

L'Institut Langevin « Ondes et Images »

Unité mixte de recherche ESPCI ParisTech – CNRS

L'excellence d'aujourd'hui

Double lauréat
du Grand Emprunt –
Investissements d'avenir:

- Equipex « UltraBrain »
- Labex « Wifi »

5 entreprises
et plusieurs centaines
d'emplois créés en 10 ans

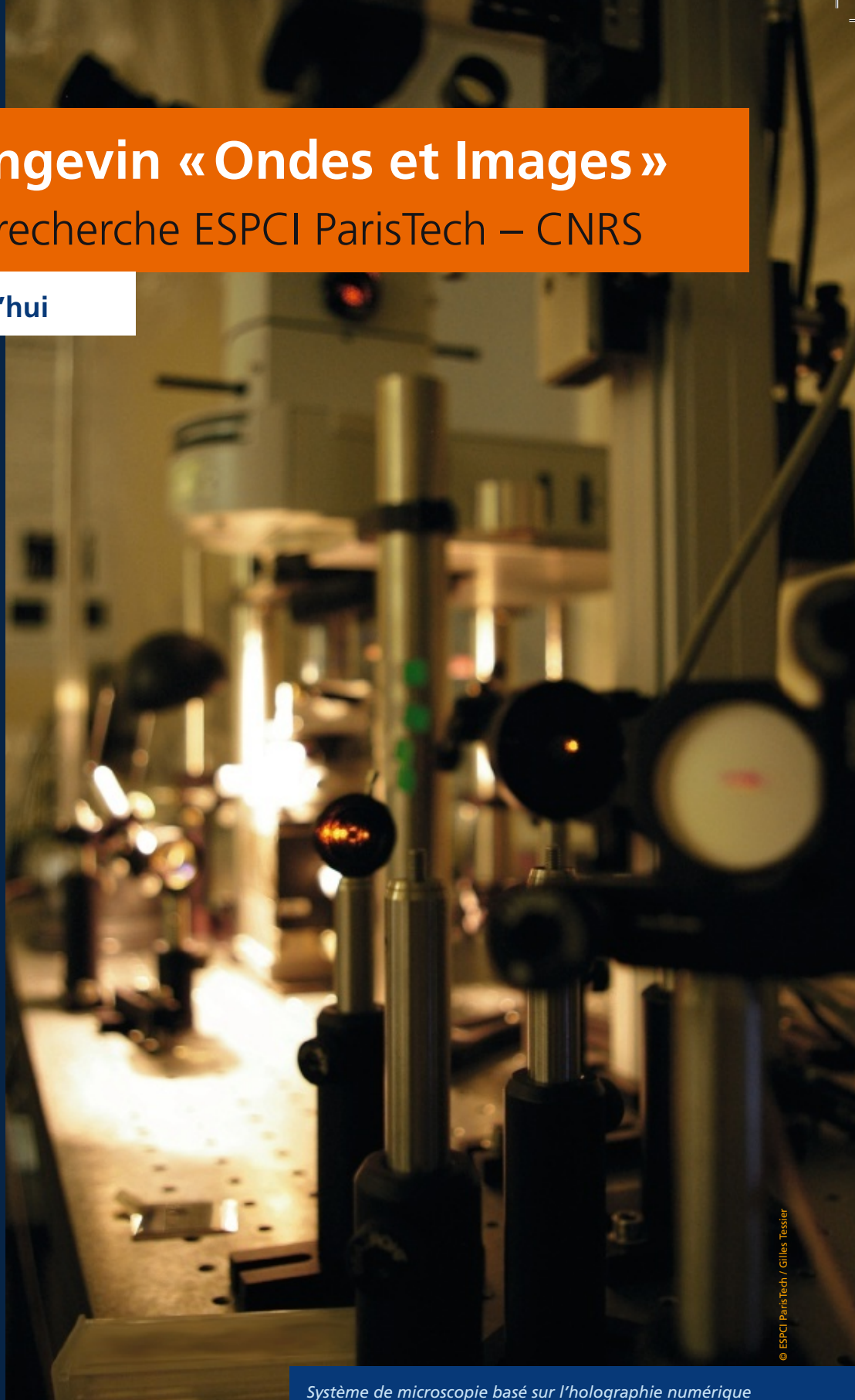


Mathias Fink, directeur

Professeur ESPCI

Médaille de l'Innovation
2011 du CNRS

Prix Yves Rocard 2011 de la
Société française de physique



*Système de microscopie basé sur l'holographie numérique
mis au point par Gilles Tessier, enseignant-chercheur*

Des cellules souches pour réparer et régénérer les tissus ?

