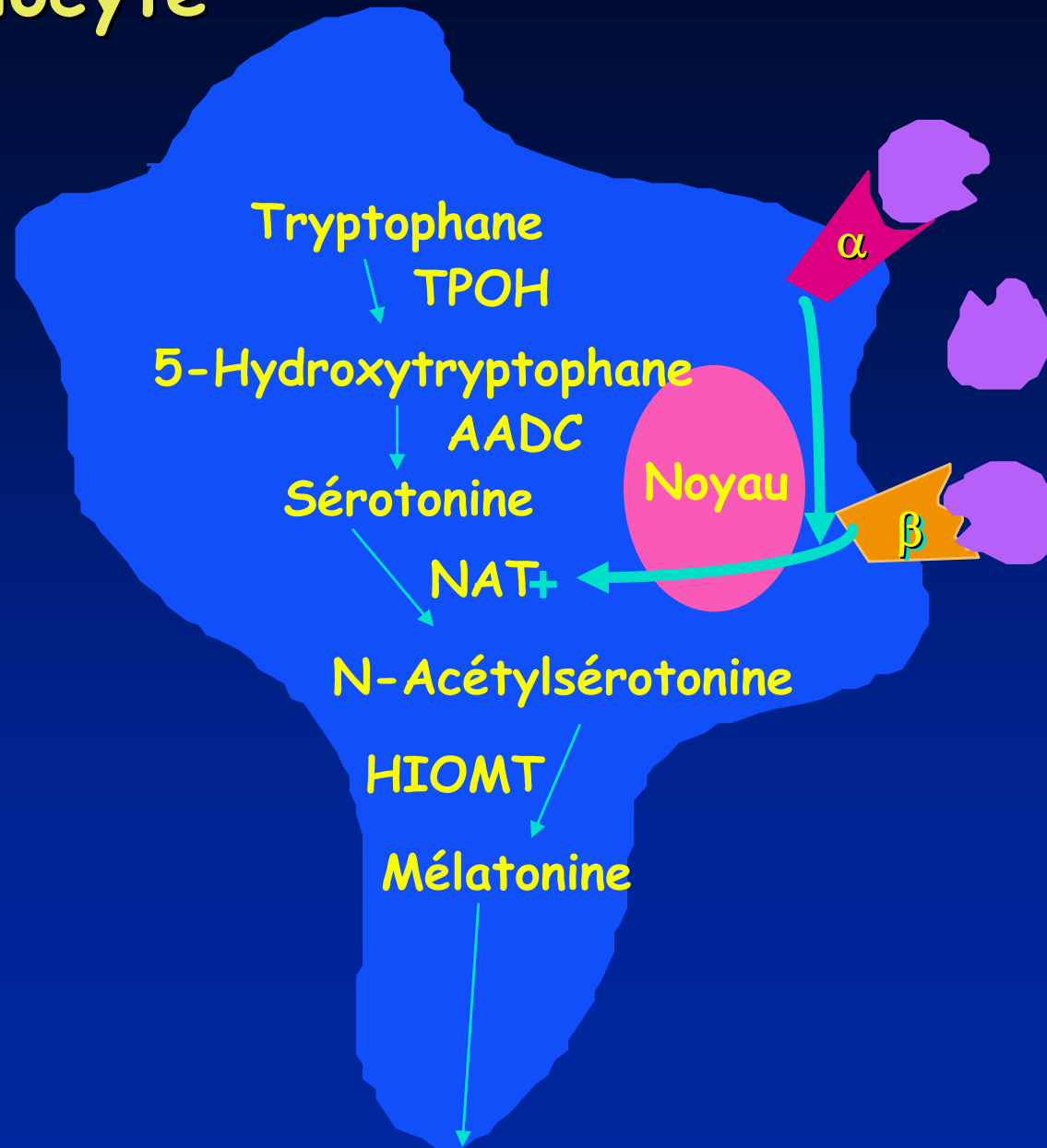


Tumeurs du parenchyme pinéal (TPP)

