Jacques PRUNIER

Cellules Souches de Moelle Osseuse :
Des propriétés extraordinaires qui ouvrent des voies thérapeutiques

Cette étude a pour but de rassembler ce qui est connu sur les cellules souches chez l'adulte. Elle ne se veut pas exhaustive pour autant. Les cellules souches adultes sont donc envisagées dans un premier temps selon leur définition, leurs marqueurs et leurs propriétés, puis sous un angle thérapeutique, ceci pour chaque type de cellules souches étudié.

1/Connaissance des cellules souches et de leur spécificité

La moelle osseuse est composée de deux parties :

- la **moelle jaune** riche en graisse et la **moelle rouge** qui se trouve dans l'os spongieux.
- **La moelle rouge produit les cellules souches hématopoïétiques**, autrement dit, les futures cellules du sang : à savoir, les globules rouges qui transportent l'oxygène, les globules blancs qui luttent contre les infections, les plaquettes qui arrêtent les saignements. La moelle osseuse fabrique aussi les différents types de lymphocytes : ce sont des cellules spécialisées dans l'immunité, chargées de reconnaître et de détruire tout élément étranger introduit dans l'organisme.

Il existe deux types de cellules souches : embryonnaires et adultes.

Elles ont dans tous les cas, trois importantes caractéristiques les différenciant des autres types de cellules :

1) Ce sont des cellules indifférenciées ;
2) Elles sont capables de s'auto-renouveler pendant de longues périodes au travers de nombreuses divisions cellulaires ;
3) Sous certaines conditions physiologiques ou expérimentales, elles peuvent se transformer en cellules spécialisées, c'est-à-dire entrer

dans une voie de différenciation, ceci dans un ou plusieurs lignages cellulaires. *(FORTIER, 2005).*

Il existe différents stades de cellules souches.

- Les **cellules souches totipotentes** sont capables de reconstruire seules un organisme entier.
- Les **cellules souches pluripotentes** sont capables de former plusieurs lignages cellulaires des trois feuillets embryonnaires : l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme.
- Les **cellules souches multipotentes** ne peuvent donner qu'un nombre restreint de lignages cellulaires *(FORTIER, 2005).*
- Les **cellules souches unipotentes** ne peuvent donner qu'un seul type cellulaire.

Les cellules souches embryonnaires sont des cellules souches totipotentes et sont dérivées d'un groupe de cellules situé dans la masse cellulaire interne du blastocyste (embryon de 3,5 jours post-fécondation chez la Souris). *(LI et XIE, 2005).* Le fait qu'elles soient totipotentes leur donne un intérêt majeur : on peut obtenir des lignages cellulaires des trois feuillets embryonnaires, à savoir le mésoderme, l'endoderme et l'ectoderme. Elles ne donnent pas, par exemple, les cellules du trophectoderme. Elles présentent cependant des inconvénients. Les plus importants sont, d'une part, qu'elles entraînent une réaction de rejet ne pouvant être contournée que par l'utilisation à vie de médicaments immunosuppresseurs *(TAUPIN, 2006a*) : en effet, ces cellules peuvent entrer dans la voie de différenciation, par exemple en cellules pancréatiques endocrines et créer une réaction de rejet lorsqu'elles sont injectées chez un individu adulte. D'autre part, elles se trouvent en quantité insuffisante dans l'embryon pour leur utilisation en thérapeutique *(BACHOUD-LEVI et al., 2006).*

IMPORTANT

Les cellules souches adultes sont des cellules que l'on retrouve dans des tissus adultes, c'est-à-dire après la naissance. Elles ont la capacité de s'auto-renouveler et de générer des cellules fonctionnelles différenciées afin de remplacer les cellules perdues au cours de la vie *(LI et XIE, 2005).* Elles appartiennent généralement à un lignage cellulaire particulier. Par exemple, les cellules souches hématopoïétiques (hematopoietic stem cells ou HSCs) sont à

l'origine du lignage des cellules myéloïdes et lymphoïdes. Il semblerait donc qu'elles possèdent, en réalité, une certaine plasticité, c'est-à-dire une capacité à donner d'autres lignages cellulaires que leur lignage d'origine, ce qui augmenterait leur intérêt dans la thérapie cellulaire *(FORTIER, 2005).*

