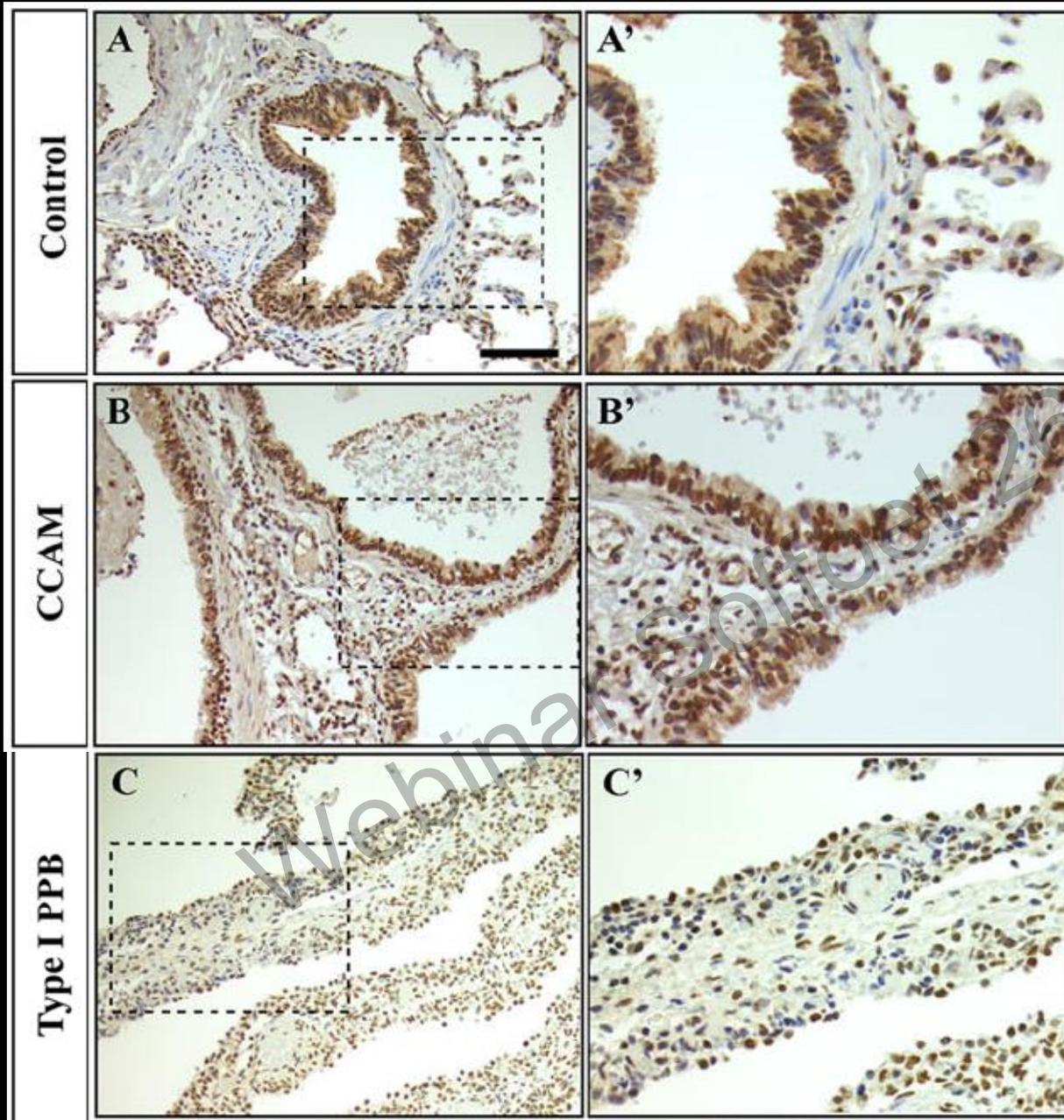
Cystic  
Pneumoblastoma



# Signalisation FGF10/FGFR2b et CPAM : régulation upstream par Yy1

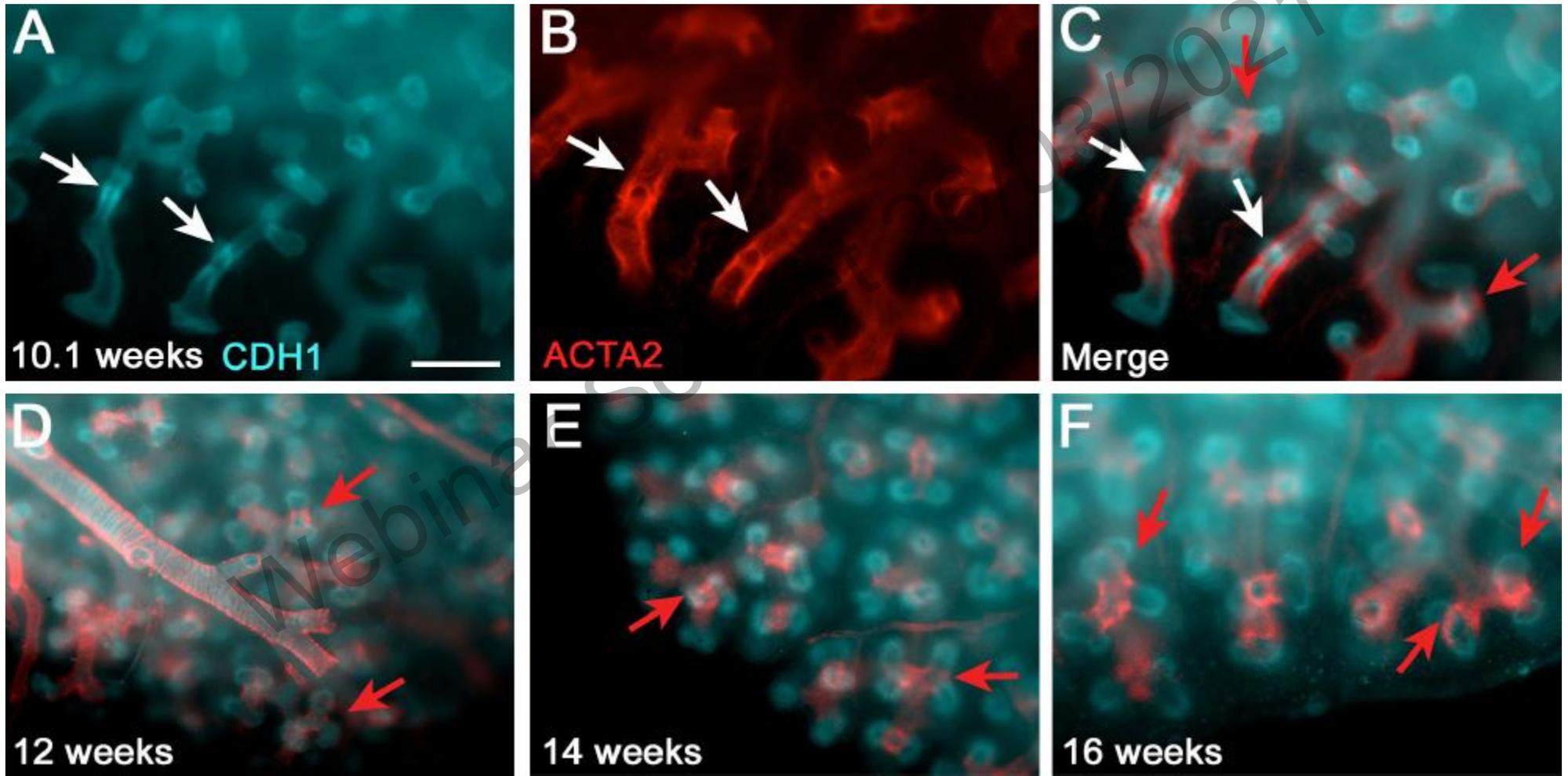


# Exemple du facteur de transcription Yy1



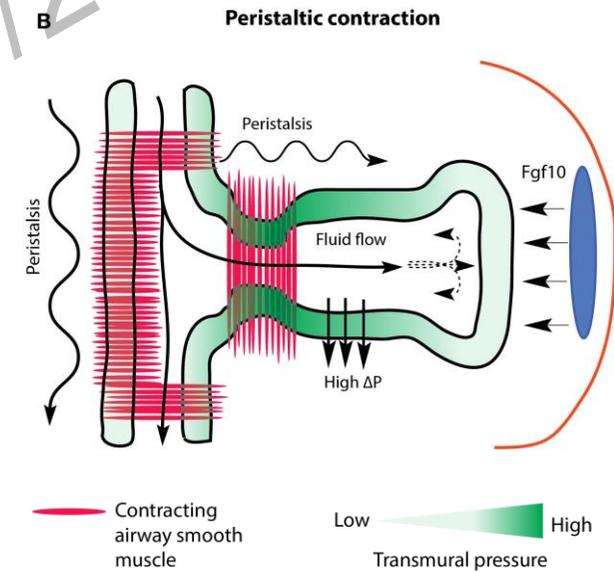
