

## La transcriptomique en cellule unique pour étudier des maladies neurodégénératives

**Résumé** Les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer sont un groupe de troubles caractérisés par la dégénérescence progressive des cellules nerveuses (neurones) du système nerveux central (cerveau et moelle épinière) et, dans certains cas, du système nerveux périphérique (nerfs). Cette dégénérescence entraîne une détérioration graduelle des capacités cognitives, motrices et/ou sensorielles. Plusieurs millions de personnes sont affectées dans le monde et il n'existe pas de traitement curatif. Une nouvelle technologie développée depuis une dizaine d'années permet de mesurer l'expression des gènes à l'échelle d'une seule cellule. Cet article décrit les principes et les apports de la transcriptomique en cellule unique appliquée au domaine des maladies neurodégénératives au travers de quelques exemples récents.

**Mots-clés** Maladies neurodégénératives, Alzheimer, Parkinson, Huntington, transcriptomique en cellule unique, biomarqueurs, types cellulaires, neurones, cellules gliales.

**Abstract** Single-cell transcriptomics to study neurodegenerative diseases

Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's are a group of disorders characterised by the progressive degeneration of nerve cells (neurons) in the central nervous system (brain and spinal cord) and, in some cases, in the peripheral nervous system (nerves). This degeneration leads to a gradual decline in cognitive, motor and/or sensory abilities. Several million people worldwide are affected and there is no cure. A new technology developed over the last decade makes it possible to measure gene expression at the level of a single cell. This article describes the principles and advantages of single-cell transcriptomics as applied to neurodegenerative diseases, with some recent examples.

**Keywords** Neurodegenerative diseases, Alzheimer, Parkinson, Huntington, single-cell transcriptomics, biomarkers, cellular types, neurons, glial cells.

Les maladies neurodégénératives sont caractérisées par une dégénération progressive mais chronique des cellules dans le système nerveux central ou périphérique, conduisant à une perte massive de neurones. Dans la plupart des cas, il n'existe pas de traitement efficace pour ces maladies à l'heure actuelle et pas ou très peu de biomarqueurs efficaces pour leur détection précoce. La maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson sont les principales maladies neurodégénératives en termes de nombres de personnes affectées au niveau mondial, principalement pour les personnes âgées de 75 ans ou plus [1]. De très nombreuses études d'association génomique (« genome wide association studies », GWAS) ont clairement montré l'existence de nombreux variants génétiques qui sont statistiquement associés à ces maladies. D'autre part, de très nombreuses études de recherche ont tenté de préciser quels étaient les mécanismes fondamentaux mis en jeu dans ces maladies aux niveaux cellulaire et moléculaire, ce qui a contribué à transformer notre compréhension des maladies neurodégénératives. Cependant, il reste encore beaucoup de choses à préciser sur le rôle et les mécanismes moléculaires précisément impliqués dans les différents types cellulaires concernés dans ce type de maladies.

### La révolution du séquençage en cellule unique

La transcriptomique est une technique de laboratoire courante qui permet de détecter et de quantifier globalement les molécules d'ARN messager correspondant aux gènes exprimés dans un échantillon. Cette technique est basée sur le séquençage de millions de fragments très courts d'ARN (de l'ordre de 100 à 150 paires de bases) dans des machines à très haut débit. Il est alors possible de compter puis de

comparer les niveaux d'expression de tous les gènes dans différents tissus sains ou pathologiques [2]. Malheureusement, cette technique réclame une grande quantité d'ARN au départ, correspondant à des centaines de milliers de cellules différentes. De ce fait, on va donc mesurer l'expression moyenne des gènes sur des populations ou types cellulaires très différents. Par exemple, une biopsie de tumeur humaine va contenir des cellules tumorales, mais aussi des cellules saines, des cellules sanguines, des cellules correspondant aux vaisseaux sanguins, etc. Or il est bien établi que différents types cellulaires ont la plupart du temps des profils transcriptomiques très différents, qui reflètent des fonctions cellulaires différentes. Et donc la transcriptomique mesurée de façon globale dans un mélange de types cellulaires conduit fatalement à rater ou sous-estimer des données essentielles sur la variabilité d'expression de certains gènes qui peuvent jouer un rôle fondamental dans un état pathologique.