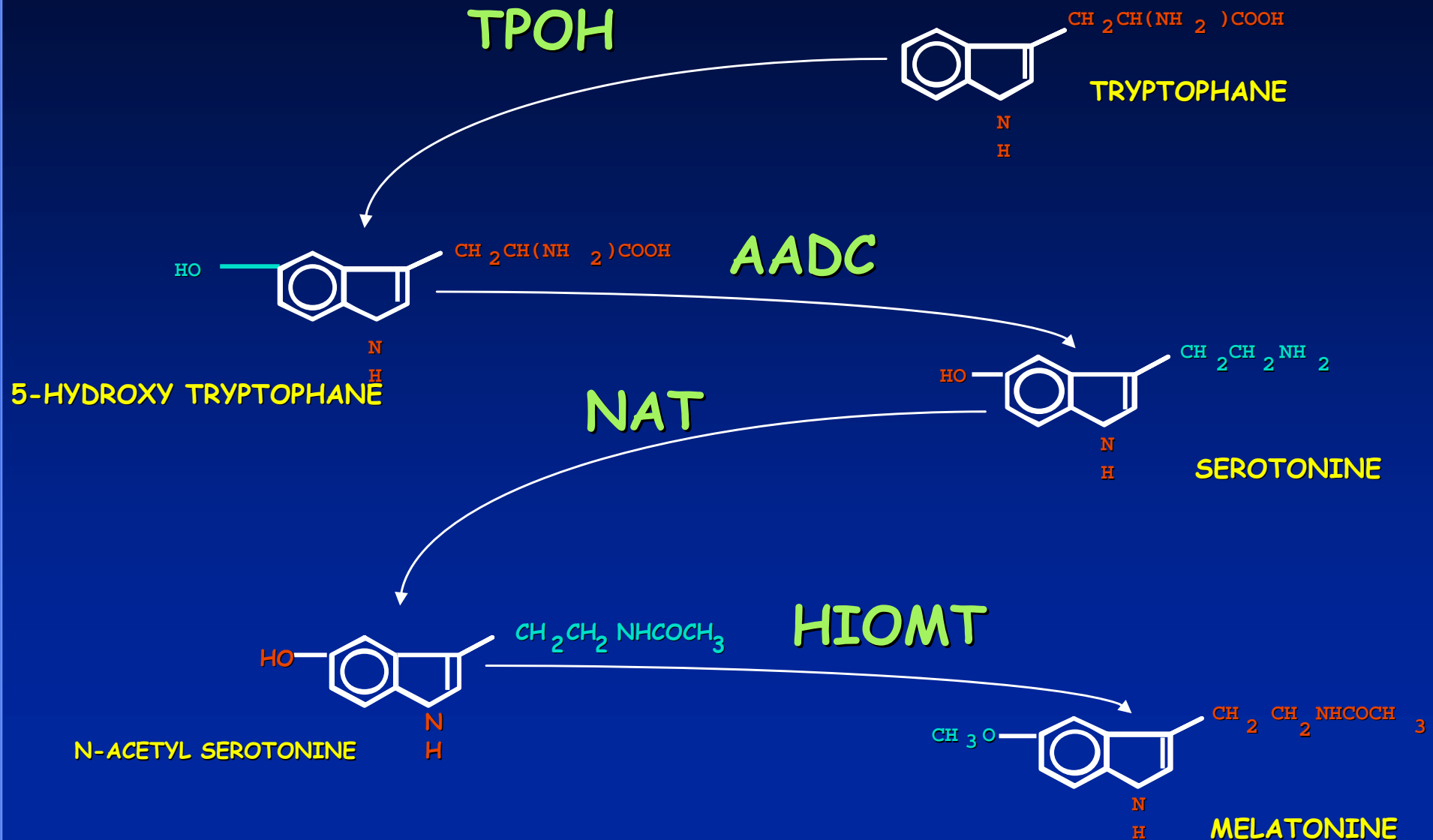
- ✓ Diagnostic histologique difficile
- ✓ Pas de marqueur spécifique
- ✓ Pas de lignées de pinéaloocyte tumoral

- Recherche de nouveaux marqueurs
- Développement d'une lignée de pinéaloocyte tumoral
- Comprendre l'histogenèse des tumeurs des régions périventriculaires

Pinéaloocyte

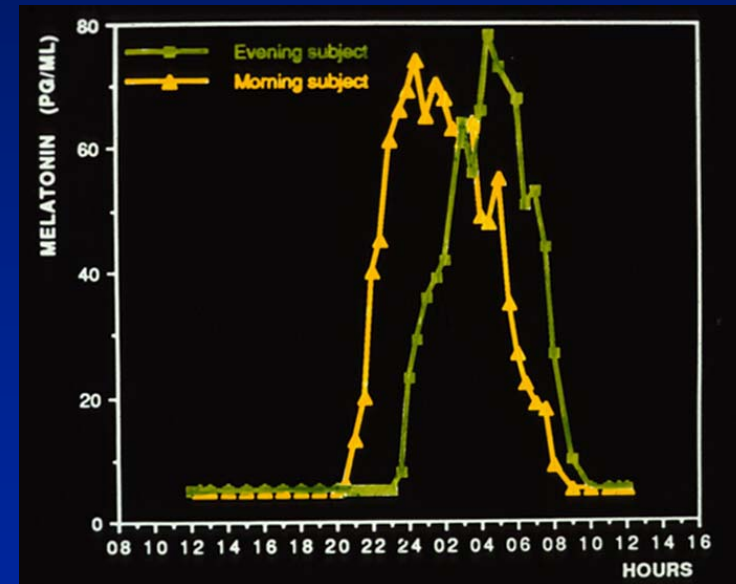
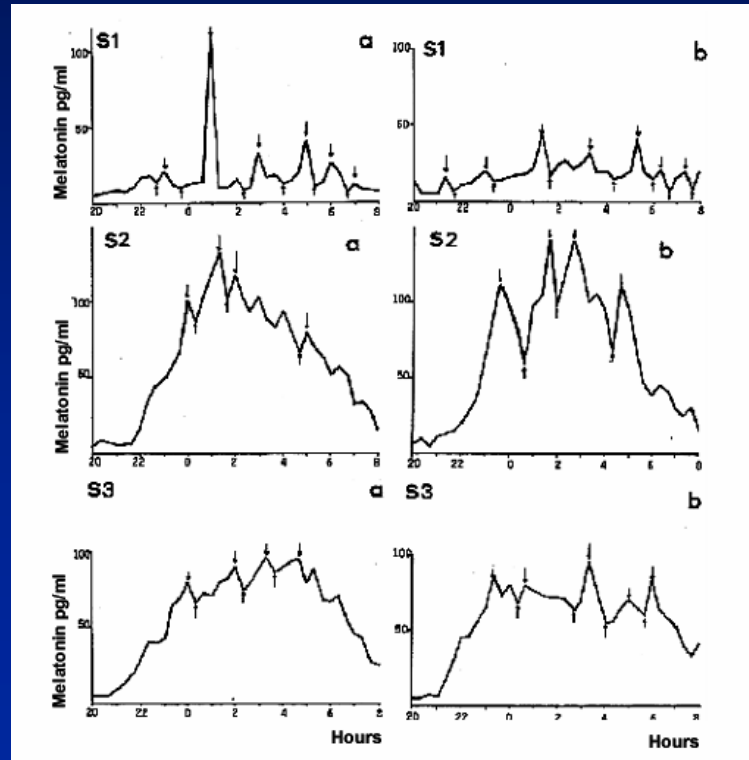


Synthèse de la Mélatonine



Rythme nycthémeral de mélatonine

- rythme de sécrétion nocturne
- indicateur de l'activité de l'horloge circadienne
- durée de sécrétion reflète la durée de la nuit



Rythme de mélatonine chez 3 sujets
à une semaine d'intervalle

Claustrat et al. J. Pineal Res. 1986, 3, 301-310.