Les cellules souches adultes sont en nombre restreint par lignage cellulaire dans les tissus adultes et les méthodes pour leur expansion in vitro sont, à l'heure actuelle, difficiles. Elles possèdent, cependant, un avantage majeur : il est possible de les prélever chez le patient à traiter, de les faire croître in vitro, de les manipuler génétiquement et de les conserver dans des banques sous forme congelées. Il est alors possible de les réinjecter au même patient : ce mode dit de greffe « autologue » n'entraine pas de rejet par le système immunitaire *(FIEGEL et al., 2006).*

Actuellement, la caractérisation et l'évaluation thérapeutique des cellules souches adultes se fait chez l'Homme mais surtout sur des modèles animaux comme le Rat, la Souris, le Porc, le Cheval et le Chien. Leurs définitions et leurs marqueurs sont donc quasiment tout le temps liés à ceux trouvés dans ces espèces. Une extrapolation des données obtenues est totalement possible vers la médecine vétérinaire. Il sera bien sûr fait, dès que possible, référence à des études menées sur le Chien…

2/Des propriétés exceptionnelles

1) Une cellule souche est douée d'auto-renouvèlement

Les cellules souches sont définies comme ayant une capacité d'auto-renouvèlement, c'est-à-dire qu'elles sont capables de subir des divisions symétriques au travers desquelles la population originelle de cellules souches est maintenue. Les divisions symétriques impliquent que les cellules filles conservent les caractéristiques propres d'une cellule souche.
(ULLOA-MONTOYA et al., 2005).

Les cellules souches sont capables de s'auto-renouveler pendant de très longues périodes.

Il reste encore à comprendre pourquoi elles conservent aussi longtemps leur capacité d'auto-renouvellement. En effet, à chaque fois que le génome se réplique, il y a des erreurs dans l'ADN (acide désoxyribonucléique).

Les cellules souches des mammifères possèdent des mécanismes de surveillance qui détectent les erreurs de réplication et éliminent les cellules dans lesquelles apparaissent ces erreurs. Il y aurait intervention de la protéine **p53** bien connue pour son rôle de facteur anti-tumoral et pro-apoptotique, et de la protéine **Rb**, elle aussi facteur anti-tumoral. Ce mécanisme éviterait ainsi la formation de tumeur par mutation d'une cellule souche et prolifération de cette cellule mutée *(MORRISON et SPRADLING, 2008).*
Les cellules souches possèdent une capacité unique à protéger les télomères de leurs chromosomes. En effet, toutes les cellules souches expriment le marqueur de la télomérase qui est spécifique de ces cellules.

La télomérase est une enzyme qui évite qu'à chaque division cellulaire le télomère, correspondant à l'extrémité du chromosome, ne soit pas répliqué et soit alors perdu. Cela permet donc de **maintenir le génome au complet**. *(ASAHARA et al., 2000).*

2) Les cellules souches peuvent se reprogrammer

Jusqu'à très récemment, la possibilité qu'une cellule souche puisse dériver d'une cellule somatique était tout simplement impensable : le mécanisme d'engagement dans une voie de différenciation ne fonctionnait conceptuellement qu'à sens unique. Grâce à une série d'expériences remarquables, l'équipe des Prs. JAENISCH et MIKKELSEN a pourtant fait tomber le dogme, *(MIKKELSEN et al., 2008).*

Ainsi, il a été montré chez la Souris que l'expression ectopique des quatre facteurs de transcription : OCT-4 (octamer-4), SOX-2 (sex determining region Y-box 2), KLF-4 (kruppel like factor-4) et C-MYC dans un fibroblaste lui confère une identité de cellule pluripotente. Cette reprogrammation nécessite quelques semaines et met en jeu des mécanismes moléculaires complexes.

