

Prix Fondation E. Naef

Die Fondation E. Naef

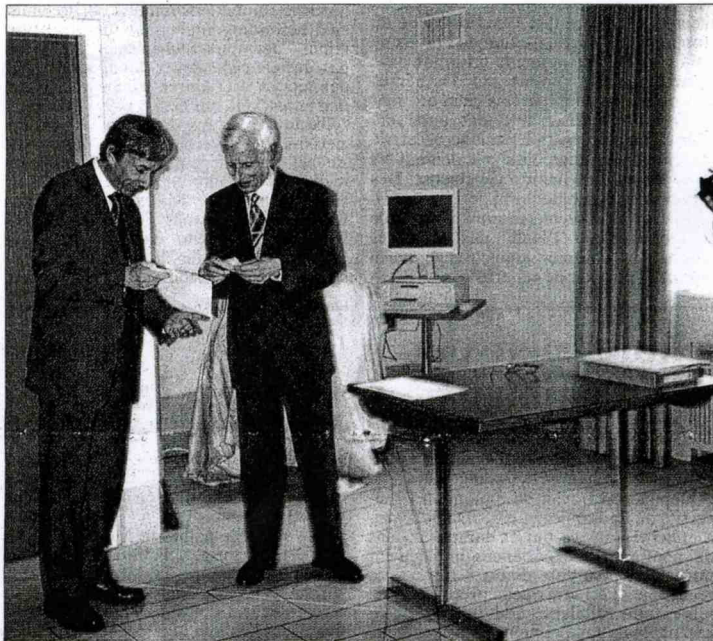
La Fondation E. Naef, créée au début de l'année 1998, s'est donné pour objectif de soutenir et de récompenser les scientifiques développant des méthodes alternatives dans la recherche.

L'attribution annuelle du prix E. Naef pour les méthodes de recherche alternatives vise à réduire significativement le nombre d'animaux de laboratoire.

Le prix 2000 a été décerné au Dr Paul Honegger, de l'Université de Lausanne

Un quart de siècle dévoué au développement de modèles *in vitro* pour la recherche sur le cerveau. Au cours de mon travail de thèse de doctorat effectué dans le laboratoire du professeur G. Semenza (Institut de biochimie, EPF Zurich), j'en vins à prendre deux décisions fondamentales qui influencèrent profondément mon engagement ultérieur dans la recherche scientifique: la première était d'entrer dans un domaine de recherche qui me fascinait, à savoir la recherche sur le cerveau, et la seconde de limiter mes investigations à des approches *in vitro*, afin d'éviter l'utilisation d'animaux vivants pour l'expérimentation. Donc, pour ma formation postdoctorale, j'ai joint le groupe du professeur E. Richelson, à l'École de médecine John Hopkins, qui travaillait en neuropharmacologie sur une lignée de cellules appelées neuroblastomes. Mais les neuroblastomes, comme toutes les cellules transformées, diffèrent de leurs cellules correspondantes normales en de nombreux points et, de ce fait, l'utilisation de cultures de cellules primaires apparut rapidement comme une nécessité absolue en vue de la généralisation de l'utilisation des cultures de cellules dans la recherche sur le cerveau. C'est pourquoi, encouragé par le professeur Richelson, je me tournai vers les cultures de cellules primaires, en particulier vers les cultures de cellules de cerveau en agrégats (aussi appelées sphéroïdes cérébraux). Ce type de culture de cellules en trois dimensions avait été introduit par A. Moscona et avait été utilisé pour la première fois par N. Seeds pour les études neurochimiques. Par la suite, j'ai modifié la technique afin de pouvoir cultiver en parallèle et de manière reproductible un très grand nombre de cultures et, par des analyses biochimiques et morphologiques, j'ai pu montrer que ces cellules étaient capables d'atteindre un haut degré de maturation et d'organisation cellulaire.

De retour en Suisse, à l'Institut de physiologie de l'Université de Lausanne, j'ai fondé mon propre groupe de recherche et nous avons développé un milieu de culture chimiquement défini pour cultiver les cellules de cerveau en agrégats. C'était la première fois que des cellules primaires de cerveau étaient cultivées en l'absence de sérum. Grâce à ce milieu de culture, nous avons pu étudier l'influence d'hormones et de facteurs de croissance sur la croissance et la maturation des cellules du cerveau. En particulier, nous fûmes les premiers à montrer une action directe du facteur de croissance neuronale (*nerve growth factor*) sur la maturation des neurones cholinergiques cérébraux, décou-



verte qui contredisait l'axiome voulant que le NGF ne soit neurotrophique que pour les neurones du système nerveux périphérique. Nous avons aussi montré, pour la première fois, la stimulation de la maturation des oligodendrocytes et de la myélinisation par certaines hormones et certains facteurs de croissance. Ces dernières observations nous conduisent à promouvoir les cultures de cellules en agrégats comme modèle pour la recherche sur les maladies démyélinisantes, comme la sclérose en plaques. Nous avons développé, en collaboration avec le professeur J.-M. Mathieu (département de pédiatrie, CHUV, Lausanne), des moyens d'induire la démyélinisation dans ces cultures, afin d'y étudier la remyélinisation. Ce modèle est maintenant utilisé dans l'industrie pour la recherche et le développement de médicaments pour le traitement de la sclérose en plaques.