Laure Coulombel

Les cellules souches, qui ont la capacité de donner naissance à plusieurs types de cellules, portent de nombreux espoirs thérapeutiques. Certains semblent réalistes, d'autres hors de portée... du moins pour l'instant.

Quand on sectionne les tentacules de l'hydre, ils repoussent. Quand on coupe ce petit animal en deux, il se transforme en deux hydres. La queue du lézard ou les pinces des homards réapparaissent. On pourrait aussi citer la salamandre ou encore la plupart des végétaux capables de régénérer un organe, voire un individu entier, à partir de seulement quelques cellules différenciées. Malheureusement, l'homme adulte n'a pas ce talent, et se contente de réparer, souvent mal, ses tissus lésés ou vieillissants. Les « cellula madre » – les cellules mères ou souches – suscitent aujourd'hui beaucoup de fascination, mais aussi de confusion et de débats. C'est qu'on leur prête sinon ce pouvoir de régénération, du moins un potentiel de réparation (dont la réalité n'est pas toujours démontrée), mais aussi que, sous ce terme unique de cellule souche, se cache une multitude de cellules distinctes et dont les capacités sont variées.

Pourquoi tant de cellules souches, comment aborder les problèmes éthiques liés à l'obtention de certaines d'entre elles, pourquoi cet objectif de médecine régé-

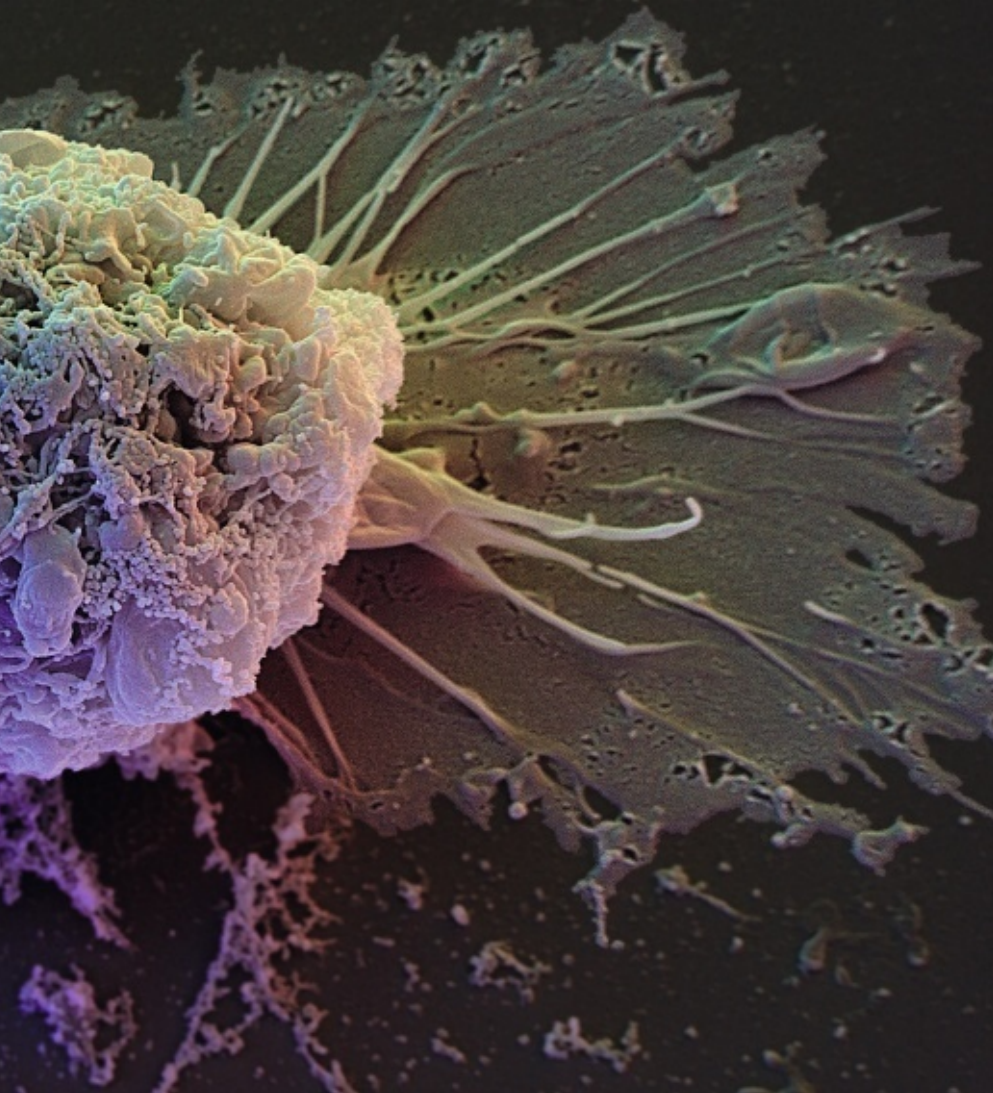
nératrice tarde-t-il à se concrétiser, sommes-nous prêts à assumer les risques – médicaux et économiques – de ces approches médicales inédites ? Avant d'aborder ces questions, nous allons rappeler ici les propriétés des différents types de cellules souches, leur potentiel thérapeutique, les difficultés éthiques que pose leur utilisation.