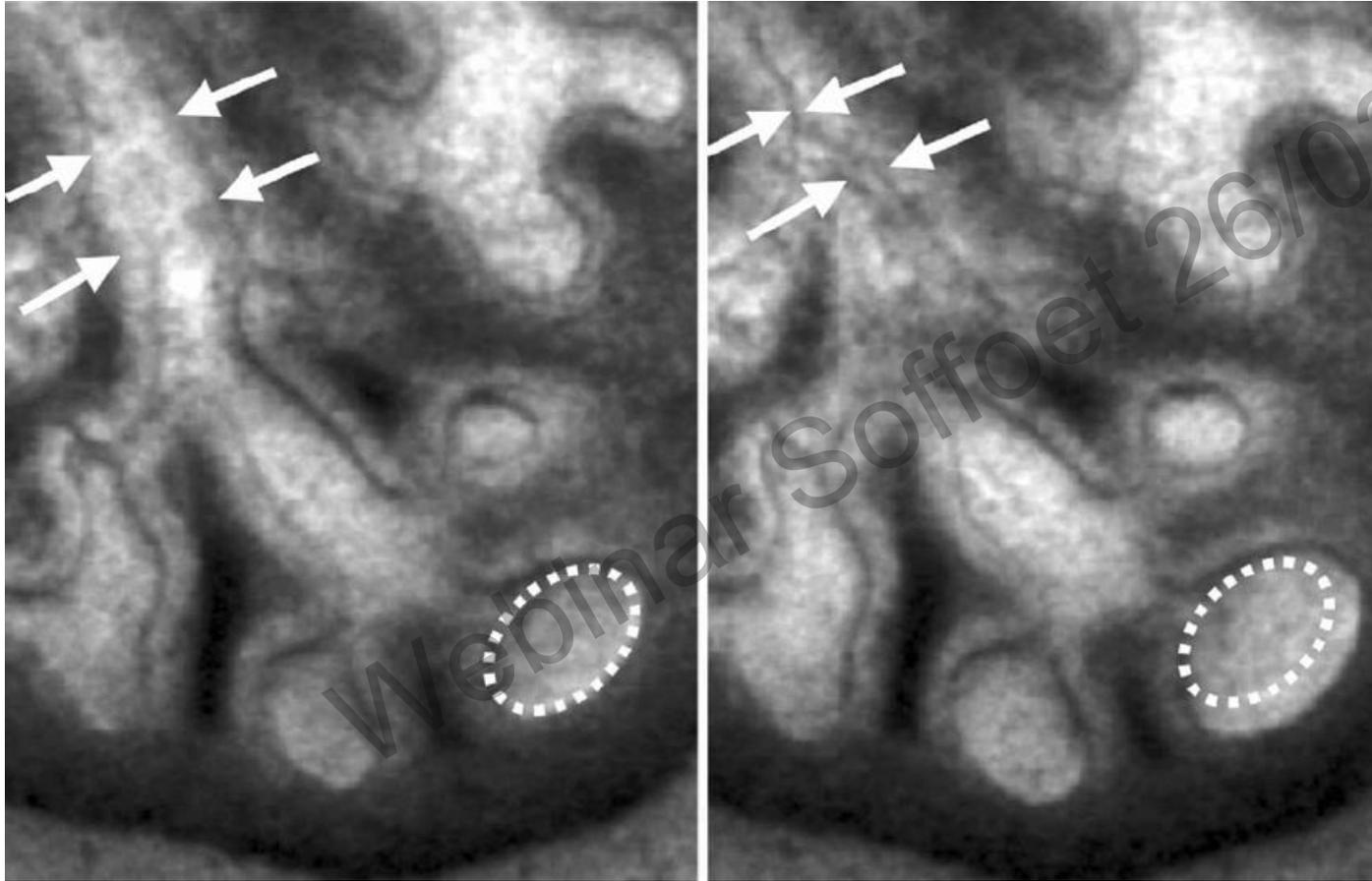
# Cellules musculaires lisses et branching dans le poumon humain

Poumon fœtal humain : marquage épithélial (CDH1) et cellules musculaires lisses (ACTA2) :  
co-existence distale de condensations épithéliales et « d'anneaux » de SMCs