Ces chercheurs concluent ainsi qu'une reprogrammation de cellules somatiques différenciées est possible, mais qu'il reste à identifier d'autres facteurs de reprogrammation, ou d'autres molécules favorisant la reprogrammation, la rendant stable et sûre, afin d'utiliser ces cellules en thérapie cellulaire.
Cette expérience ouvre donc une nouvelle porte : **il ne semble plus impossible d'obtenir des cellules souches autologues à partir de cellules somatiques différenciées**. Cette perspective est extrêmement intéressante : on pourrait ainsi imaginer, par exemple, obtenir des cellules souches pluripotentes à partir de fibroblastes de la peau et régénérer ainsi facilement un (ou plusieurs) lignage(s) cellulaire(s) pauvre(s) en cellules souches.

3) Une confirmation de l'existence de cellule souche a posteriori, après culture in vitro ou injection in vivo

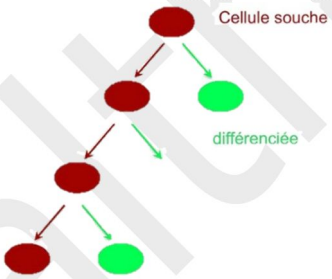
Il est enfin nécessaire, pour qualifier une cellule de cellule souche, de tester son activité. En effet, une cellule peut exprimer un marqueur de cellule souche sans pour autant en être une : certains marqueurs se retrouvent à la fois sur les cellules souches et les cellules matures d'un même tissu.

On confirme donc a posteriori que la cellule souche, identifiée comme telle par ses marqueurs, est bien une véritable cellule souche. In vitro, on teste leur clonogénicité, leur potentiel de prolifération, leur capacité d'auto-renouvèlement et leur potentiel de différenciation ; alors qu'in vivo, on va plutôt tester leur capacité d'auto-renouvèlement et leur capacité à régénérer des tissus. *(GARGETT, 2007 ; ULLOA-MONTOYA et al., 2005).*

4) Une cellule souche peut s'engager dans une voie de différenciation et constituer un lignage cellulaire.

La différenciation est définie comme un changement dans le phénotype cellulaire en raison de l'expression de gènes spécifiques de la fonction de la cellule suivant le lignage auquel elle appartient *(GARGETT, 2007).*

Les cellules souches entrent dans la voie de différenciation par des divisions dites asymétriques, impliquant qu'une seule des deux cellules filles conserve les caractéristiques propres des cellules souches, alors que l'autre cellule fille continue dans la voie de la différenciation.*(ULLOA-MONTOYA et al., 2005*).

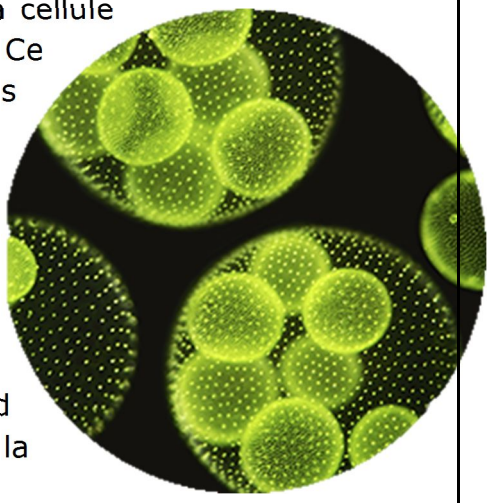


La cellule souche mère donnant naissance à une autre cellule souche A identique à elle-même et donnant naissance à une cellule B qui s'engage dans une voie de différenciation.
Il semblerait que l'asymétrie soit liée à une asymétrie moléculaire au sein de la cellule souche en division. Il y aurait une ségrégation asymétrique des protéines, des **ARNs** (acides ribonucléiques), des organelles et de l'ADN. Il semblerait également que le fuseau nécessaire à la division cellulaire soit lui aussi asymétrique. *(MORRISON et SPRADLING, 2008*).
Enfin l'environnement interviendrait aussi dans l'asymétrie des divisions.

La cellule fille obtenue entrant dans la voie de différenciation est appelé cellule d'amplification transitoire (transit amplifying progenitor ou cellule TA*) (GARGETT, 2007).*

Ces cellules **TA**, aussi appelées, suivant leur stade, cellules progénitrices puis cellules précurseurs, possèdent des propriétés intermédiaires entre les cellules souches adultes et les cellules différenciées : elles ont un potentiel de division limité, une absence de capacité à l'auto-renouvellement et donnent naissance progressivement aux cellules différenciées.

