

37

CULTURE DE PNEUMOCYTES FOETAUX DANS UN MILIEU CHIMIQUEMENT DEFINI.

Rolland G., Bourbon J., Rieutort M., Fraslon C.

Centre de Biologie Cellulaire - CNRS, 67 rue Maurice Günzburg, 94205 Ivry-sur-Seine Cedex.

La culture de pneumocytes isolés est très utilisée pour étudier la biosynthèse du surfactant, entité essentielle à la stabilité pulmonaire et marqueur de la différenciation épithéliale. L'adjonction de sérum au milieu présente deux types d'inconvénients, 1) présence de facteurs stimulants variables, 2) stimulation de la croissance cellulaire au détriment de la différenciation et prolifération intense des fibroblastes résiduels. Nous avons recherché une formulation définie favorable à une croissance modérée et au maintien d'un état différencié. Quatre milieux de culture ont été comparés sur des pneumocytes de fœtus de rat de 19,5 j (terme 22 j) : le MEM de Eagle (milieu de référence), le MEM à 2 ou 10 % de sérum de veau fœtal (S2, S10), le milieu défini (MD = MEM + 13 additifs, facteurs trophiques, facteurs de différenciation et oligoéléments), et le milieu défini + facteurs de croissance (MDFC = MD + EGF + IGF1).

Dans le MD, la croissance des fibroblastes était limitée et les pneumocytes conservaient leurs caractéristiques morphologiques. Sur 24 h de culture l'incorporation de ¹⁴C - Thymidine dans l'ADN des pneumocytes (dpm/10⁶ cellules, n = 8) était :

| MEM | S2 | S10 | MD | MDFC |
|----------|----------|------------|-----------|------------|
| 643 ± 70 | 961 ± 94 | 1565 ± 225 | 912 ± 167 | 1944 ± 471 |

La synthèse protéique était supérieure en présence de MDFC qu'en présence de MD ou de sérum. L'incorporation de 3H -choline dans la phosphatidylcholine du surfactant était du même ordre en présence de MD (avec ou sans FC) et en présence de S2 ou S10, et très augmentée par rapport au MEM.

En conclusion, le MD permet une croissance et un maintien de l'état fonctionnel des pneumocytes au moins aussi satisfaisant que le sérum dans un environnement entièrement déterminé et dépourvu d'hormones.

38

ÉTUDE DE LA BIOSYNTHESE DES "INSULIN-LIKE GROWTH FACTORS" (IGF) ET DE LEURS PROTEINES DE LIAISON (BP) PAR DES ASTROBLASTES DE RAT EN CULTURE PRIMAIRE EN FONCTION DE LEUR ÉTAT DE MATURATION

Loret C., Labourdette G.*, Binoux M.

INSERM U 142, Hôpital Trousseau, 75012 Paris, France.

*Centre de Neurochimie du CNRS, INSERM U 44, 67084 Strasbourg Cedex, France.

Il est établi que les IGF, en particulier IGF II, sont synthétisés dans le cerveau où les astroblastes représentent la majorité de la population cellulaire.

Nous avons étudié la production des IGF et des BP par les astroblastes de rat en culture primaire, cultivés en milieu défini après une période initiale en présence de sérum. IGF I et IGF II ont été dosés par radiocompétition après séparation chromatographique en milieu acide. Les BP ont été analysées par SDS-PAGE suivi d'un transfert sur nitrocellulose (Western-blot) et d'une révélation par l'IGF radioactif. L'étude des BP d'un sérum de rat adulte dans lequel se trouve les différentes formes moléculaires, d'origine principalement hépatique, montre un triplet de 43-41-39 kDa et 3 formes de 32, 29 et 24 kDa.

En l'absence de facteurs de croissance, les astroblastes sont plats et de forme irrégulière. Les IGF et les BP sont sécrétés dans le milieu de culture, IGF II et IGF I dans un rapport de 2 à 4; la BP 32 kDa est prédominante et pratiquement seule détectable.

Sous l'effet des FGF ("Fibroblast Growth Factor"), les corps cellulaires des astrocytes deviennent petits et sont fortement arborisés, l'incorporation de ³H-uridine augmente (7 fois) ainsi que l'activité de la glutamine synthétase (2 fois), qui est un marqueur de maturation de ces cellules. La production des IGF n'est pas modifiée significativement. Par contre, la synthèse des BP est stimulée avec apparition des formes 39-43 kDa. L'EGF ("Epidermal Growth Factor"), qui possède le même type de récepteurs que les FGF, stimule de la même façon la production des BP 39-43 kDa alors que le PDGF ("Platelet Derived Growth Factor") ou la thrombine n'ont aucun effet.

Cette étude suggère l'existence de relations entre la production des IGF et de leurs BP et la maturation des astroblastes.