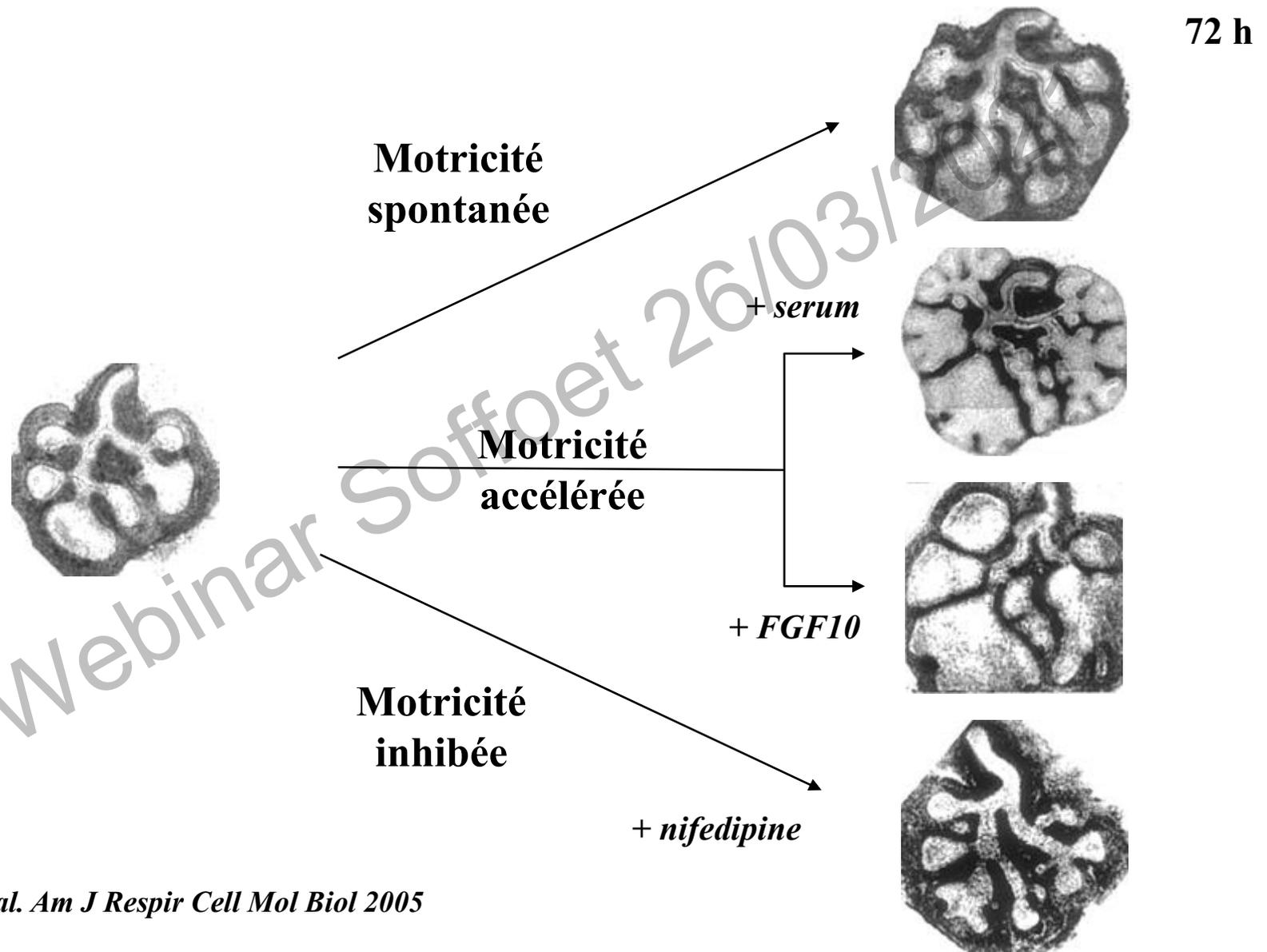


# CONTRÔLE MECANIQUE DE LA FORMATION DES VOIES AERIENNES

Mise en évidence d'un péristaltisme des voies aériennes embryonnaires

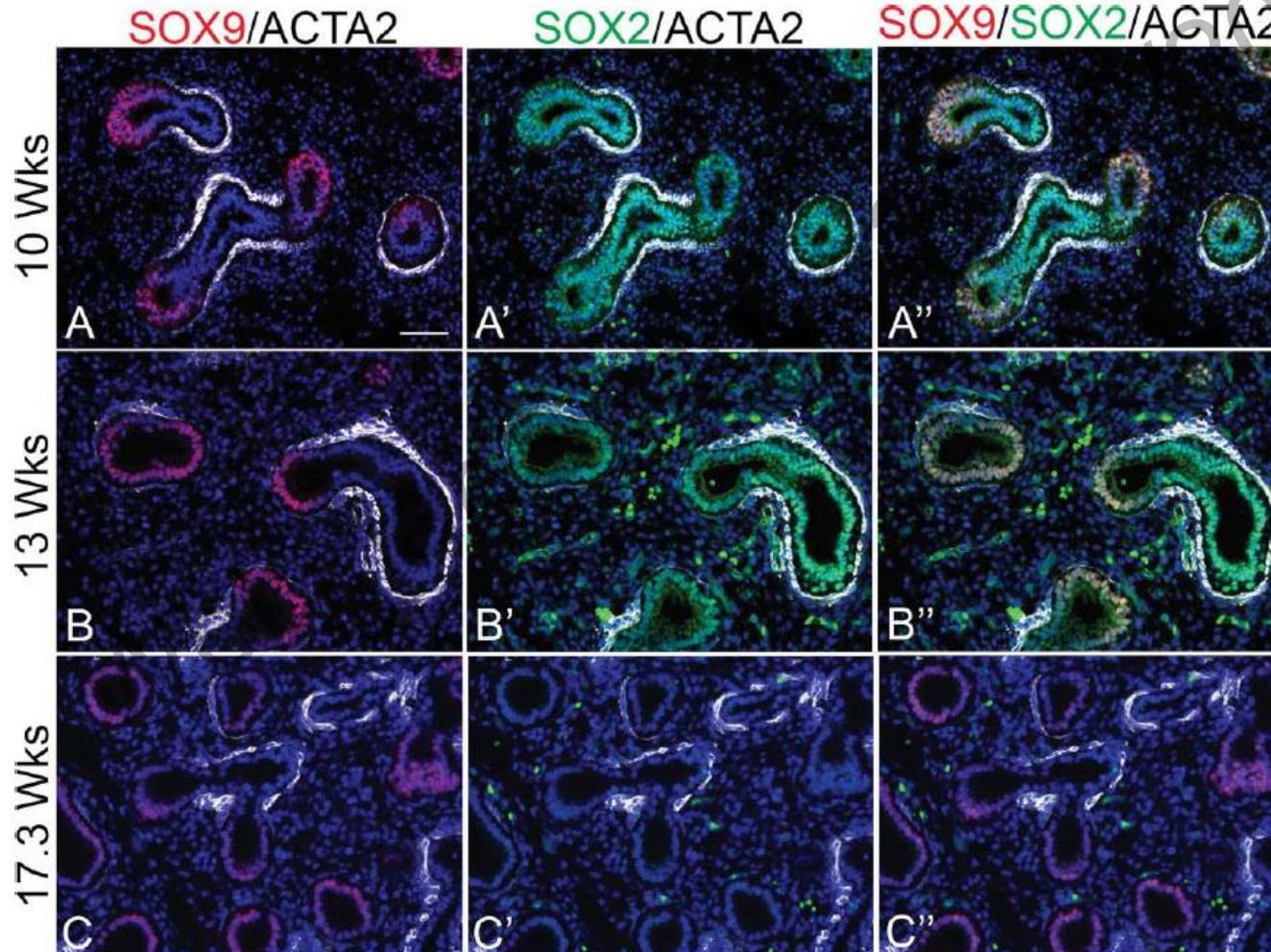


# CONTRÔLE MECANIQUE DE LA FORMATION DES VOIES AERIENNES



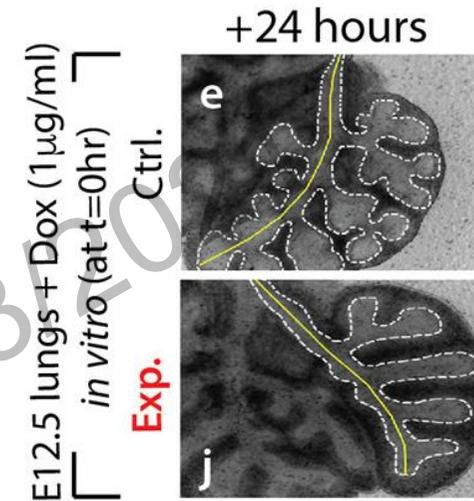
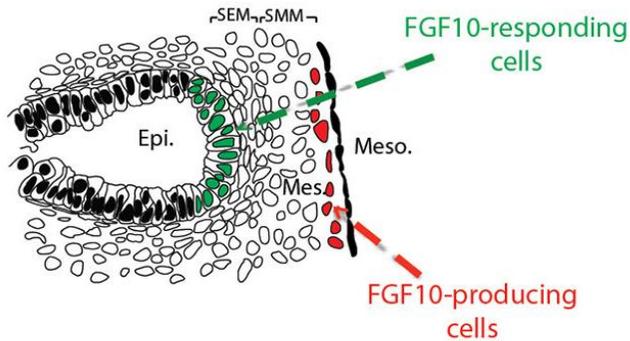
# SMC et régulation expression Sox2/Sox9 (différentiation proximo-distale)