Tang et collaborateurs ont introduit une approche de séquençage haut débit de l'ARN en cellules uniques pour la première fois en 2009 pour étudier l'ensemble des cellules d'un blastomère de souris [3]. À partir de cette preuve de concept, de nombreuses techniques de séquençage ARN en cellule unique ont été développées au cours des années suivantes. Le principe de base est de marquer les molécules d'ARN présentes dans une cellule avec un code-barres moléculaire (courte séquence d'une dizaine de nucléotides ajoutée au fragment d'ARN) afin de pouvoir identifier par la suite l'origine cellulaire de chaque fragment séquencé, après la lyse des cellules et le séquençage de tous les fragments. Après alignement sur un génome de référence, il sera alors possible d'établir des tables de comptage des fragments séquencés par gène et par cellule et de faire des analyses avancées (figure 1).

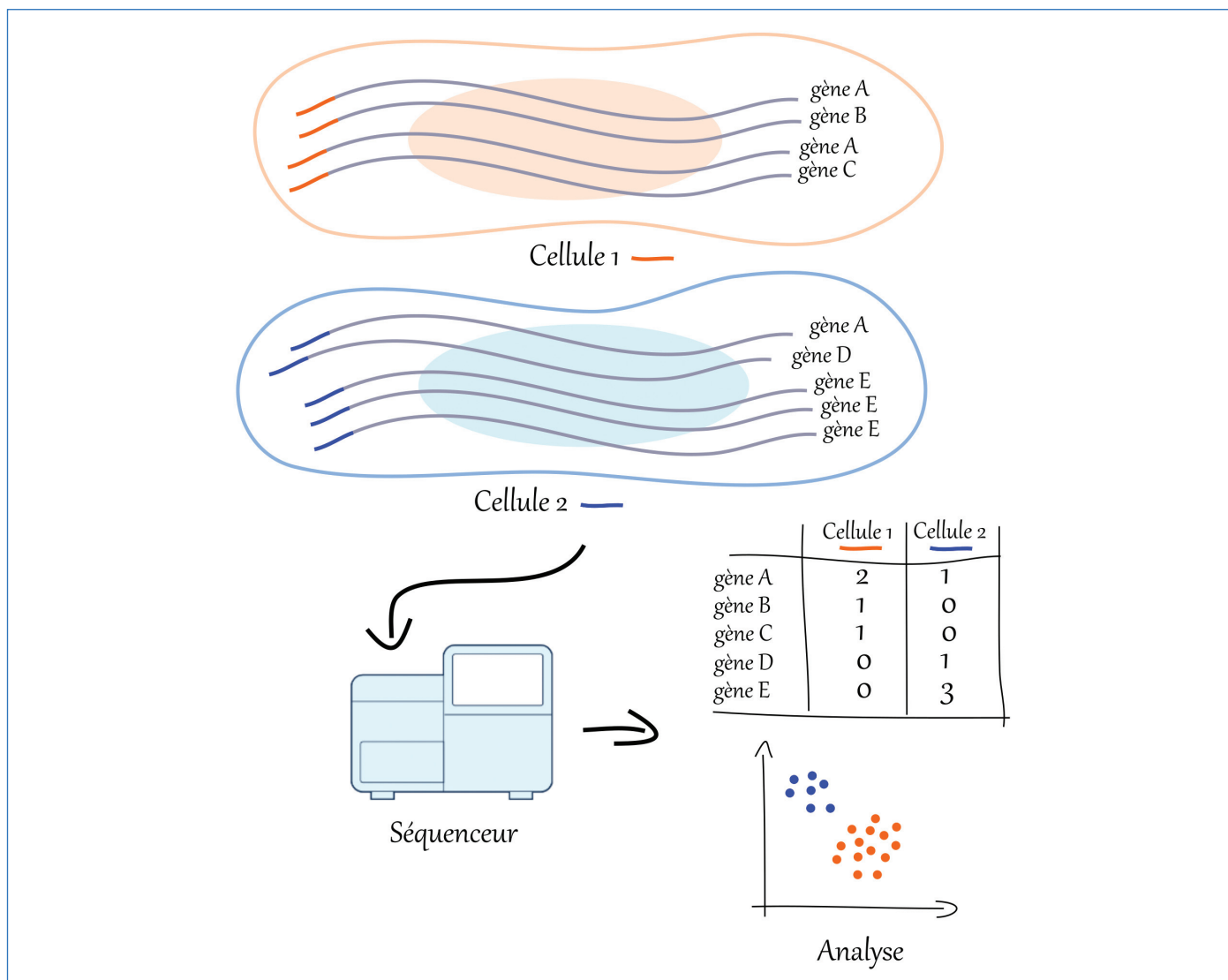


Figure 1 - Principe de base du transcriptome en cellule unique. Chaque molécule d'ARN messenger est marquée par un code-barres moléculaire unique à la cellule (courte séquence nucléotidique unique). Après lyse des cellules, toutes les molécules d'ARN messenger sont isolées et l'ensemble ARN messenger + code-barres est séquençé. On peut ensuite identifier les gènes et compter le nombre de molécules par gène et par cellule grâce au code-barres (table de comptage), ce qui permet ensuite de faire des analyses plus poussées et d'identifier les différents types cellulaires présents dans les échantillons.

La technologie de séquençage en cellule unique a été adoptée très rapidement par la plupart des laboratoires de biologie moléculaire dans le monde qui ont très vite identifié son potentiel à faire avancer les connaissances en biologie fondamentale et dans les situations pathologiques [4].