La division asymétrique jouerait aussi un rôle dans la capacité qu'ont les cellules souches à se maintenir longtemps : les mutations de l'ADN seraient spécifiquement envoyées dans la cellule fille poursuivant la différenciation alors que l'ADN original, intact, serait conservé dans la cellule souche fille responsable de l'auto-renouvèlement. Ce phénomène n'a cependant pas été décrit dans tous les systèmes. *(MORRISON et SPRADLING, 2008).*



Les cellules souches adultes remplissent ces critères. Les chercheurs ont pu les mettre en évidence dans de nombreux tissus adultes.
Ces méthodes sont faciles à mettre en place quand les cellules souches sont en suspension comme les **HSCs**. Lorsque les cellules proviennent d'un tissu, il faut d'abord les en extraire, en utilisant par exemple un traitement à la

protéase : les cellules souches sont alors isolées des cellules voisines et de la matrice extra-cellulaire (FORTIER, 2005).

5) La cellule souche joue un rôle dans l'homéostasie tissulaire par quiescence et activation

Les cellules souches sont gardées quiescentes localement ou dans la circulation sanguine et sont réactivées à la suite de stimuli environnementaux pour la régénération physiologique d'un tissu ou suite à un processus pathologique.

La régénération d'un tissu dans un organisme vivant se fait par deux mécanismes.

- Le premier est le remplacement des cellules différenciées par la division de cellules souches. Un exemple typique de ce phénomène est la reconstitution des cellules sanguines. La totalité des cellules sanguines provient d'un nombre restreint de cellules souches hématopoïétiques.
- Le deuxième mécanisme est le remplacement des cellules différenciées par d'autres cellules différenciées. Ceci peut s'effectuer car certaines cellules différenciées ont conservé un potentiel de division. On parle de cellules inter-mitotiques : Les hépatocytes, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les kératinocytes et les fibroblastes sont considérés comme des cellules inter-mitotiques. *(ASAHARA et al., 2000).*

Les cellules différenciées incapables de division sont nommées, quant à elles, cellules post-mitotiques.

À la suite d'une stimulation physiologique ou d'une lésion, des facteurs sont sécrétés par les tissus environnants et stimulent le remplacement cellulaire soit par les cellules souches soit par les cellules différenciées inter-mitotiques. Cependant, les cellules inter-mitotiques ont une capacité de multiplication limitée et sont incapables de migrer dans un autre tissu lésé ; alors que les cellules souches ont un potentiel de multiplication extrêmement important et peuvent se déplacer au sein d'un tissu et même d'un tissu à un autre.

Les cellules souches adultes ont donc un rôle majeur dans l'homéostasie des tissus : elles assurent la régénération physiologique des différents lignages

cellulaires des tissus. Il existe ainsi une balance délicate entre l'auto-renouvèlement et la différenciation. *(LI et XIE, 2005).*

Les cellules souches adultes jouent également un rôle majeur dans la réparation des tissus suite à une lésion : elles actent ainsi de concert avec les cellules différenciées inter-mitotiques. Cependant leur intervention est majeure dans le cas d'une réparation tissulaire, même si les cellules différenciées inter-mitotiques interviennent également.

6) La plasticité des cellules souches

Jusqu'à présent, on pensait que les cellules souches chez l'adulte n'étaient pas réellement pluripotentes c'est-à-dire qu'elles n'étaient capables de ne donner que des cellules d'un même lignage cellulaire.

Par exemple, les **HSCs** donnent naissance à tous les types de cellules sanguines : les globules rouges, les lymphocytes B, les lymphocytes T, les cellules « Natural Killer » (NK), les neutrophiles, les basophiles, les éosinophiles, les monocytes, les macrophages et les plaquettes.