Bourgeons épithéliaux dans poumon fœtal humain : Coexpression Sox2 et Sox 9 au début du stade pseudo-glandulaire, puis seulement Sox9 au début stade canaliculaire. SMCs (ACTA2+) au contact de cell. Sox2+ ou négative, mais jamais de cell. Sox9+

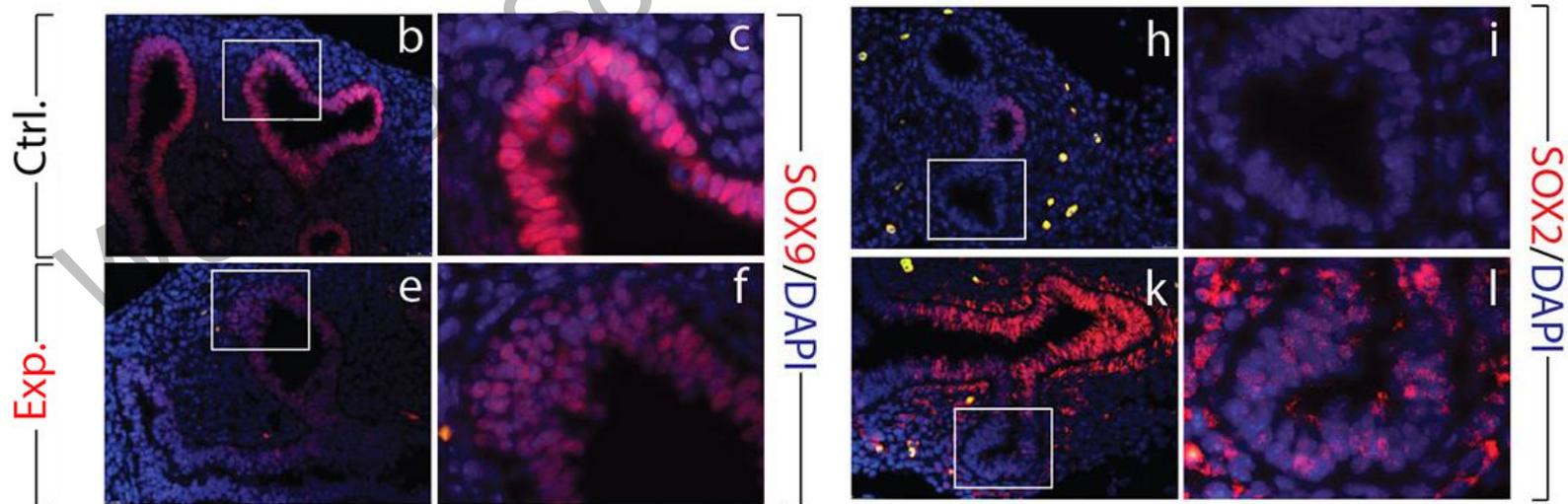


# FGF10/FGFR2B et régulation expression Sox2/Sox9

Modèle de souris avec FGFR2b soluble inducible  
(bloque la signalisation FGF10/FGFR2b)