### Plateformes et protocoles de séquençage en cellule unique

Suite à l'étude pilote de Tang et coll. [3], de nombreux protocoles et plateformes ont été développés pour le séquençage ARN en cellule unique. On peut distinguer quatre étapes principales pour la préparation des bibliothèques avant le séquençage proprement dit : isolation des cellules ou des noyaux cellulaires, transcription inverse, élongation des molécules de cDNA, et enfin séquençage. Selon la technologie de base qui sert à isoler les cellules avant de marquer les molécules d'ARN avec un code-barres unique, on peut classer les protocoles en deux grandes catégories (figure 2). La première et la plus populaire à l'heure actuelle utilise des systèmes de microfluidique pour isoler les cellules dans des gouttelettes lipidiques qui contiennent tous les réactifs nécessaires pour le marquage moléculaire et la création des cDNA (e.g. Drop-Seq, inDrop,

Seq-Well, 10X Genomics Chromium) (voir figure 2A). La deuxième utilise des systèmes de plaques pour isoler les cellules dans un puits unique où vont avoir lieu toutes les réactions pour créer les cDNA (e.g. MARS-Seq, Smart-Seq, Smart-Seq2, STRT-Seq, Parse Biosciences, Scale Biosciences) (figure 2B). Les avantages et inconvénients de ces méthodes ont été analysés dans plusieurs travaux de comparaison (voir par exemple [5]).

Un des défis les plus importants pour comprendre la pathogenèse des maladies neurodégénératives et le vieillissement normal du cerveau est de déterminer les principaux mécanismes qui peuvent être déclencheurs ou protecteurs de la neurodégénérescence. Les techniques d'analyse du transcriptome en cellule unique sont ainsi de plus en plus utilisées pour identifier, caractériser et classer les différents types cellulaires ainsi que leurs différents états (ou sous-types) dans les tissus cérébraux sains ou pathologiques.

Nous allons décrire ici de façon non exhaustive un certain nombre de travaux récents qui impliquent la transcriptomique en cellule unique sur trois types de maladies neurodégénératives : la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la maladie de Huntington.