Rôle de la mélatonine chez l'homme

Hormone donnant le temps de la journée et de l'année

- Définit la « nuit biologique » (diminution nocturne de la température corporelle)
- Fonctions saisonnières chez l'homme :
(humeur, sommeil, fonctions immunitaires)
- Signal lu par les cellules via des récepteurs

Rôle de la mélatonine chez l'homme

➤ Prise de mélatonine :

Fin d'après-midi induit le sommeil,
diminue la température,
avance le temps de l'horloge circadienne

Matin retarde l'horloge

➤ Effet inverse des pulses de lumière

➤ Synchronisation des sujets aveugles

➤ Amélioration du sommeil (travail posté)

Recherche de marqueurs : Enzymes de synthèse de la mélatonine

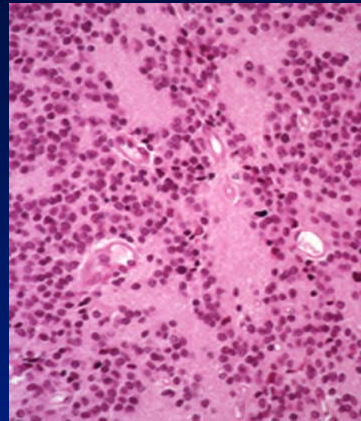
IHC et RT-PCR
sur fragments tumoraux et lignées en culture

Pinéaloctes Tumoraux en culture

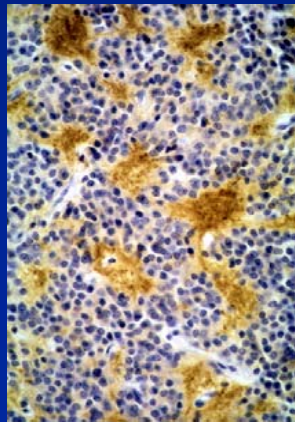
- 2 TPP grade 1
 - 1 TPP grade 2
 - 1 TPP grade 3
 - 1 tumeur papillaire
-
- culture 2D
 - culture en billes d'alginate

Détection de la Tryptophane hydroxylase (TPOH)

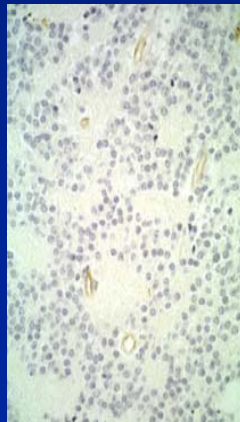
Pinealocytome
Grade 1



HPS



Syn

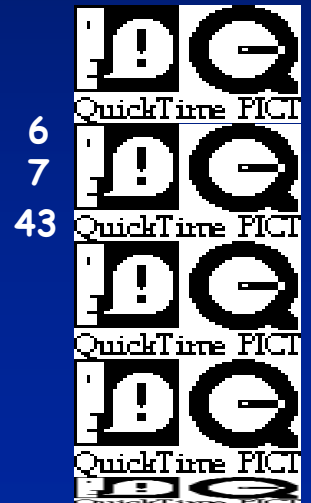


Vim

IHC



TPOH



6
7
43

PC Contrôle

Western-blot

Culture PC (P6)

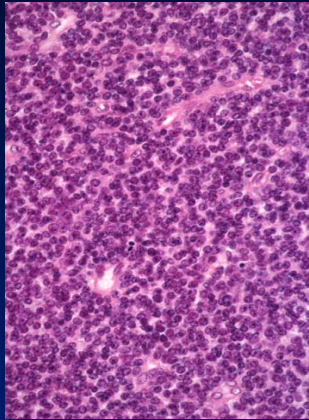


Vim

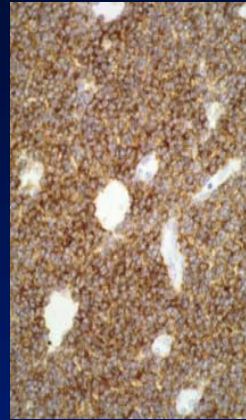
TPOH

Immunofluorescence

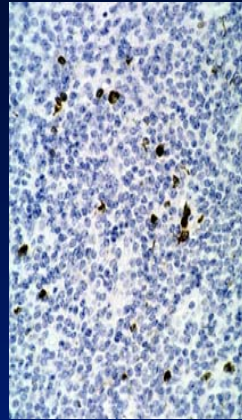
TPPint grade 3



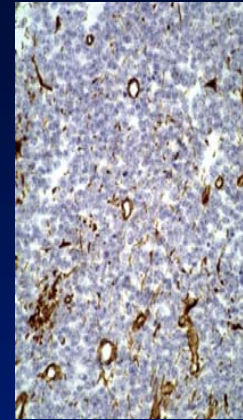
HPS



Syn

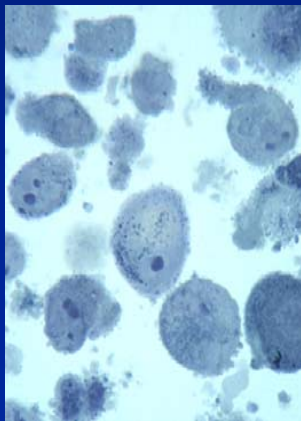


NF



Vim

Culture TPPint P4



Coupe semi fine
(inclusion en resine epoxy)