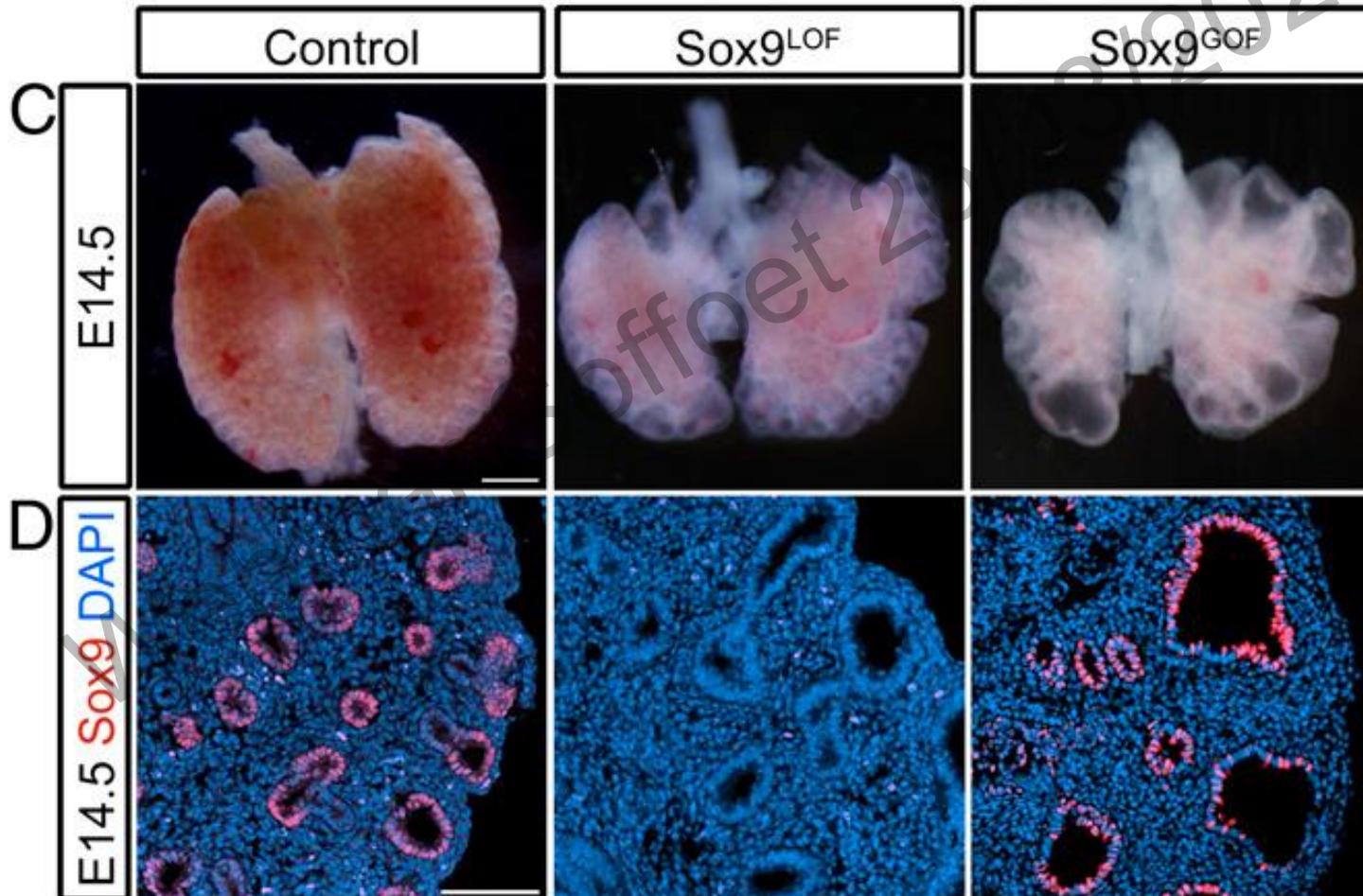


9 h après induction FGFR2b soluble in vitro : répression Sox9 et surexpression Sox2 :



## Sox9 est essentiel à la morphogenèse des voies aériennes

Perturbations précoces de fonction Sox9 (perte de fonction Sox9<sup>LOF</sup> ou gain de fonction Sox9<sup>GOF</sup>) : perturbation du branching, avec aspects dilatés, pseudo-kystiques, des voies aériennes

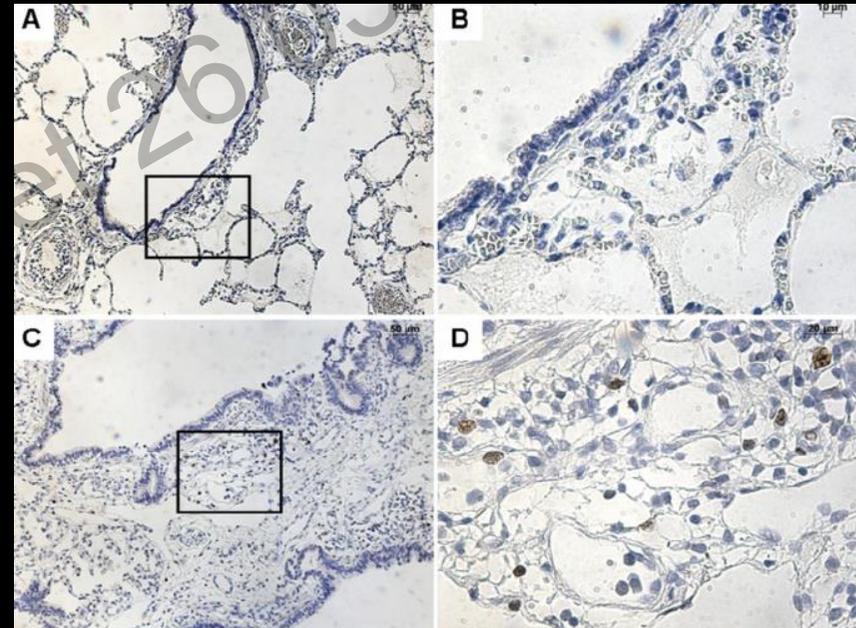
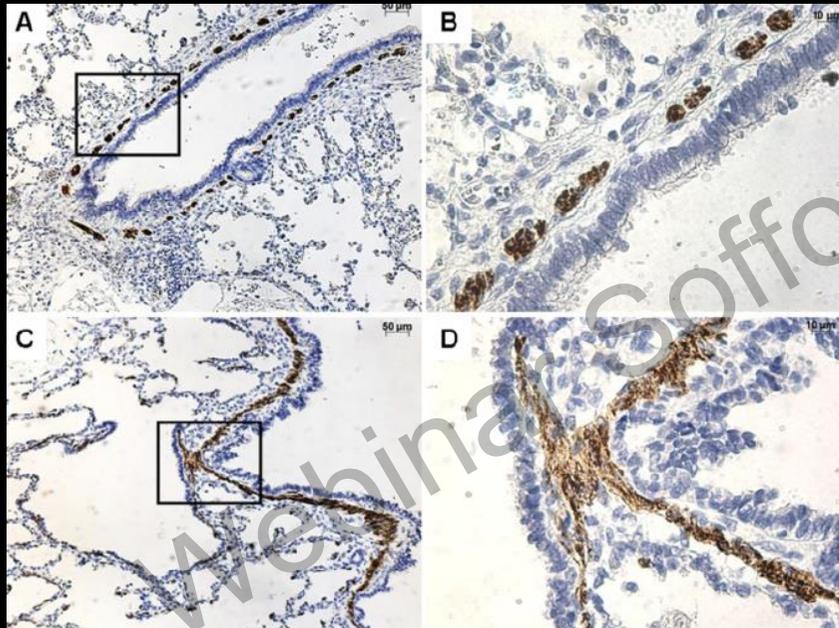


# Malformations pulmonaires : des anomalies de la prolifération/différentiation cellulaire

Hypertrophie/Hyperplasie cellules musculaires lisses (Desmin)