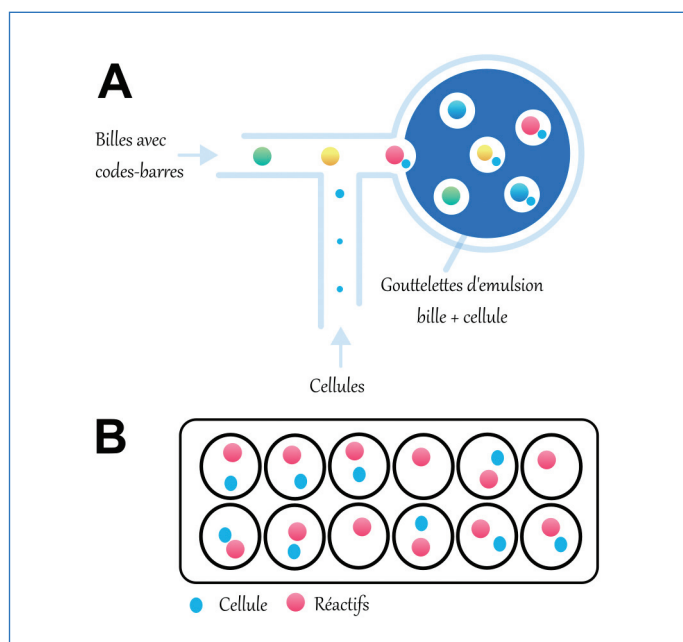


Figure 2 - Les deux grandes familles de technologies qui permettent d'ajouter un code-barres unique pour chaque cellule. A : un dispositif de microfluidique encapsule chaque cellule avec une bille recouverte de codes-barres uniques et de réactifs dans les microgouttelettes lipidiques. Après la réaction chimique, chaque molécule d'ARN messager sera marquée par un code-barres unique à la cellule, permettant de lyser, de mélanger toutes les molécules et de les séquencer en masse. B : chaque cellule est isolée avec les réactifs (dont le code-barres unique) dans un seul puits d'une plaque multipuits. Après la réaction chimique, les molécules peuvent être mélangées et séquencées en masse.

## Préciser le rôle des cellules gliales dans la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est la cause principale de démence dans le monde, avec un nombre de cas estimé à plus de 48 millions en 2015. En France, le nombre de patients atteints est de l'ordre d'un million actuellement, et ce nombre pourrait passer à plus de 2,4 millions en 2040 d'après certaines projections. La MA cause une dégénérescence neuronale importante qui entraîne une perte progressive et irréversible de fonctions cognitives importantes et notamment de la mémoire, mais elle induit aussi des changements comportementaux et neuropsychiatriques. Compte tenu de la nécessaire prise en charge des patients et de l'impact sur leur entourage, c'est l'une des maladies les plus coûteuses pour la société dans les pays développés. Elle a été décrite pour la première fois par Alois Alzheimer il y a plus d'un siècle en 1907 [6]. Elle apparaît le plus souvent chez les personnes ayant plus de 65 ans. Certaines formes dites familiales sont héréditaires mais elles représentent moins de 5 % des cas, la plupart étant sporadiques.

Malgré des progrès spectaculaires dans la compréhension des aspects cellulaires et moléculaires de la maladie au cours de ces vingt-cinq dernières années [7], elle reste à l'heure actuelle incurable et sans aucun traitement qui permettrait de ralentir efficacement son évolution. Au niveau moléculaire, la MA est caractérisée par des plaques amyloïdes extracellulaires (peptide A $\beta$ ) et des agrégats de protéines tau formant des neurofibrilles intracellulaires. Les plaques amyloïdes correspondent à l'accumulation du peptide A $\beta$  résultant du clivage anormal de la glycoprotéine membranaire APP (« amyloïd protein precursor ») et entraînent un dysfonctionnement des neurones environnants, puis une mort neuronale par apoptose ou nécrose. Les premières régions cérébrales

touchées sont l'hippocampe, le cortex entorhinal et le lobe temporal médian, puis plus tardivement le cortex frontal, siège des fonctions cognitives complexes. Les régions corticales sensorielles et motrices ne sont en général pas affectées. De nombreuses études transcriptomiques classiques (globales, ou « bulk », qui ne peuvent distinguer les types cellulaires) ont été menées dans les deux dernières décades afin de mieux comprendre les gènes et voies de signalisation impliqués dans la maladie (voir par exemple [8]). De nombreux types cellulaires sont affectés comme les cellules gliales, les neurones, les cellules vasculaires. Il est donc difficile pour ces études de transcriptomiques globales de pouvoir distinguer précisément les changements significatifs en fonction des types et sous-types cellulaires. Un certain nombre d'études ont appliqué la transcriptomique en cellule unique pour contourner cette difficulté. Ainsi Mathys et collaborateurs ont utilisé une approche de séquençage de noyaux uniques (snRNA-seq, plus adaptée aux échantillons de cerveaux congelés) pour analyser le cortex préfrontal de patients avec des degrés divers de MA [9]. Quarante-huit individus ont été analysés, avec plus de 80 000 noyaux séquencés. Les résultats montrent que les principaux types cellulaires de cette région cérébrale sont tous affectés par la pathologie au niveau transcriptionnel : les neurones bien sûr (excitateurs et inhibiteurs), mais aussi l'ensemble des cellules gliales (astrocytes, microglie, oligodendrocytes et précurseurs des oligodendrocytes). Il est aussi assez clair que différents groupes de gènes répondent à la pathologie pour chaque type cellulaire, avec des différences entre les stades précoces et tardifs de la pathologie. Les études d'associations à large échelle (GWAS) ont révélé des dizaines de facteurs de risques génétiques associés à la MA (e.g. les gènes *APOE*, *TREM2*, *MEF2C*, *PICALM*) [10]. Mathys et coll. ont trouvé des enrichissements significatifs pour des facteurs de risques génétiques dans certains types cellulaires, notamment des groupes de neurones mais aussi la microglie. Ce lien entre les cellules gliales (astrocytes, microglie) et la MA est très étudié depuis quelques années car ces cellules semblent jouer un rôle majeur dans la progression de la maladie, même si les mécanismes moléculaires précis ne sont pas encore bien élucidés [11]. Les cellules gliales pourraient ainsi être la source de nouvelles cibles thérapeutiques ou de nouveaux biomarqueurs.