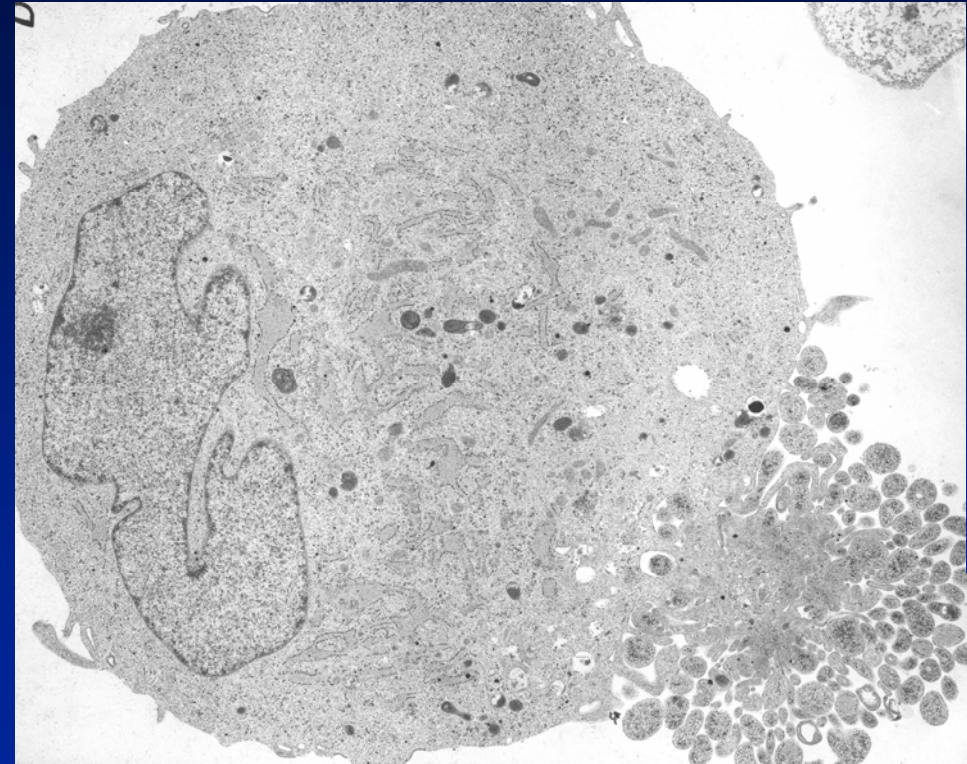
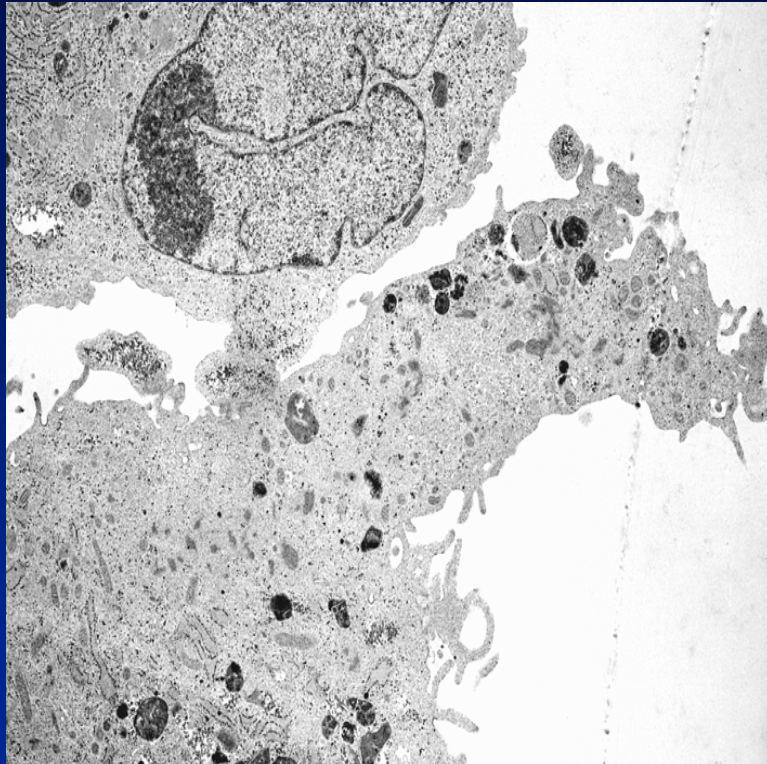
IHC