Qu'est-ce qu'une cellule souche ? C'est une cellule qui donne naissance, après de très nombreuses divisions, à un ou plusieurs types de cellules différenciées. Quand elles engendrent plusieurs types cellulaires, on les qualifie de multipotentes ou de pluripotentes, selon l'étendue de leur potentiel. Souvent, elles s'autorenouvellent, c'est-à-dire qu'elles donnent elles-mêmes naissance à de nouvelles cellules souches, constituant un réservoir cellulaire sans fin. Mais cette définition s'applique à des entités aussi différentes que des cellules souches embryonnaires, des cellules souches hématopoïétiques (qui donnent naissance aux cellules sanguines) adultes, des cellules souches mésenchymateuses (des cellules présentes dans tous les tis-

sus) ou encore des cellules souches reprogrammées à partir de cellules différenciées.

Une cellule toute puissante

Soulignons que toutes ces cellules souches ont leurs caractéristiques propres, et que cette diversité est le meilleur garant des progrès des recherches fondamentales d'aujourd'hui, et du succès des approches de la médecine régénératrice de demain. Chez l'adulte, les cellules différenciées composent l'essentiel des tissus et en assurent le fonctionnement (globules rouges, cellules du foie ou du cœur, neurones, etc.). Mais elles sont généralement incapables de se diviser, de sorte qu'on constate une perte cellulaire soit physiologique – quand l'individu vieillit –, soit accidentelle – à la suite d'une lésion. La restauration du réservoir fonctionnel de chaque type cellulaire devrait être assurée par les cellules souches et leurs descendantes directes, les cellules progénitrices. C'est le cas des cellules souches hématopoïétiques, présentes dans la moelle osseuse, qui recons-



tituent en permanence les cellules sanguines dont la durée de vie est brève; c'est pourquoi elles sont utilisées depuis plus de 30 ans pour lutter contre certaines maladies du sang et du système immunitaire. Mais les cellules souches hématopoïétiques sont uniques: elles sont facilement accessibles chez le donneur, et après avoir été greffées (injectées par voie intraveineuse), elles se réimplantent spontanément dans la moelle osseuse du receveur. Ensuite, elles se différencient correctement, redonnant tous les types de cellules sanguines. Toutefois, si ce scénario est effectivement à l'œuvre avec les cellules souches hématopoïétiques et les cellules souches de certains tissus (peau, intestins), c'est loin d'être la règle.

Ce n'est malheureusement pas le cas dans le cerveau, le cœur, la rétine, tissus et organes vitaux dont on ne sait pas toujours compenser les dysfonctionnements par des médicaments. Pourquoi lors d'un accident vasculaire cérébral, d'un infarctus du myocarde ou d'une dégénérescence maculaire de la rétine, les neurones, les cellules musculaires cardiaques ou les pho-

torécepteurs qui meurent ne sont-ils pas remplacés par de nouvelles cellules qui seraient produites *in situ*? Avant tout parce que, chez l'homme adulte, ces organes ne contiennent plus de cellules souches fonctionnelles. Si les cellules souches de ces tissus sont actives chez le fœtus et le nouveau-né, périodes durant lesquelles la taille des organes s'accroît notablement, ce n'est plus le cas dans les tissus adultes: la capacité régénératrice des cellules souches décroît avec l'âge.