Un certain nombre d'études portent aussi sur des modèles animaux de la MA. Ainsi Keren-Shaul et coll. ont pu identifier grâce à une étude de transcriptomique en cellule unique une sous-population de cellules microgliales qui semblent avoir un effet protecteur chez un modèle murin de la MA [12]. Ce groupe de cellules, dénommé DAM (« disease associated microglia ») par les auteurs, exprime les gènes marqueurs de la microglie *Iba1*, *Cst3* et *Hexb*, mais présente aussi une sous-expression des gènes de l'homéostasie tels que *CD33*, *Tmem119* et *Cx3cr1*. Il est intéressant de noter aussi qu'un enrichissement en facteurs de risques génétiques pour la MA a été retrouvé dans les DAM, avec des gènes bien connus tels que *ApoE*, *Ctsd*, *Lpl*, *TyrobP* et *Trem2*. Les auteurs ont aussi constaté une surexpression de gènes dans les DAM impliqués dans les voies métaboliques de la phagocytose, des lysosomes et le métabolisme des lipides, dont les gènes correspondant aux facteurs de risques identifiés pour la MA comme *ApoE*, *Ctsd*, *Lpl*, *TyrobP* et *Trem2*.

Grubman et coll. ont effectué du séquençage en noyaux uniques pour un total de 13 214 noyaux issus de cortex entorhinal de patients Alzheimer et contrôles. Dans cette

étude, les auteurs retrouvent la plupart des gènes différentiellement exprimés entre patients MA et contrôles trouvés par Mathys et coll. dans leur étude (avec plus de 90 % de gènes en commun). Ils ont aussi constaté un enrichissement de gènes impliqués dans la pathologie dans différents types cellulaires, tels que les neurones, les cellules endothéliales, les astrocytes et la microglie. Ici aussi l'analyse de l'expression de 1 000 gènes catégorisés comme facteurs de risques potentiels (d'après les études GWAS) montre des enrichissements sur certains types cellulaires. Par exemple, le gène bien connu APOE est sous-exprimé dans une sous-population de cellules précurseurs des oligodendrocytes, dans les oligodendrocytes, et certaines sous-populations d'astrocytes et de microglie. Il est intéressant de noter que tous ces types cellulaires font partie des cellules gliales, renforçant l'idée d'un lien entre cellules gliales et la pathologie de la MA.

Leng et coll. ont effectué des analyses de transcriptomique en noyaux uniques sur des cerveaux de patients atteints de MA sur deux régions cérébrales différentes [13]. Au total, les auteurs ont séquencé plus de 100 000 noyaux des régions du cortex entorhinal (CE) et du gyrus frontal supérieur (GFS). Le CE est l'une des premières régions cérébrales qui montre des signes de pertes neuronales dans la MA, tandis que le GFS est affecté plus tardivement. En comparant ces deux régions, les auteurs ont pu montrer l'existence de sous-populations de neurones excitateurs particulièrement sensibles à la pathologie de la MA (avec de nombreux gènes sous-exprimés). Ils ont aussi montré l'existence de trois sous-populations d'astrocytes qui avaient des niveaux d'expression très élevés de GFAP, un marqueur bien connu de l'état réactif de ces cellules associé à la MA.

En conclusion, on peut voir que les approches en cellules ou noyaux uniques ont permis de mieux définir et comprendre les changements transcriptionnels associés à la maladie d'Alzheimer selon les différents types cellulaires impactés par la pathologie, avec un rôle particulièrement important des cellules gliales.