Vimentine +
TPOH +/-

➤ Expression faible de TPOH

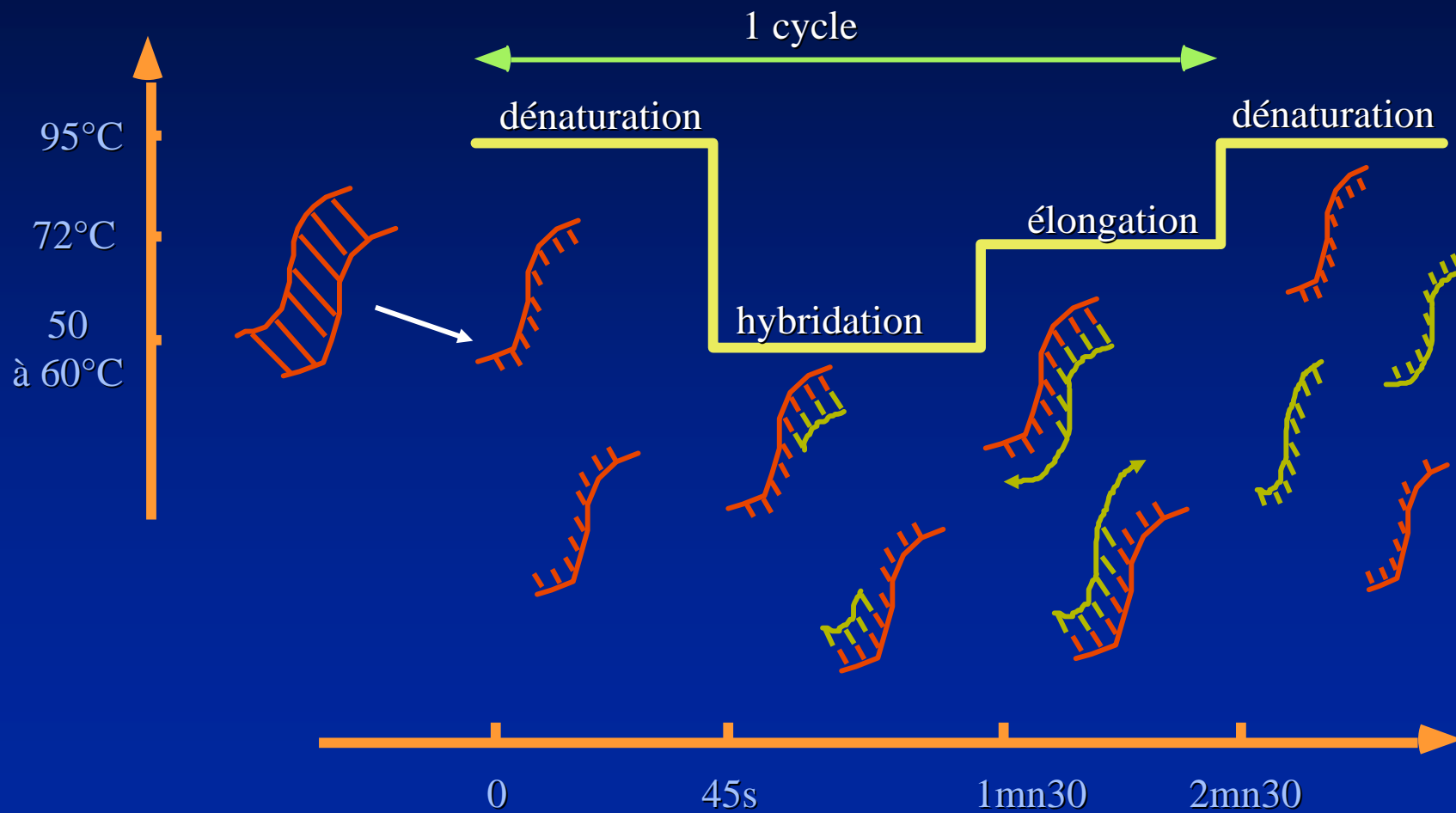
Microscopie Electronique

TPPint grade 3 : culture P4



- Organites de pinéaloctes
- Dépôt de pigments

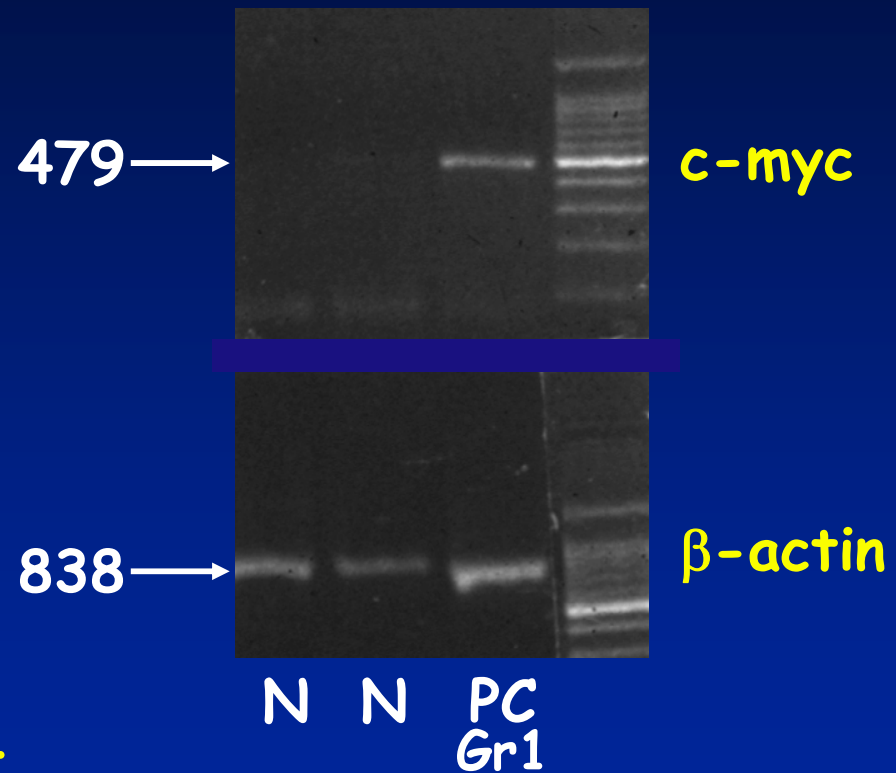
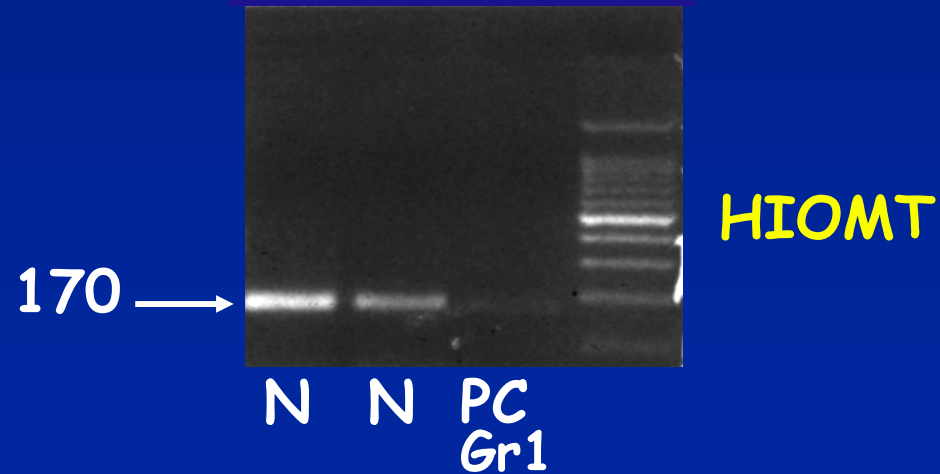
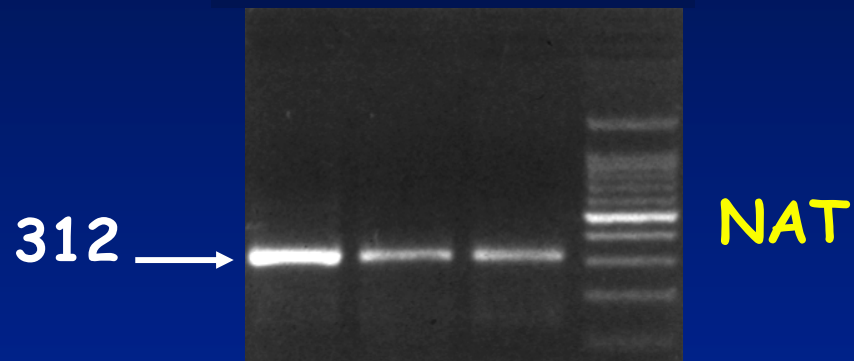
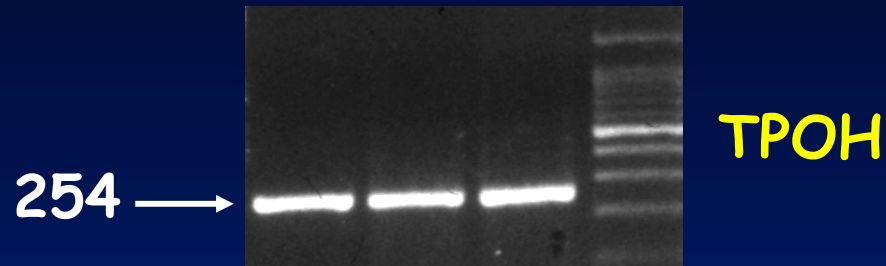
Expression des ARN messagers par RT-PCR