On pouvait donc penser que des cellules souches ou progénitrices fœtales auraient un pouvoir de réparation supérieur à celui des cellules souches adultes. Quelques équipes ont tenté de greffer des cellules issues de cerveau fœtal à des patients atteints de la maladie de Parkinson, dont les neurones ne produisent plus de dopamine, un neurotransmetteur essentiel, entre autres, à la coordination motrice, ou de la maladie de Huntington, une maladie héréditaire grave. Dans ces deux maladies, le déficit, localisé dans une région précise du cerveau, est bien défini, ce qui est un prérequis pour le succès d'une telle démarche.

Les cellules greffées étaient issues de fœtus provenant d'interruptions volontaires de grossesse, ce qui, d'une part, soulève des questions éthiques, et, d'autre part, ne représente qu'une source limitée de cellules. La seule source de cellules souches fœtales abondante, facilement accessible et qui pose peu de questions éthiques, est le sang de cordon ombilical. Toutefois, le sang de cordon contient avant tout des cellules souches hématopoïétiques, et n'est utilisé en transplantation de routine que dans des indications hématologiques ou immunologiques. En France, pour ces indications, le sang issu de ces cordons est conservé dans des établissements autorisés. Il contient également des cellules souches mésenchymateuses dont l'intérêt thérapeutique est en cours d'évaluation (nous y reviendrons).

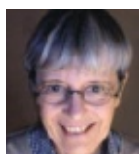
Les cellules souches fœtales sont, comme les cellules souches adultes, présentes dans les tissus et déjà engagées dans une voie de différenciation cellulaire: elles sont multipotentes, mais ont perdu la pluripotence. Seuls deux types de cellules sont pluripotents: les cellules souches embryonnaires et les cellules reprogrammées. Les premières, CSEh (pour cellule souche embryonnaire humaine), sont issues d'un embryon; les secondes, iPS pour *induced*

L'ESSENTIEL

- Il existe de nombreux types de cellules souches. Certaines sont capables de donner naissance à tous les types de cellules.
- Chez l'adulte, les cellules souches ne sont pas toujours assez efficaces pour réparer un tissu.
- Des méthodes de reprogrammation permettent de créer de nouvelles cellules souches qui pourraient améliorer les capacités de réparation ou de régénération des tissus endommagés.

David Scharf/Science Faction/Corbis

■ L'AUTEUR



Laure COULOMBEL, directrice de recherche INSERM, est rédactrice en chef adjointe de la revue *médecine/sciences*.

pluripotent stem cells (cellules souches pluripotentes induites), sont obtenues par reprogrammation de cellules différenciées adultes ou fœtales.

Examinons d'abord les cellules souches embryonnaires humaines. L'embryogenèse façonne, à partir de l'œuf fécondé ou zygote, l'ensemble des tissus fonctionnels constituant un individu viable. L'œuf fécondé est une cellule souche totipotente : le terme de totipotence désignant la capacité de former un individu entier. Les cellules issues des toutes premières divisions du zygote n'ont pas encore acquis d'identité tissulaire, et sont encore capables de se différencier en presque tous les tissus de l'organisme : elles sont pluripotentes. Période fugace, car les cellules de cet embryon vont très rapidement (avant le 10^e jour) perdre cette pluripotence. Sous l'influence de signaux inducteurs, leur potentiel va se restreindre progressivement à un « feuillet » à l'origine d'un groupe de tissus, puis ensuite, dans ce groupe, à un seul tissu (foie, cœur, pancréas, etc.). Rappelons qu'il existe trois feuillets, nommés ectoderme, endoderme et mésoderme.

Or on sait depuis les années 1980 chez la souris, et 1998 chez l'homme, déri-

ver des lignées de cellules souches embryonnaires pluripotentes à partir des quelques cellules (20 à 50) qui composent le bouton embryonnaire (ou masse interne) d'un embryon au stade blastocyste avant son implantation dans la paroi utérine, au 5^e jour de développement chez l'homme. Lorsqu'elles sont prélevées et placées dans des conditions de culture aujourd'hui bien définies, ces cellules acquièrent la capacité de se diviser indéfiniment (ce qui assure une production illimitée de cellules) tout en gardant leur potentiel pluripotent.