De récentes observations ont permis de supposer que ces cellules souches possédaient un potentiel de différenciation dépassant leur lignage cellulaire : ce phénomène est nommé la plasticité. Cela revient à dire que les cellules souches adultes ne sont pas

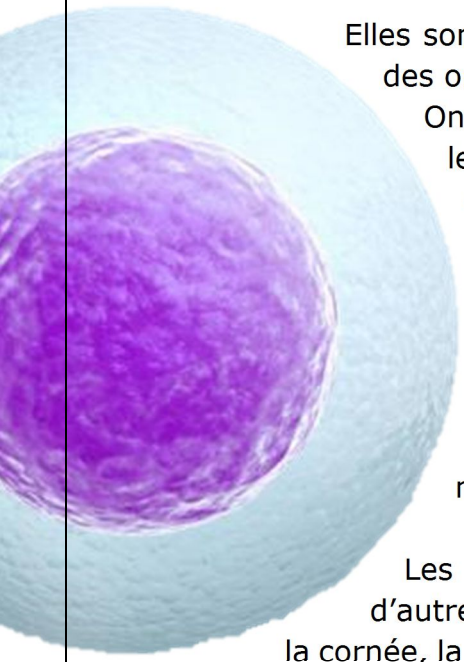
pluripotentes stricto sensu mais qu'elles peuvent, par différents mécanismes, se comporter comme tel. Par exemple, il a été montré que les HSCs pouvaient donner naissance non seulement au lignage hématopoïétique mais aussi à des hépatocytes. *(ULLOA-MONTOYA et al., 2005)*

Le mécanisme exact de la plasticité des cellules souches adultes n'est pas encore bien démontré et reste sujet à controverse. Les premières études sur le sujet ont été réalisées par VERFAILLIE et LAKSHMIPATHY (2005).

Il existerait quatre mécanismes possibles : la Trans différenciation directe et indirecte, la fusion cellulaire et la présence d'une cellule pluripotente vraie. *(ULLOA-MONTOYA et al., 2005 ; VERFAILLIE et LAKSHMIPATHY, 2005)*

Les cellules souches chez l'adulte sont des cellules indifférenciées, multipotentes mais plastiques : elles peuvent se différencier en de multiples lignages cellulaires…

3/Où trouve-t-on aussi des cellules souches ?



Elles sont présentes dans tout organisme adulte et dans la majorité des organes.

On les retrouve ainsi dans des tissus en renouvellement rapide: leur présence a alors rapidement été devinée par les chercheurs, identifiée puis utilisée. Ces tissus sont l'épithélium intestinal, l'épiderme et la moelle osseuse.

La moelle osseuse a été la première identifiée comme source de cellules souches et la première étudiée puis utilisée dans le traitement de maladies sanguines aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. C'est avec la moelle osseuse que les chercheurs ont concrètement appliqué la notion de cellule souche et de thérapie cellulaire.

Les cellules souches adultes ont ensuite été découvertes dans d'autres tissus en renouvellement comme l'épithélium pulmonaire, la cornée, la rétine, le muscle squelettique et le rein. Dans tous ces tissus, les cellules souches sont relativement bien identifiées et sont localisées dans des niches bien organisées.

Grâce aux progrès des techniques d'identification, les chercheurs ont ensuite isolé d'autres cellules souches dans la moelle osseuse et complété les possibilités thérapeutiques des cellules souches déjà connues. La moelle osseuse est à l'heure actuelle une source intarissable de cellules souches, que ce soit les cellules souches hématopoïétiques, dont les intérêts thérapeutiques sont encore loin d'être identifiés totalement, ou les cellules souches stromales qui possèdent des possibilités thérapeutiques incroyables.

Dans un deuxième temps, les cellules souches ont été cherchées dans d'autres organes qui, au premier abord, n'avaient pas été retenus.
Les chercheurs ont ainsi mis en évidence des cellules souches dans le cœur, le cerveau et le tissu adipeux.

Le cœur n'est plus à l'heure actuelle considéré comme un organe statique mais bien un organe dynamique contenant des cellules souches.
Cela ouvre de grandes perspectives dans le traitement des infarctus du myocarde ou des cardiomyopathies.
Un autre grand dogme a aussi été renversé : les mammifères ne naissent pas avec un

Synerj-Health

nombre défini de neurones. Le cerveau contient des cellules souches : il s'agit là d'une découverte majeure pour le traitement des troubles nerveux. Ce domaine-là est, bien sûr, d'une importance capitale en médecine humaine avec le traitement possible de maladies comme l'Alzheimer ou la Parkinson, mais aussi de grande importance en médecine vétérinaire avec un traitement possible des traumatismes de la moelle épinière.