RT-PCR avec des amorces spécifiques

- TPOH, NAT, HIOMT
- β -actin (gène de ménage)
- c-myc

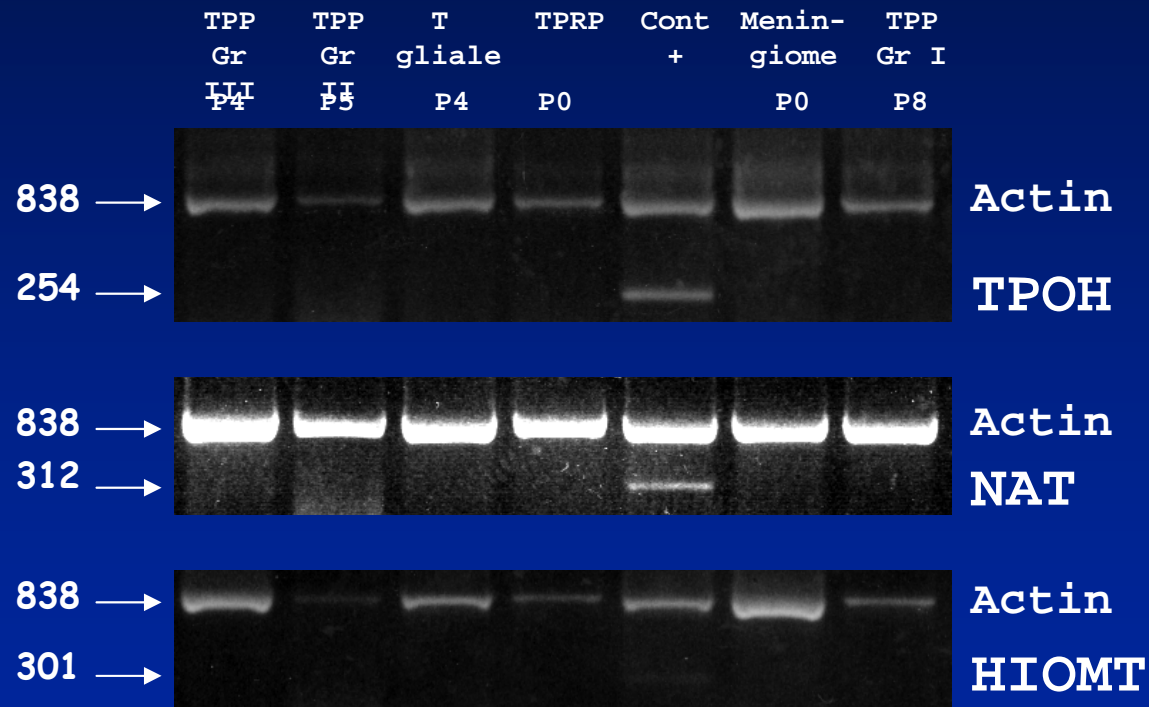
Amplification par RT-PCR des transcrits codant pour les enzymes de synthèse de la mélatonine



Expression des messagers des enzymes de synthèse de la mélatonine

	Pinéale Normale	PC grade1	TPPint grade2	TPPint grade3
TPOH	++	++	++	++
NAT	++	++	++	++
HIOMT	++	+/-	+/-	+/-

Amplification des messagers codant pour les enzymes de synthèse de la mélatonine dans les cultures de TPP



➤ Perte de l'expression des enzymes en culture

Conclusion

- **Pinéaloctes tumoraux**
 - marqueurs spécifiques des pinéaloctes
 - synthèse de mélatonine ?
- **Lignées tumorales**
 - caractéristiques morphologiques similaires aux pinéaloctes
 - perte de leur fonction