Mais l'expérimentateur peut aussi exploiter cette pluripotence et déclencher dans ces cellules un processus de différenciation en l'un des multiples tissus. On y parvient en modifiant les ingrédients du milieu de culture. Comme nous l'avons évoqué, chez le fœtus et *a fortiori* chez l'enfant et l'adulte, il n'y a plus de cellules souches pluripotentes, mais il reste dans chaque tissu un petit contingent de cellules souches spécialisées multipotentes. Chez l'homme, l'obtention de lignées de cellules souches embryonnaires n'a pu se faire qu'après le développement des procédures de fécondation *in vitro*, FIV, puis-

Une multitude de cellules souches

Les cellules souches ont de nombreuses origines. Pour cette raison, elles ont des propriétés biologiques différentes et, par conséquent, des potentiels thérapeutiques divers. Elles sont plus ou moins faciles à obtenir et certaines soulèvent des difficultés éthiques.

Type de cellules	Source	Propriétés	Potentiel thérapeutique
• Cellules souches embryonnaires	• Embryons surnuméraires issus d'une fécondation <i>in vitro</i>	• Cellules souches pluripotentes • Capables de donner naissance à tous les types de cellules • Capables de proliférer de façon illimitée	• Essais cliniques en cours : traumatisme de la moelle épinière, maladies rétinienues
• Cellules souches fœtales	• Fœtus issus d'une interruption volontaire de grossesse	• Cellules multipotentes déjà en partie différenciées • Ne donnent que certains types de cellules	• Cellules souches neurales : essais cliniques en cours dans certaines maladies neurologiques
• Cellules de sang de cordon	• Sang de cordons ombilicaux prélevés à la naissance	• Les cellules multipotentes du sang de cordon sont surtout des cellules souches hématopoïétiques et des cellules souches mésenchymateuses	• Utilisées couramment pour traiter des maladies du sang • Essais cliniques avec les cellules souches mésenchymateuses
• Cellules souches adultes	• Cellules extraites des tissus adultes, par exemple la moelle osseuse, la peau, le tissu adipeux, les intestins	• Cellules multipotentes déjà en partie différenciées	• Cellules souches mésenchymateuses : essais cliniques en cours pour tester l'effet immunomodulateur et anti-inflammatoire • Cellules souches hématopoïétiques : indications hématologiques, immunologiques • Cellules souches épidermiques : brûlures graves
• Cellules souches pluripotentes induites	• Cellules issues de la reprogrammation de cellules adultes différenciées	• Cellules souches pluripotentes • Capables de proliférer de façon illimitée	• Pas d'utilisations thérapeutiques aujourd'hui

que les cellules souches embryonnaires humaines ne peuvent être prélevées que sur des embryons à un stade très précoce, pendant une fenêtre de temps très étroite.

Les embryons utilisés pour ces recherches sont des embryons surnuméraires congelés après une procédure de fécondation *in vitro* réalisée dans le cadre d'un projet parental. Ceux qui ne font plus l'objet d'un tel projet peuvent être donnés à la recherche après consentement du couple dans les termes définis par les lois de bioéthique. La dissection et la culture des cellules du bouton embryonnaire entraînent la destruction de cet embryon, destruction qui est la source du débat éthique suscité par les recherches sur les cellules souches embryonnaires humaines. Rappelons qu'en France, la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires est régie par les lois de bioéthique de 2004, qui ont été révisées en 2011. La recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines est interdite, mais des dérogations peuvent être accordées par l'Agence de la biomédecine, si le dossier qui lui est soumis est conforme aux exigences scientifiques et réglementaires prévues par la loi.

Les cellules souches embryonnaires offrent donc deux avantages considérables par rapport aux cellules souches adultes ou fœtales : une prolifération illimitée et la pluripotence. Or une difficulté importante rencontrée avec les cellules souches adultes est qu'elles ont un pouvoir de prolifération limité *in vitro*. Et, précisément parce qu'elles sont peu nombreuses, il serait nécessaire de pouvoir les faire se multiplier en dehors de leur environnement naturel (le tissu) avant de les réintroduire dans l'organisme, ce qui est très difficile.