## Neurones et cellules gliales dans la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson (MP) est la deuxième maladie neuro-dégénérative la plus commune dans le monde. Elle affecte 2 à 3 % de la population âgée de 65 ans et plus, et elle est irréversible et d'évolution lente [14]. Plus de 160 000 patients souffrent de la MP en France. Elle se caractérise par une perte des neurones dopaminergiques dans la zone de la substance noire cérébrale (petite région située à la base du cerveau) associée à une agrégation intracellulaire de la protéine  $\alpha$ -synucléine. Les patients ont typiquement des difficultés à initier les mouvements (akinésie), une rigidité plastique et des tremblements au repos. Elle peut évoluer vers une situation de démence dans les stades avancés de la maladie. Il n'existe aucun traitement curatif, mais plusieurs approches symptomatologiques existent (médicaments et stimulations intra-cérébrales). Les causes peuvent être une combinaison de facteurs de risques génétiques et environnementaux. Environ 15 % des cas sont d'origine génétique, avec notamment une mutation bien décrite du gène *LRRK-2* (« leucine rich repeat kinase 2 ») qui explique à elle seule une bonne partie des cas familiaux, même si d'autres gènes ont aussi été identifiés (e.g. *PINK1*, *PRKN*, *SNCA*).

Fernandes et coll. ont effectué une analyse transcriptomique en cellules uniques sur des neurones dopaminergiques dérivés de cellules souches pluripotentes induites (iPSC) afin d'étudier la dynamique de l'expression des gènes en réponse à des facteurs de stress génétiques et cytotoxiques. Huit clusters de cellules ont pu être identifiés, dont deux populations de progéniteurs de neurones et quatre populations de neurones dopaminergiques. De plus, les auteurs montrent des différences au niveau transcriptionnel et des sensibilités différentes au stress selon les différentes sous-populations dopaminergiques, illustrant l'existence d'une hétérogénéité dans les modèles *in vitro*. Les auteurs ont aussi étudié l'impact d'une mutation *SNCA*-A53T hétérozygote, générée en utilisant la technologie CRISPR-Cas9. Les mutants montraient alors une activation du stress et de la mort cellulaire dans une sous-population de neurones dopaminergiques.

Huarte et coll. ont combiné immunofluorescence et transcriptomique en cellules uniques pour étudier la région de la substance noire chez la souris [15]. Une population de cellules de microglie (cellules gliales) a montré une signature transcriptionnelle associée à une réponse immunologique liée à l'inflammation. De plus, l'examen histologique a montré une réduction de la complexité des cellules microgliales comparée au striatum, une autre région cérébrale. Ces observations suggèrent l'implication de la microglie avec un phénotype particulier pour cette maladie.

En complément des analyses sur des modèles cellulaires ou animaux, Smajic et coll. ont analysé des tissus post-mortem de patients atteints de la MP [16]. Ils ont utilisé une approche de transcriptomique en noyaux uniques afin d'étudier tous les types cellulaires des échantillons. Ils ont ainsi analysé plus de 41 000 noyaux provenant de six patients et les ont comparés à cinq échantillons contrôles. Ils ont pu caractériser un cluster de cellules ayant une surexpression du gène *CADPS2*, et aussi des niveaux bas de TH, ce cluster étant présent uniquement chez les patients MP et représentant des neurones dopaminergiques dysfonctionnels. Les cellules de microglie de la substance noire présentaient un aspect amiboïde, caractéristique d'un état réactif des cellules. La population d'oligodendrocytes était aussi réduite chez les patients, avec une surexpression du gène *S100B*, caractéristique d'un état de stress. Une analyse de l'enrichissement en gènes provenant d'études GWAS pour la MP a été trouvée pour les neurones et les cellules gliales. Les astrocytes et la microglie avaient une dérégulation et une prolifération cellulaire typique de la maladie et reliées à la voie de signalisation des cytokines, avec aussi une surexpression de *CD44* pour les astrocytes et une élévation de l'expression des gènes *IL1B*, *GPNMB* et *HSP90AA1* pour la microglie. Beaucoup d'autres travaux sont à venir pour préciser les voies moléculaires impliquée dans la MP, mais on peut cependant voir que les approches en cellule unique ont permis de préciser les mécanismes spécifiques par type cellulaire aussi bien pour les neurones que pour les cellules gliales.