Enfin, les chercheurs ont découvert des cellules souches dans un endroit inattendu : le tissu adipeux.

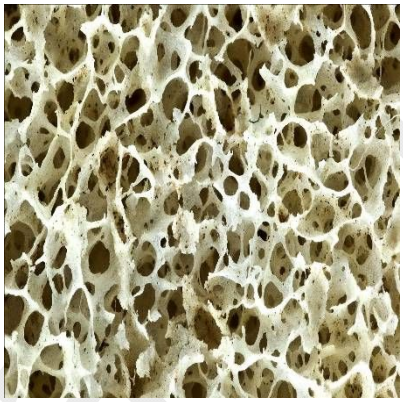
Cette partie de l'organisme qui, au premier abord, n'est pas un tissu d'un grand intérêt est en réalité une source considérable de cellules souches mésenchymateuses. Ces cellules souches sont très similaires aux cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse et ont donc des propriétés de différenciation similaires. Cette niche de cellules souches est une découverte majeure dans le monde humain : son prélèvement est simple, peu coûteux, réalisable sur tous les humains et de plus, la culture de ces cellules souches in vitro est très simple. Cela pourrait être à l'avenir une des sources principales de cellules souches en médecine vétérinaire.

Cellules souches et applications thérapeutiques :
De nouvelles pistes à explorer

On peut maintenant, et il s'agit d'une avancée extraordinaire, envisager un traitement pour le diabète. Cette maladie touchant aussi bien l'Homme que l'animal va enfin pouvoir être traitée, non plus par des injections quotidiennes à vie d'insuline, mais par une thérapie cellulaire par les cellules souches. Les chercheurs ont ainsi identifié des cellules souches pancréatiques mais surtout ils ont réussi à utiliser d'autres cellules souches mieux définies ou plus faciles d'accès comme celles du tissu adipeux, pour former des cellules sécrétrices d'insuline. C'est une découverte incroyable qui sera sûrement extrêmement prometteuse dans un avenir proche.

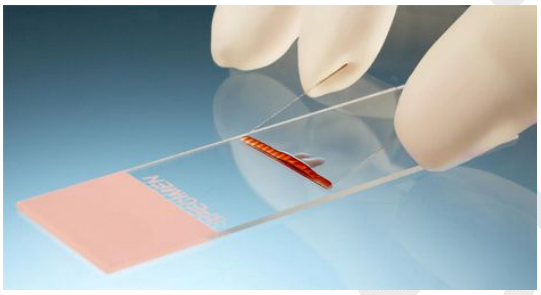
Une autre découverte récente va aussi révolutionner le traitement des myopathies : l'utilisation de cellules souches, les mésoangioblastes, constitue un traitement potentiel des myopathies humaines et notamment de la myopathie de Duchenne. Cette découverte a été réalisée sur des chiens.

Les cellules souches ouvrent également d'autres perspectives et notamment la médecine régénérative.



A l'heure actuelle, on est capable de remplacer par exemple un bras entier : ceci est permis par la transplantation chirurgicale ou l'implantation de prothèse. L'ingénierie tissulaire s'oriente vers le passage de cellules à tissus en combinant les cellules dans des échafaudages imitant la matrice extra-cellulaire. De futures approches incluront les cellules souches dans la production de tissus artificiels, ou l'implantation de matériaux artificiels pour guider le comportement de ces cellules souches. Le passage de cellule à organe requiert l'identification des « maîtres d'œuvre » identiques à ceux produisant une jambe entière ou une régénération d'appendices chez les organismes inférieurs. *(FODOR, 2003 ; INGBER et LEVIN, 2007)*

La médecine, grâce à la recherche, progresse très rapidement. En effet, la notion de cellule souche adulte date de 1961 avec la découverte des cellules souches hématopoïétiques et, en 2008, on a découvert un très grand nombre de cellules souches dans la quasi-totalité des organes des mammifères. La médecine régénérative quant à elle, est déjà bien exploitée avec l'utilisation de cellules différenciées pour la création de peau ex-vivo, de cartilage, de tendons ou encore de lobules hépatiques ou de lobules pancréatiques. *(INGBER et LEVIN, 2007)*