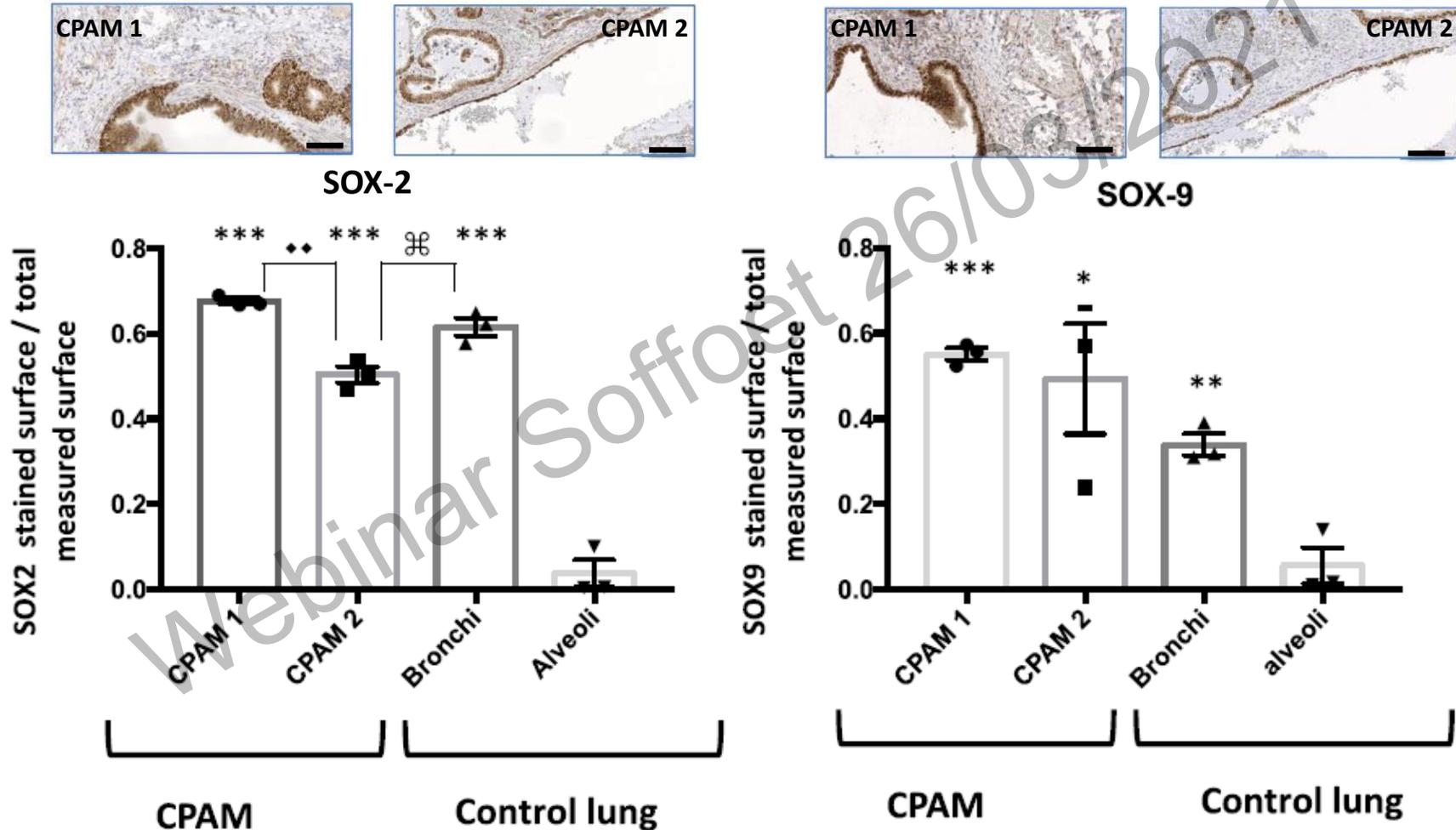
Augmentation de la prolifération cellulaire (Ki-67)

CPAM  
Témoins 6 mois

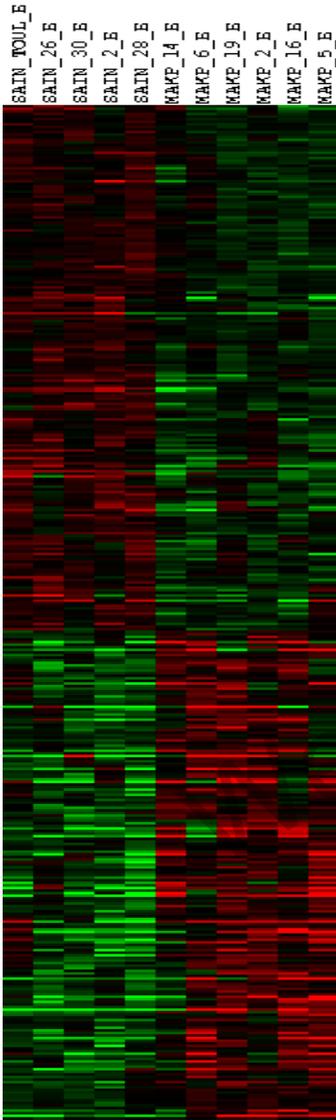


# CPAM : des anomalies de la différenciation proximo-distale

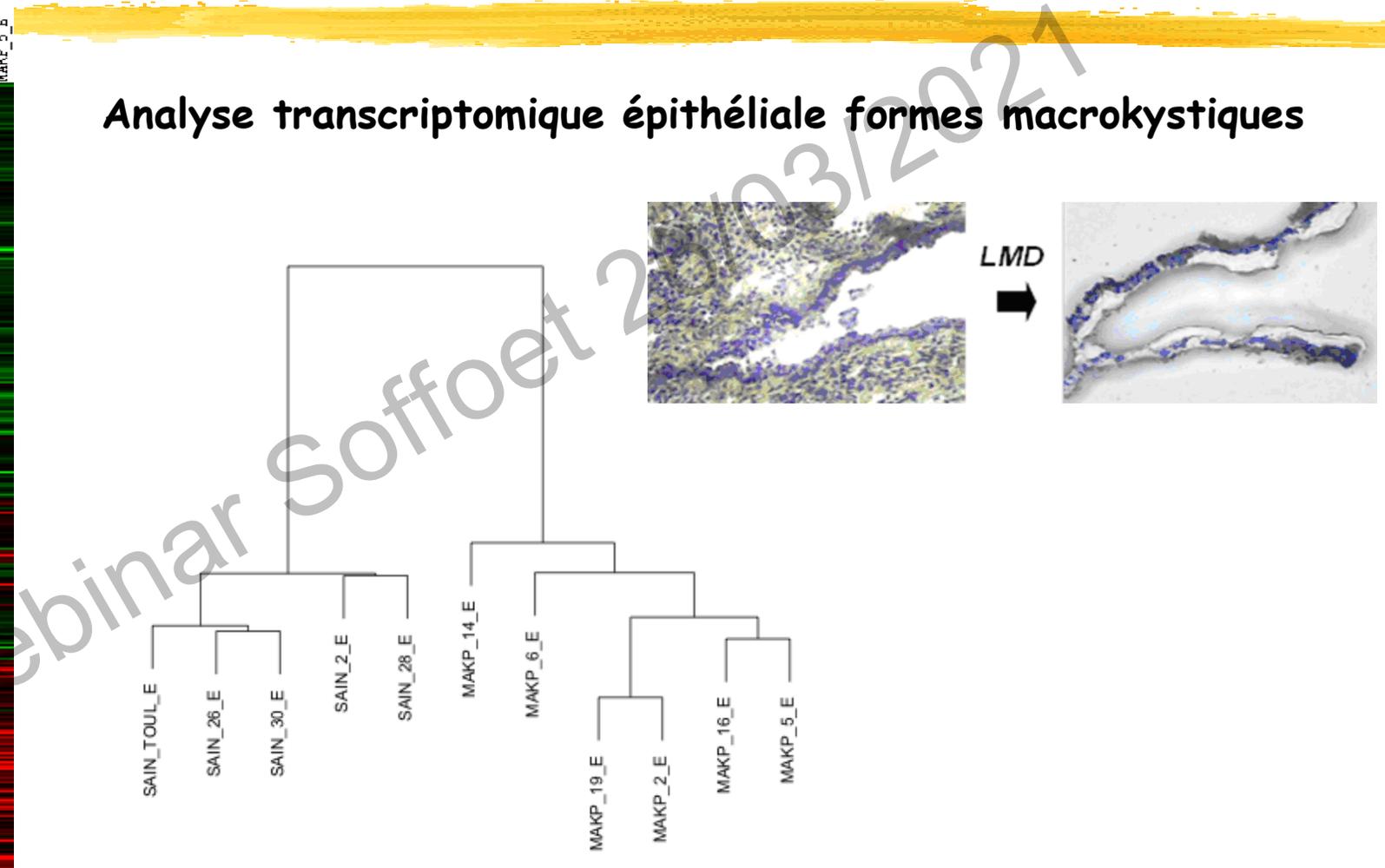
Expression Sox2 et Sox9 dans les malformations kystiques des voies aériennes