## Maladie de Huntington

La maladie de Huntington (MH) est une maladie héréditaire autosomique dominante et rare qui se traduit par une neuro-dégénérescence conduisant à d'importants troubles moteurs, cognitifs et psychiatriques, avec une évolution vers la perte d'autonomie et la mort. La MH se développe chez des personnes âgées de 40 à 50 ans. La prévalence est de cinq à sept malades pour 100 000 pour la population caucasienne.



Le gène responsable de la maladie a été isolé au début des années 1990, au terme d'une fascinante épopée scientifique [17]. La MH est causée par une expansion du trinucéotide CAG dans le gène codant pour la huntingtine (HTT). Le principal site cérébral touché est le ganglion basal, avec les neurones de projection principalement affectés dans le striatum et le globus pallidus. Des pertes cellulaires ont aussi été détectées dans le cortex cérébral, l'amygdale, le thalamus et l'hypothalamus, la substance noire et le cervelet. Des analyses en transcriptomique classique (bulk) ont révélé des dérégulations de l'expression pour le système immunitaire, l'épissage des transcrits et la neuroinflammation. Par exemple, Diaz-Castro et coll. ont analysé les signatures transcriptionnelles des astrocytes sur deux modèles murins de la HD, à différents stades de développement pathologique [18]. Ils ont pu mettre en évidence des différences liées à la fois au stade et au modèle murin de la maladie, et aussi une signature de 62 gènes conservée entre les modèles murins et l'homme. Il est intéressant de noter qu'une répression de la huntingtine (en utilisant un répresseur dit à doigt de zinc) chez le modèle murin entraîne aussi une inversion de l'expression pour 61 des 62 gènes de la signature transcriptionnelle. De plus, les auteurs ont mis en évidence que les gènes astrocytaires *Adora2a*, *Mapt*, *Hdac-4* et *App* pourraient être des biomarqueurs ou des cibles thérapeutiques potentielles. D'une manière générale, cet article montre que les astrocytes perdent progressivement un certain nombre de fonctions critique lors du développement de la MD, et que cette perte peut être atténuée en ciblant la huntingtine mutante (mHTT). Ce résultat est important et pourrait déboucher sur une approche thérapeutique ciblée.

Afin de préciser encore mieux les types cellulaires impactés par le développement de la MH, Al-Dalahmah et coll. ont récemment effectué une analyse de transcriptomique en noyaux uniques sur des échantillons de cortex de patients décédés de la maladie, avec une comparaison avec des cortex de patients décédés mais non atteints de cette pathologie [19]. Les auteurs ont analysé deux échantillons de patients MH de grade III avec deux échantillons contrôles, tous issus de la région corticale du gyrus cingulaire. Un total de 4 786 noyaux a été obtenu après contrôle qualité, représentant la plupart des types cellulaires de cette région (neurones, astrocytes, oligodendrocytes, cellules précurseurs des oligodendrocytes, microglie et cellules endothéliales). Tous les types cellulaires montrent un enrichissement en groupe de gènes spécifiques, mais les auteurs se sont focalisés plus spécifiquement sur les astrocytes, qui sont connus pour être dans un état réactif dans la MH, en réponse au développement de la pathologie. Plusieurs clusters ont été ainsi détectés au sein des astrocytes (six au total), avec des gènes significativement sur ou sous-exprimés pour chaque cluster, correspondant à différentes fonctions cellulaires telles que la synthèse lipidique ou encore les fonctions protoplasmiques. Ces résultats montrent une hétérogénéité au niveau astrocytaire clairement liée à la MH et il serait très intéressant de les compléter par des études de transcriptomique en noyau ou cellules uniques sur des modèles animaux ou échantillons humains plus importants en nombre afin de confirmer et préciser les conclusions.