Simultanément, nous sommes impliqués dans le développement de modèles *in vitro* pour la recherche en neurotoxicologie depuis 1988, année au cours de laquelle notre groupe participa au programme national de recherche (NFP 17, Fondation 3R) visant à l'étude d'alternatives à l'expérimentation animale. A cette occasion, nous avons pu démontrer l'utilité des approches *in vitro* en général, et en particulier des cultures en agrégats pour les tests de substances potentiellement neurotoxiques, en comparant nos résultats à ceux de deux groupes utilisant des cultures d'embryons entiers. Par la suite, nous avons montré l'utilité des cultures en agrégats pour les études de toxicologie sur le cerveau en développement, ainsi que pour les investigations à long terme, particulièrement pour l'étude

(Suite en page 2)

absolument incontournable. Mit der Unterstützung von Professor Richelson wandte ich mich deshalb den primären Zellkulturen und insbesondere den Kulturen von Hirnzellen in Aggregaten (auch zerebrale Sphäroide genannt) zu. Diese Art dreidimensionale Zellkulturen war von A. Moscona eingeführt und von N. Seeds zum ersten Mal bei neurochemischen Studien eingesetzt worden. In der Folge änderte ich die Technik, um parallel und auf reproduzierbare Art eine grosse Anzahl von Kulturen verwenden zu können. Mit biochemischen und morphologischen Analysen gelang mir der Beweis, dass diese Kulturen einen hohen Entwicklungsgrad und eine äusserst fortgeschrittene Zellorganisation erreichen können.

Wieder in der Schweiz gründete ich am Institut de Physiologie der Universität Lausanne mein eigenes Forschungsteam. Wir entwickelten ein chemisch definiertes Milieu für Kulturen, um die Hirnzellen in Aggregaten zu kultivieren. Zum ersten Mal wurden so primäre Hirnzellen ohne Serum kultiviert. Dank dem Milieu dieser Kulturen konnten wir den Einfluss von Hormonen und Faktoren auf das Wachstum und die Entwicklung von Hirnzellen beobachten. Wir waren die ersten, die eine direkte Wirkung des neuronalen Wachstumsfaktors («nerve growth factor», NGF) auf die Entwicklung von cholinergischen Hirneuronen nachwiesen. Diese Entdeckung widersprach dem Grundsatz, der besagt, dass der NGF nur für die Neuronen des peripheren Nervensystems neurotrop ist. Als erste konnten wir auch die Anregung der Entwicklung von Oligodendrozyten und die Myelinisierung durch gewisse Hormone und Wachstumsfaktoren nachweisen. Aufgrund dieser Beobachtungen förderten wir die Verwendung von Zellkulturen in Aggregaten als Modell für die Erforschung demyelinisierender Krankheiten wie der multiplen Sklerose. In Zusammenarbeit mit Professor J.-M. Mathieu von der Pädiatrieabteilung des CHUV in Lausanne entwickelten wir Mittel, um die Demyelinisierung in diesen Kulturen zu bewirken und so die Remyelinisierung zu erforschen. Dieses Modell wird heutzutage in der Industrie für die Forschung und Entwicklung von Medikamenten zur Behandlung der multiplen Sklerose eingesetzt.

Wir arbeiten auch an der Entwicklung von *In Vitro*-Modellen für die Neurotoxikologie-Forschung. Dies seit 1988; als unser Team am nationalen Forschungsprogramm (NFP / 17 Stiftung 3R) teilnahm. Ziel des Programms war es, Alternativen zu Tierversuchen zu erforschen. Bei dieser Gelegenheit konnten wir beweisen, wie nützlich *In Vitro*-Modelle im Allgemeinen und Kulturen in Aggregaten im Besonderen für Studien mit potentiell neurotoxischen Substanzen sind. Dazu verglichen wir unsere Resultate mit denjenigen von zwei Teams, die ganze Embryokulturen verwendeten. Anschliessend konnten wir die Eignung von Kulturen in Aggregaten für die Toxikologiestudien am sich entwickelnden Hirn sowie für Langzeitforschungen nachweisen, im Besonderen für die Studie der Toxikologie schwacher Dosen von Schwermetallen und in jüngerer

(Fortsetzung auf Seite 2)

Die Fondation E. Naef ist eine Anfang 1998 gegründete Stiftung, die sich zum Ziel gesetzt hat, Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zu fördern und zu belohnen, die in der Erforschung alternativer Methoden neue, praktikable Wege entwickeln.

Die jährliche Ausschreibung des E. Naef-Forschungspreises für Alternativmethoden soll dazu beitragen, die Zahl der Versuchstiere in den Labors signifikant zu senken.

Der Preis 2000 wurde Dr. Paul Honegger von der Universität Lausanne verliehen

Ein Vierteljahrhundert im Dienste der Entwicklung von *In Vitro*-Modellen für die Hirnforschung.

Als ich im Labor von Professor G. Semenza am Institut für Biochemie der ETH Zürich an meiner Dissertation arbeitete, traf ich zwei grundlegende Entscheidungen, die meinen nachfolgenden Einsatz in der Forschung nachhaltig beeinflussten. Erstens betrat ich mit der Hirnforschung ein Forschungsgebiet, das mich faszinierte, und zweitens beschränkte ich meine Untersuchungen auf *In Vitro*-Versuche und verzichtete so bei meinen Experimenten auf die Verwendung lebender Tiere. Im Rahmen meiner Ausbildung nach der Erlangung des Dokortitels trat ich dem Team von Professor E. Richelson an der John Hopkins Schule für Medizin bei, das in der Neuropharmacologie an einem Stamm von Zellen arbeitete, die Neuroblastome genannt werden. Wie alle veränderten Zellen unterscheiden sich diese von den ursprünglichen in zahlreichen Punkten. In der Hirnforschung, bei der üblicherweise mit Zellkulturen gearbeitet wird, erscheint die Verwendung primärer Zellkulturen deshalb schnell