Histogenèse des tumeurs périventriculaires

Hypothèses

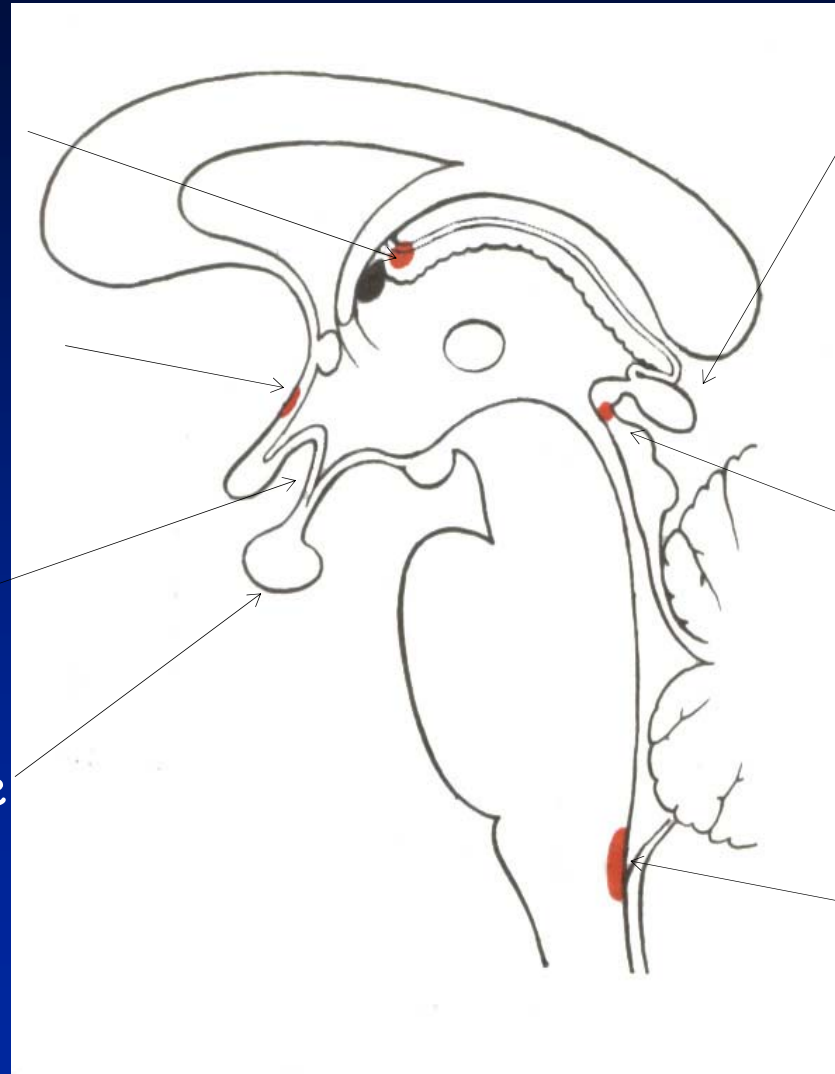
- cellules immatures persistantes à l'âge adulte (médulloblastome)
- cellules présentes au cours du développement normal et qui habituellement dégénèrent après la naissance: gliome chordoïde, tumeur papillaire de la région pinéale
- cellules matures qui se dédifférencient

Les organes circumventriculaires (OCV)

- régions spécialisées de l'épendyme, situées autour du 3ème et 4ème ventricule
- les OCV sont mieux connus chez l'animal
- Ils sont atrophiés chez l'homme où ils restent le plus souvent sous forme de vestiges

Les organes circumventriculaires (OCV)

Organe subfornical
Organe vasculaire de
la lame terminale
(OVLT)
Eminence médiane
Neurohypophyse



Glande pinéale

Organe sous
commissural (OSC)

Area postrema

Recherche de marqueurs par l'étude du transcriptome

- établir une carte moléculaire
- rechercher des marqueurs diagnostiques
- mieux comprendre l'évolution et le pronostic de ces tumeurs

Méthodes d'étude du transcriptome

Synthèse d'ADN complémentaire à partir des ARN totaux des tumeurs



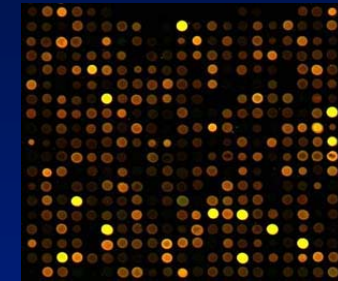
Hybridation sur puces (Codelink 20k)



(J.Lachuer)

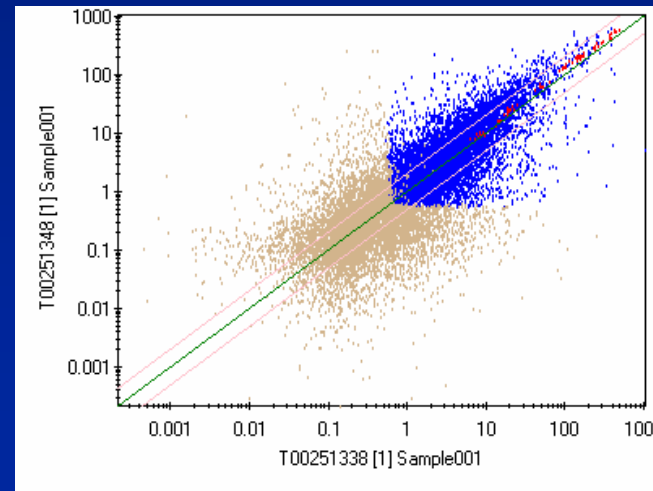


Lecture (scanner)