## Une technologie porteuse d'espoir

La transcriptomique en cellule ou noyaux uniques est une technologie récente qui peut être utilisée pour mieux

comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans les maladies neurodégénératives. Son principal avantage est de permettre de définir et d'analyser les types/états cellulaires de manière non biaisée. Elle est particulièrement adaptée aux maladies neurodégénératives car le système nerveux central est composé de nombreux types cellulaires et certains jouent un rôle majeur dans le déclenchement et la progression de la pathologie. Elle pourra permettre de préciser quel sont les gènes impliqués, les mécanismes moléculaires mis en œuvre, quelles sont les voies de communication cruciales entre les différents types cellulaires, et enfin quelles sont les vulnérabilités spécifiques à chaque type cellulaire impliqué. En conséquence, cela pourra permettre d'identifier de nouveaux biomarqueurs pour le diagnostic précoce ou le pronostic précis de l'évolution de la maladie. Cela pourrait aussi déboucher sur de nouvelles pistes pour des cibles thérapeutiques à développer en essais cliniques pour cette famille de maladies qui en manque cruellement à l'heure actuelle.

*L'auteur remercie ses collègues Carole Escartin (CEA MIRCen), Marc Dhenain (CEA MIRCen) et Hélène Hirbec (CNRS IGF Montpellier) pour les nombreuses et fructueuses discussions sur la recherche sur les maladies neurodégénératives et sur les applications de la technologie de la transcriptomique en cellule unique.*

- [1] T. Vos et al., Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019, *The Lancet*, **2020**, 396, p. 1204-22.
- [2] Z. Wang, M. Gerstein, M. Snyder, RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics, *Nat. Rev. Genet.*, **2009**, 10, p. 57-63.
- [3] F. Tang et al., mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell, *Nat. Methods*, **2009**, 6, p. 377-382.
- [4] S. Aldridge, S.A. Teichmann, Single cell transcriptomics comes of age, *Nat. Commun.*, **2020**, 11, 4307.
- [5] J. Ding et al., Systematic comparison of single-cell and single-nucleus RNA-sequencing methods, *Nat. Biotechnol.*, **2020**, 38, p. 737-746.
- [6] M. Goedert, M.G. Spillantini, A century of Alzheimer's disease, *Science*, **2006**, 314, p. 777-781.
- [7] B. Strooper, E. Karran, The cellular phase of Alzheimer's disease, *Cell*, **2016**, 164, p. 603-615.
- [8] M. Wang et al., Integrative network analysis of nineteen brain regions identifies molecular signatures and networks underlying selective regional vulnerability to Alzheimer's disease, *Genome Medicine*, **2016**, 8, 104.
- [9] H. Mathys et al., Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease, *Nature*, **2019**, 570, p. 332-337.
- [10] C. Bellenguez et al., New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias, *Nat. Genet.*, **2022**, 54, p. 412-436.
- [11] L. Ben Haim, M.-A. Carrillo-de Sauvage, K. Ceyzeriat, C. Escartin, Elusive roles for reactive astrocytes in neurodegenerative diseases, *Front. Cellular Neurosci.*, **2015**, 9, 278.
- [12] H. Keren-Shaul et al., A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease, *Cell*, **2017**, 169, p. 1276-1290.e17.
- [13] K. Leng et al., Molecular characterization of selectively vulnerable neurons in Alzheimer's disease, *Nat. Neurosci.*, **2021**, 24, p. 276-287.
- [14] W. Poewe et al., Parkinson disease, *Nat. Rev. Dis. Primers*, **2017**, 3, p. 1-2.
- [15] O. Uriarte Huarte et al., Single-cell transcriptomics and in situ morphological analyses reveal microglia heterogeneity across the nigrostriatal pathway, *Front. Immunol.*, **2021**, 12, 639613.
- [16] S. Smajic et al., Single-cell sequencing of human midbrain reveals glial activation and a Parkinson-specific neuronal state, *Brain*, **2022**, 145, p. 964-978.
- [17] N.S. Wexler, Huntington's disease: advocacy driving science, *Annu. Rev. Med.*, **2012**, 63, p. 1-22.
- [18] B. Diaz-Castro, M.R. Gangwani, X. Yu, G. Coppola, B.S. Khakh, Astrocyte molecular signatures in Huntington's disease, *Sci. Transl. Med.*, **2019**, 11, eaaw8546.
- [19] O. Al-Dalahmah et al., Single-nucleus RNA-seq identifies Huntington disease astrocyte states, *Acta Neuropathol. Comm.*, **2020**, 8, 19.

**Eric BONNET,**

Chef de laboratoire, Laboratoire de Bio-Analyse, Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry.

\* [eric.bonnet@cnrgh.fr](mailto:eric.bonnet@cnrgh.fr)