Le rôle essentiel de l'environnement

Or nous sommes incapables de reproduire en culture l'environnement tissulaire complexe qui, *in vivo*, est indispensable à la pérennisation des propriétés des cellules souches du tissu, ce qui explique que beaucoup de cellules souches adultes ou fœtales ne survivent pas ou se comportent de façon aberrante dans les conditions artificielles du laboratoire. Par exemple, les cellules « satellites » responsables de la production *in vivo* de nouvelles fibres musculaires donnent facilement naissance,

in vitro, à un grand nombre de myoblastes (précurseurs des cellules musculaires). Mais quand ces myoblastes sont transplantés dans des modèles animaux de maladies musculaires généralisées, ils survivent mal ou sont incapables de migrer efficacement dans le muscle pour le coloniser et le réparer.

La découverte du rôle capital du micro-environnement local – la « niche » – dans le comportement des cellules souches a été un progrès notable. Toute approche thérapeutique utilisant des cellules souches devra prendre en compte non plus les cellules isolées, mais les interactions de la cellule et de son milieu, c'est-à-dire du couple cellule souche-niche. Il ne servira à rien de disposer de cellules souches performantes si la niche tissulaire qui les accueille est défaillante. Or le vieillissement de cet environnement contribue probablement au dysfonctionnement des cellules souches âgées, paramètre que la médecine régénératrice devra intégrer.

C'est pour préserver ces interactions que certains ont testé la possibilité de stimuler les cellules souches ou les cellules progénitrices *in situ*, du moins dans les tissus dont on sait qu'ils sont capables d'un certain degré de réparation et dont les cellules souches ne peuvent pas facilement être isolées et cultivées. On cherche à les stimuler dans leur niche par des facteurs de croissance délivrés par voie générale ou par des cellules migrant jusqu'au tissu pour y délivrer les molécules stimulatrices. Ces approches pourraient être intéressantes dans certaines pathologies touchant des organes complexes, tel le cerveau.

Par exemple, les cellules souches mésenchymateuses pourraient jouer ce rôle de vecteur de molécules trophiques et de facteurs de croissance favorisant la réparation par des cellules souches. Ces cellules sont essentiellement isolées de la moelle osseuse et du tissu adipeux, deux tissus très faciles d'accès, et elles s'amplifient facilement *in vitro*, sans toutefois être immortelles. Le rôle physiologique de ces cellules souches reste mal connu. Certaines se différencient en cellules osseuses ou vasculaires. Mais leur intérêt principal en thérapie cellulaire est de minimiser les réactions inflammatoires et immunologiques, préserver la survie des cellules souches fonctionnelles, stimuler la construction de nouveaux vaisseaux, tous paramètres contribuant à la réparation des

Les cellules souches attirent les prix Nobel

2012

John Gurdon et Shinya Yamanaka, pour avoir découvert que des cellules matures peuvent être reprogrammées pour devenir pluripotentes.

2007

Mario Capecchi, Martin Evans et Oliver Smithies, pour avoir découvert comment modifier spécifiquement certains gènes de souris en utilisant des cellules souches embryonnaires.

1990

E. Donnall Thomas, pour ses travaux sur les greffes de cellules souches hématopoïétiques de moelle osseuse.

tissus lésés. Beaucoup d'essais cliniques sont en cours qui détermineront de façon rigoureuse dans quelles maladies les cellules mésenchymateuses favorisent la réparation tissulaire.

Comment créer des cellules souches

Si Shinya Yamanaka et ses collègues de l'Université de Kyoto ont provoqué un « séisme scientifique » en 2006, qui leur a valu le prix Nobel six ans seulement après leur découverte, c'est parce qu'ils ont réussi à « créer » des cellules souches pluripotentes à partir de n'importe quelle cellule différenciée de l'organisme. Chez certains animaux, la reprogrammation se produit spontanément, et chez d'autres, on savait déjà reprogrammer des cellules différenciées, notamment par transfert de noyau dans l'ovocyte. Mais ces stratégies sont difficilement applicables chez l'homme, de sorte que les travaux de l'équipe japonaise ouvrent une ère tout à fait nouvelle, essentiellement parce qu'ils offrent une technique simple et qui ne pose pas de problèmes éthiques majeurs, de reprogrammation de cellules adultes humaines en cellules souches pluripotentes au moyen de facteurs de transcription.