# Approche transcriptomique épithéliale

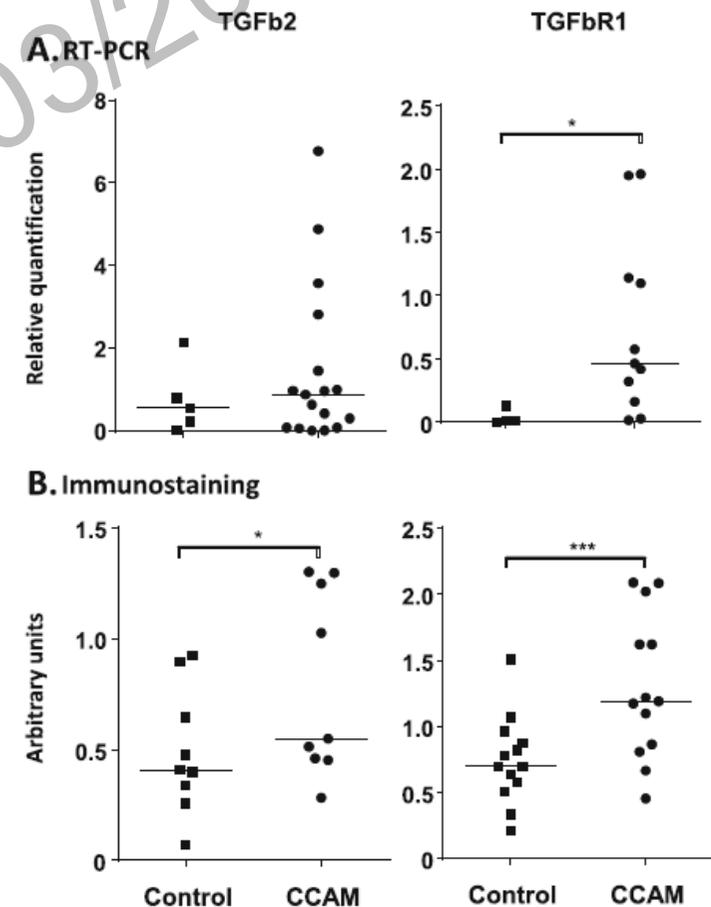
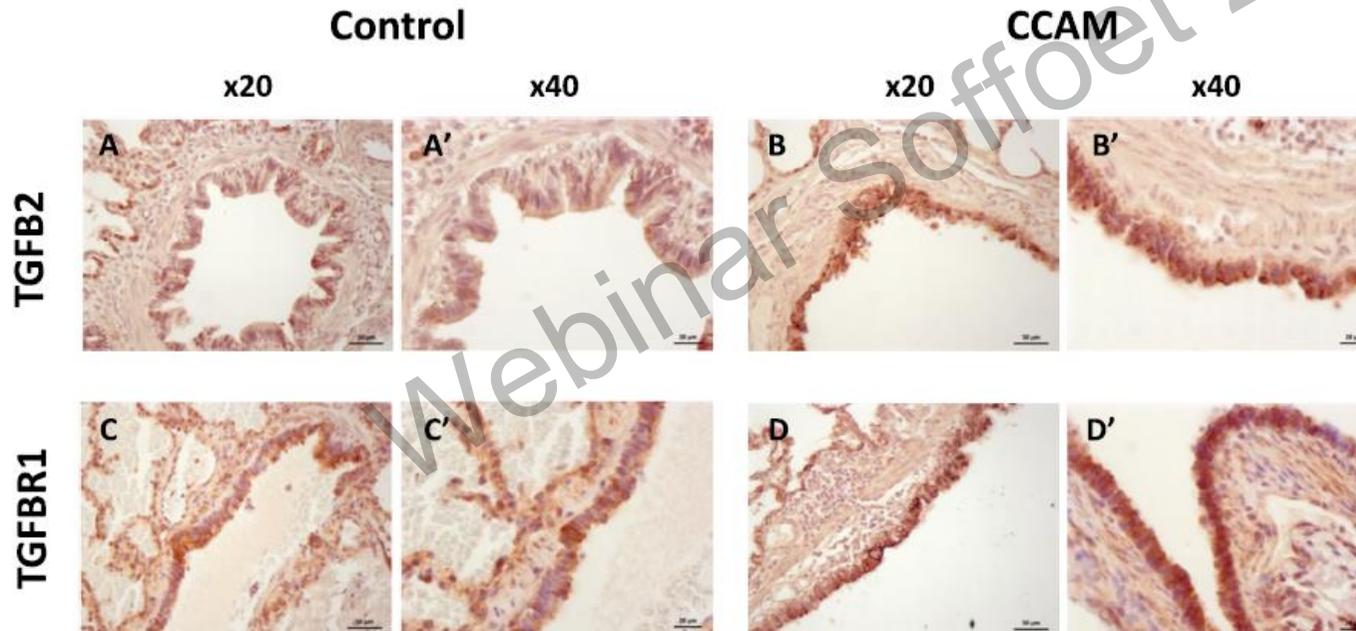


## Analyse transcriptomique épithéliale formes macrokystiques



# Approche transcriptomique épithéliale : identification TGFB2 et TGFBR1

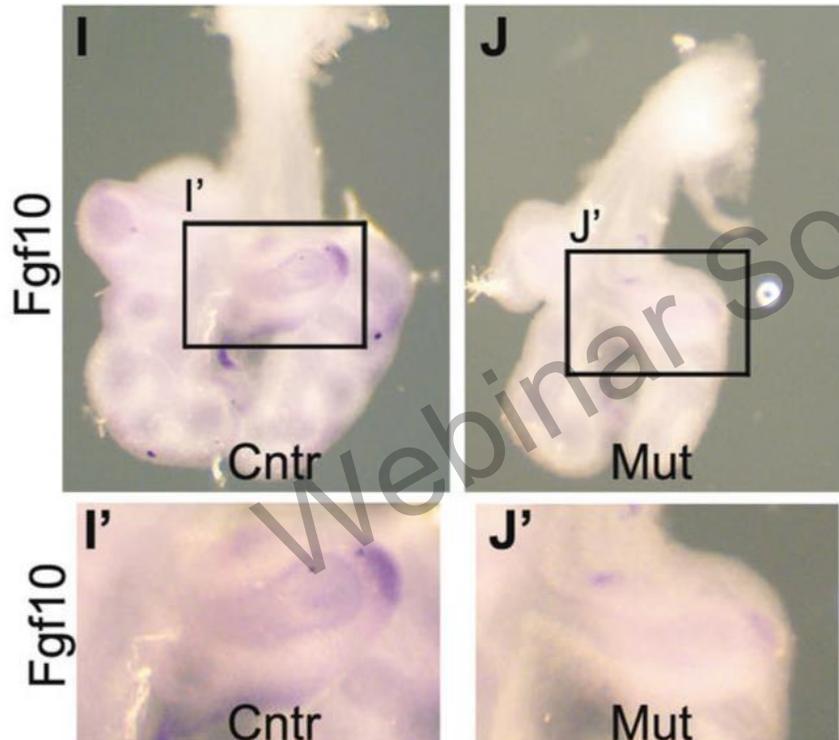
Analyse par processus biologiques ou voies de signalisation ; identification des gènes redondants ET avec rôle déjà connu dans le développement des voies aériennes : TGFB2, TGFBR1, MAP2K1 (=MEK1)