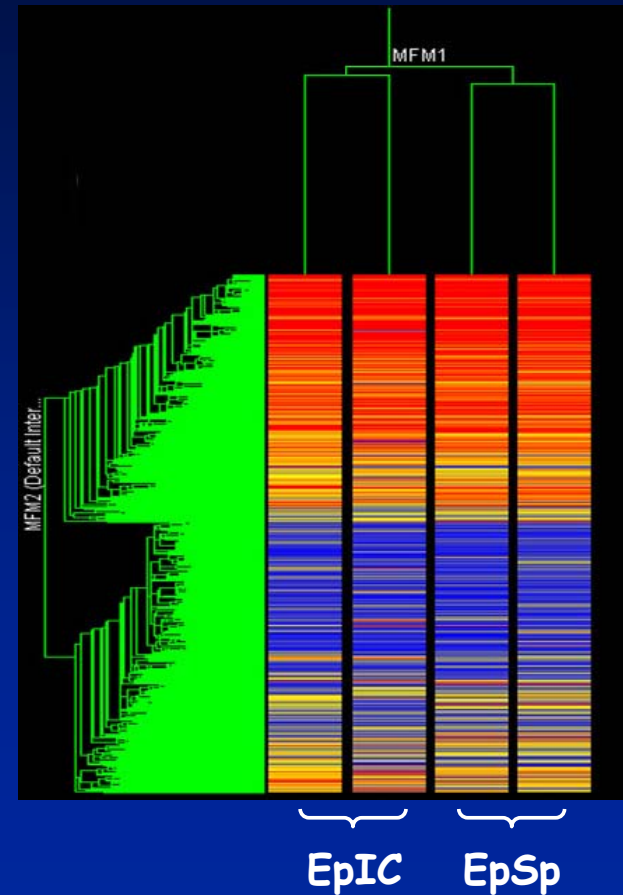
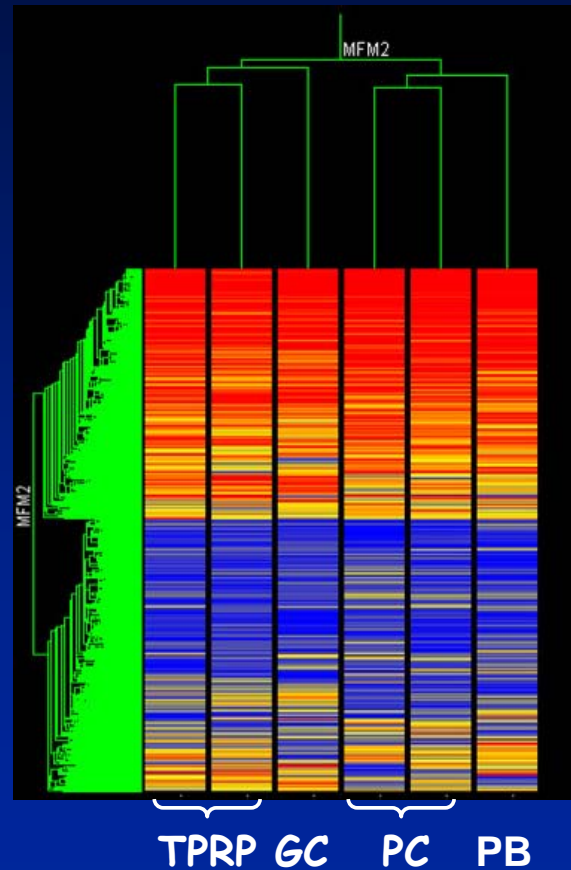
normalisation
scatter plot

- Analyse des résultats
 - Profil d'expression
 - Expression différentielle
- Vérification RT-PCR



Recherche de marqueurs par l'étude du transcriptome

Tumeurs régions périventriculaires



➤ Classification moléculaire des TPP et des TPRP

Classification par fonction

Fonction des gènes		PC	PB	TPRP	EpIc	EpSp
Transporteurs et protéines des jonctions cellulaires	↗	SLC22A8 PRKWINK4 CRUMBS3 TTR	DSG	TTR	SLC22A3 (OCT3)	SLC16A11
	↘	C1QTNF3 FAB7				SLC25A23
Régulation de la transcription	↗	PAX4 SOX4	HOXD13 PITX2 POU4F2 SOX4 TGIF2	SPDEF ZFH4 MSX1 RFX3	MSX1 RFX3 HOXA5	HOXA5 HOXA9 HOXB5 HOXD8 MSX1 MSX2 FOX1 RFX3
	↘	SOX9	SOX9			HOXB7
Régulation du cycle cellulaire et prolifération et Histones	↗	BTG1	BTG1 UBE2C CDC2 CDK2 CDC25 CDKN3 Wee1 Hist1H3D Hist1H4E Hist1H2AC Hist3H2A	CDC2 CDK2 Wee1 UBEC	UBEC CD25 COKN3 BTG1 CDC2 Wee1	Wee1 BTG4
	↘				RPRM	
Suppresseurs de tumeurs	↗	FHIT				
	↘				DBC1	NF2
Nucléopeptides, hormones et facteurs de croissance	↗	TPH CALCA CALCB ASHTL	TPOH PRL	CALCA CALCB	IGF2	CNTF
Matrice extracellulaire	↗				TNC CRTL1	
Signalisation cellulaire	↗	RGS16 CRMP1 CRMP4	RGS16			
	↘	FZD7 SFRP4	APC APC2 FZD7			
Récepteurs	↗	TrKA CHR3	TrKA	TrKA		

Marqueurs phénotypiques ou de malignité

➤ TPP

- TPOH, HIOMT, enzymes de synthèse de la mélatonine
- Mélanopsine
- TrKA

- PRAME
- CD24

marqueurs de malignité

marqueurs phénotypiques

➤ TPRP

- RFX3 (OSC de souris)
- ZFH4 (OSC de rat)
- CGRP (OSC de hamster)
- KRT18

Inserm

● Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Unité U433

Faculté de Médecine Laennec, Lyon, France

Marie-Françoise Belin

Christine Brisson

Jacques Champier

Bruno Claustrat

Carmine Mottolese

Ariel Reboul

Alexandru Zathmari

Plateforme de génomique
fonctionnelle



Joël Lachuer
Anne Wierinckx
Catherine Rey