Que signifie « reprogrammer » ? Il s'agit de substituer au programme d'une cellule donnée le programme d'une autre cellule ; dans le cas de la découverte de S. Yamanaka, cette autre cellule est une cellule souche pluripotente. Comme nous l'avons rapidement évoqué, un programme est l'ensemble des informations qui confèrent à une cellule son identité et donc sa fonction. Ces informations sont stockées dans le noyau, dans l'ADN des gènes. Pour que ces informations spécifiques soient décodées et que le programme soit réalisé, il faut que les gènes qui les portent soient activés (c'est-à-dire que l'ADN soit transcrit en ARN, eux-mêmes traduits en protéines), et seulement eux, alors que les autres sont réprimés et silencieux. L'ensemble des gènes activés et la combinaison de protéines qui en résulte sont spécifiques d'un type cellulaire donné.

On peut ainsi identifier la « signature » spécifique de n'importe quelle cellule, et on connaît notamment les gènes qui s'expriment spécifiquement dans une cellule souche pluripotente embryonnaire. Citons les plus emblématiques : *Oct4*, *Sox2*, *Nanog*, *Lin28*. Ils y sont fortement exprimés, alors

qu'ils sont éteints dans une cellule souche hématopoïétique ou toute autre cellule souche adulte ou cellule différenciée.

Comment peut-on changer ce programme ? Cela revient à modifier l'organisation du noyau, de façon à rendre accessibles à la machinerie transcriptionnelle (qui transcrit l'ADN en ARN) des gènes jusqu'alors silencieux, et, au contraire, d'« éteindre » d'autres régions géniques en empêchant l'accès. Cette modification du noyau se fait notamment (mais pas seulement) par modification des groupes chimiques portés par des protéines particulières du noyau, les histones, autour desquelles s'enroule l'ADN : ces modifications qui ne touchent pas la séquence de l'ADN sont nommées modifications « épigénétiques ».

Comment peut-on éteindre, par exemple dans un lymphocyte ou une cellule de peau, les gènes actifs qui imposent l'identité lymphocytaire ou épidermique, et y activer *Oct4*, *Sox2*, *Nanog* ? Cette question de la réversibilité de l'état différencié intrigue les chercheurs depuis des décennies. Or, chez l'animal, la reprogrammation est connue depuis 50 ans, et les recherches de S. Yamanaka sur la reprogrammation des cellules adultes humaines en cellules souches pluripotentes sont le prolongement des travaux de John Gurdon, notamment.

Dès les années 1960 (S. Yamanaka n'était pas encore né !), J. Gordon avait montré que le noyau d'une cellule épithéliale intestinale de grenouille, injecté dans un ovocyte d'une autre grenouille dont on avait retiré le noyau, est « reprogrammé » et peut diriger un programme aboutissant à la naissance de grenouilles vivantes. Confirmation éclatante que le génome (la séquence d'ADN) d'une cellule différenciée est équivalent à celui du zygote, et que le cytoplasme de l'ovocyte présente ce pouvoir de reprogrammation.

Il faudra 40 ans pour montrer que ce type de reprogrammation par transfert de noyau est aussi possible chez les mammifères : la brebis Dolly, née en 1997, issue de la reprogrammation d'un noyau d'une cellule mammaire transféré dans l'ovocyte énucléé d'une autre brebis en fut la preuve, tout comme la vache Marguerite obtenue par transfert nucléaire dans l'équipe de Jean-Paul Renard, à l'INRA, en 1998. Ainsi, la découverte de S. Yamanaka ne tient pas tant au concept de reprogrammation qu'à la mise au point d'une

technique beaucoup plus simple que le transfert d'un noyau entier dans un ovocyte. En effet, il suffit, pour reprogrammer une cellule aussi banale qu'un fibroblaste de peau en une cellule souche pluripotente, d'y éteindre le programme qui lui confère son identité de fibroblaste, et de la forcer à exprimer quatre ou cinq gènes qui composent la « signature » des cellules souches embryonnaires pluripotentes.