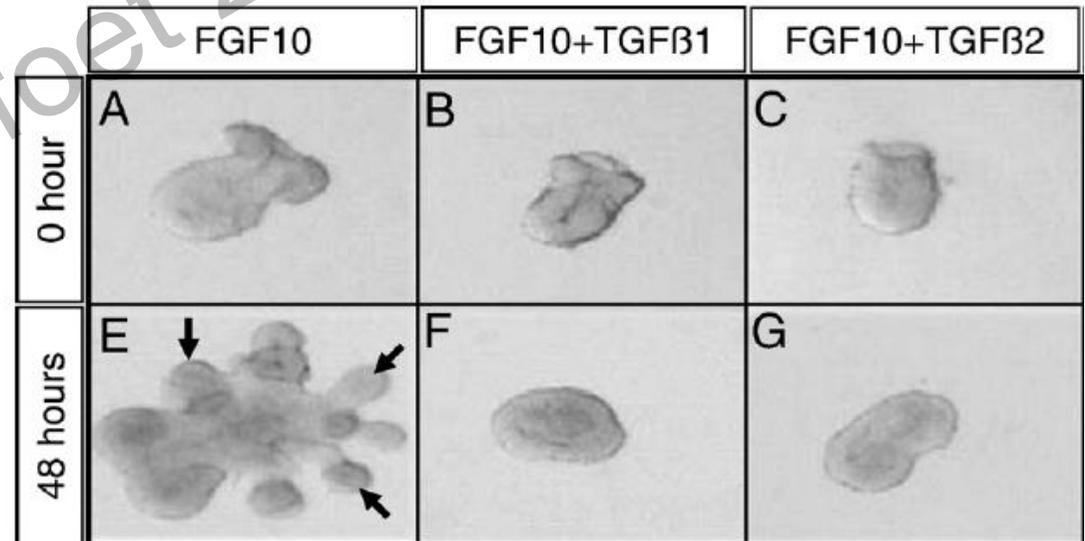
# Interactions signalisations TGF $\beta$ /TGF $\beta$ R et FGF10/FGFR2b

## Délétion mésenchyme-spécifique Tgf- $\beta$ 1

- Réduction branching
- Réduction expression FGF10



## Inhibition de la morphogenèse FGF10-induite des explants endodermiques par Tgf- $\beta$ 1 et - $\beta$ 2

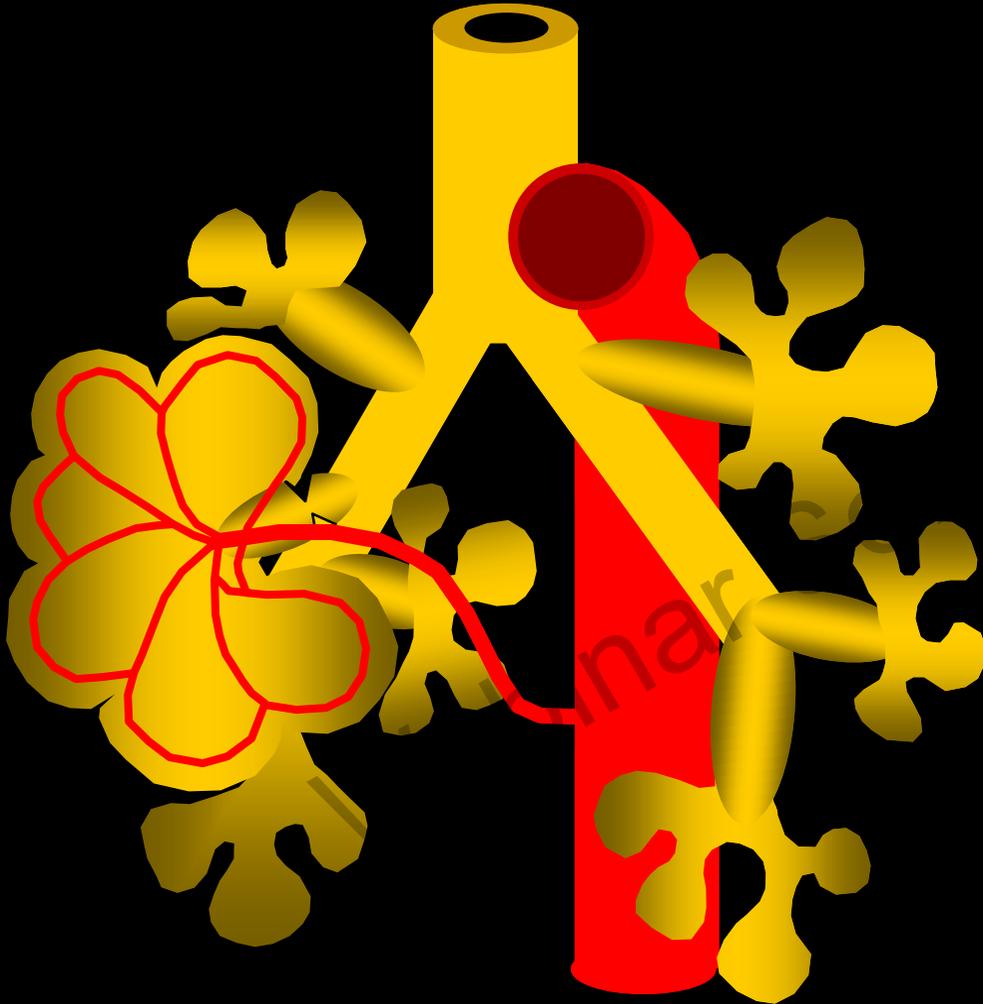


## En résumé :



- La physiopathologie des malformations pulmonaires congénitales humaines reste inconnue
- La signalisation FGF10/FGFR2b intervient dans les différents mécanismes régulateurs de la morphogenèse des voies aériennes, et joue très probablement un rôle clé en pathologie humaine
- Les différences phénotypiques des malformations pulmonaires congénitales peuvent correspondre à une même dysfonction moléculaire survenant à un moment différent du développement des voies aériennes

# Un processus pathologique probablement commun



Branching normal



Perte de contrôle de l'architecture normale des voies aériennes



± Perte de contact avec l'arbre bronchique normal



± Persistance de vascularisation systémique