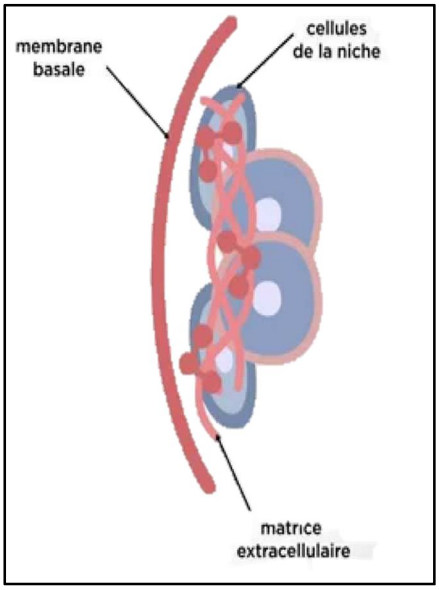
Il ne reste plus qu'à combiner ces deux domaines de recherche pour envisager la création d'organes complets ex vivo à partir de cellules souches

Il reste une perspective au sujet des cellules souches : le cancer

En effet, les notions de niche et de cellules souches cancéreuses ont changé ces perspectives.

Ainsi la cellule souche et son auto-renouvèlement est une des clés. En effet, les cellules souches sont, par définition, capables d'auto-renouvèlement indéfiniment. Si elles mutent et ne sont plus régulées, elles vont alors proliférer anarchiquement : n'est-ce pas là la définition même d'un cancer ?

Chez l'adulte, la niche empêche la cancérogenèse en contrôlant le comportement des cellules souches et la balance entre leur auto-renouvèlement et leur différenciation. *(LI et XIE, 2005)*



Dans ce contexte, toutes mutations induisant les cellules souches à échapper au contrôle de la niche pourraient entraîner la formation d'une tumeur. Il est alors possible de dire qu'une des différences entre une cellule souche et une cellule souche cancéreuse est que cette dernière n'est plus dépendante des signaux de la niche*. (MORRISON et SPRADLING, 2008).* Selon les oncologues et les biologistes, il semblerait que les masses cancéreuses contiennent un petit nombre de cellules possédant les propriétés des cellules souches. Ces cellules seraient responsables de la croissance et de l'apparition des métastases dans les cancers. A l'heure actuelle, les chercheurs tentent de trouver les marqueurs pour différencier les cellules souches cancéreuses des cellules souches normales.

Une autre possibilité pour la cancérogenèse est qu'un dysfonctionnement de la niche peut entrainer la formation d'une tumeur (MORRISON et SPRADLING, 2008). C'est ce qui a été retrouvé dans des cancers comme la neurofibromatose chez l'Homme et les maladies myéloprolifératives, où il y a à la fois des mutations des cellules souches et à la fois des modifications dans leur niche *(WALKLEY et al., 2007).* La niche pourrait également jouer un rôle dans l'apparition des métastases : ainsi, les cellules mésenchymateuses situées autour ou dans la tumeur augmentent la capacité invasive et métastatique des cellules du cancer du sein *(KARNOUB et al. 2007).*

La découverte des cellules souches et de leur niche a donc amené les chercheurs à découvrir les notions de cellule souche cancéreuse et de niche pro-carcinogène. Une nouvelle perspective de traitement du cancer, basée sur la neutralisation de ces cellules souches et de leur niche, est en train de voir le jour *(MORRISON et SPRADLING, 2008).*

La thérapie liée aux cellules souches va sûrement toucher la médecine vétérinaire dans les années à venir. Cependant, elle est en partie bloquée par une contrainte inhérente à cette médecine : **le financement**
La thérapie cellulaire est extrêmement prometteuse mais c'est une médecine individuelle extrêmement couteuse.

En effet, chez l'Homme, il est déjà difficile de la mettre en place. Il est donc à l'heure actuelle très difficile d'envisager une telle thérapie à grande échelle en médecine vétérinaire.

Mais la recherche avance très vite et on devrait voir apparaitre de plus en plus d'utilisations des cellules souches chez l'Homme dans les années à venir.

Jacques PRUNIER

Lien vers les publications scientifiques

www.synerj-health.com