Les cellules souches pluripotentes induites

Ces cellules souches dites pluripotentes induites présentent les deux caractéristiques des cellules souches embryonnaires humaines : elles prolifèrent à l'infini (on parle de lignées immortelles) et peuvent théoriquement se différencier en tous les tissus de l'organisme. Toutefois, une question reste ouverte : une cellule souche embryonnaire humaine et une cellule souche pluripotente induite sont-elles strictement identiques ? Les opposants à la recherche sur l'embryon le prétendent,

Pour reprogrammer une cellule, on peut introduire le noyau d'une cellule adulte dans un ovocyte dont on a retiré le noyau. Deux autres méthodes sont évoquées ici : la reprogrammation en cellules souches pluripotentes décrite par Shinya Yamanaka et la reprogrammation par transdifférenciation.

La première « réinitialise » une cellule adulte en lui conférant par le biais de quelques facteurs de transcription le potentiel d'une cellule souche pluripotente. Pour ce faire, on introduit dans des cellules différenciées prélevées sur un adulte et mises en culture les facteurs de transcription caractéristiques des cellules souches pluripotentes. Ils « éteignent » les gènes associés à l'identité de la cellule différenciée et remodelent la chromatine de sorte que les gènes imposant l'état pluripotent peuvent s'exprimer (a).

Dans le cas de la transdifférenciation, on force une cellule différenciée à adopter directement l'identité d'une autre cellule différenciée, sans passer par un stade de cellule souche. Par exemple, on peut ajouter à une culture de cellules du pancréas des facteurs de transcription qui vont faire en sorte que les cellules alpha deviennent des cellules bêta des îlots de Langerhans. Après transdifférenciation, on constate que de l'insuline est produite par les cellules qui ont adopté l'identité bêta (b).

mais en l'état actuel des connaissances, c'est inexact car certains aspects de leurs « signatures » moléculaires les distinguent, même si, fonctionnellement, elles sont proches. Rappelons d'abord que les cellules souches embryonnaires humaines et les cellules souches pluripotentes induites sont deux types distincts de cellules souches : l'une est embryonnaire, l'autre issue de cellules adultes ou fœtales ; l'une est une cellule « normale », l'autre est « artificielle » et n'existe pas « naturellement » ; ces cellules se distinguent également par leur statut épigénétique et d'autres caractéristiques moléculaires, qui permettent de les distinguer facilement, sans que l'on sache encore si ces différences traduisent certaines limitations des cellules souches pluripotentes induites par rapport aux cellules souches embryonnaires humaines.

On dispose donc d'une stratégie simple de production de lignées de cellules souches pluripotentes humaines, applicable à grande échelle et, depuis 2007, des centaines de cellules souches pluripotentes induites ont été obtenues, à partir de

presque toutes les cellules de l'organisme, à tout âge – même si la méthode est d'autant moins efficace que le sujet chez qui l'on prélève les cellules à reprogrammer est âgé –, chez des individus normaux ou atteints de divers types de maladies (plus d'une centaine) avec l'espoir de mieux en comprendre les mécanismes physiopathologiques. Ce sera sans doute l'un des principaux apports de ces cellules.

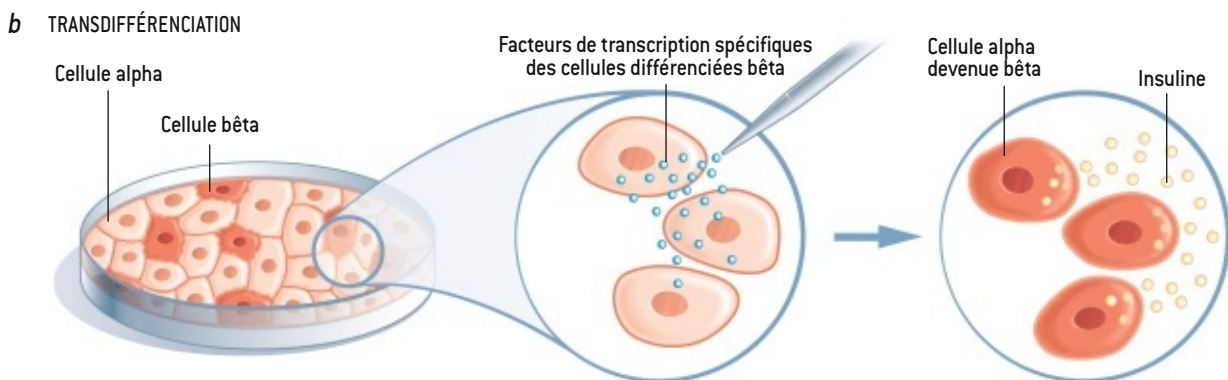
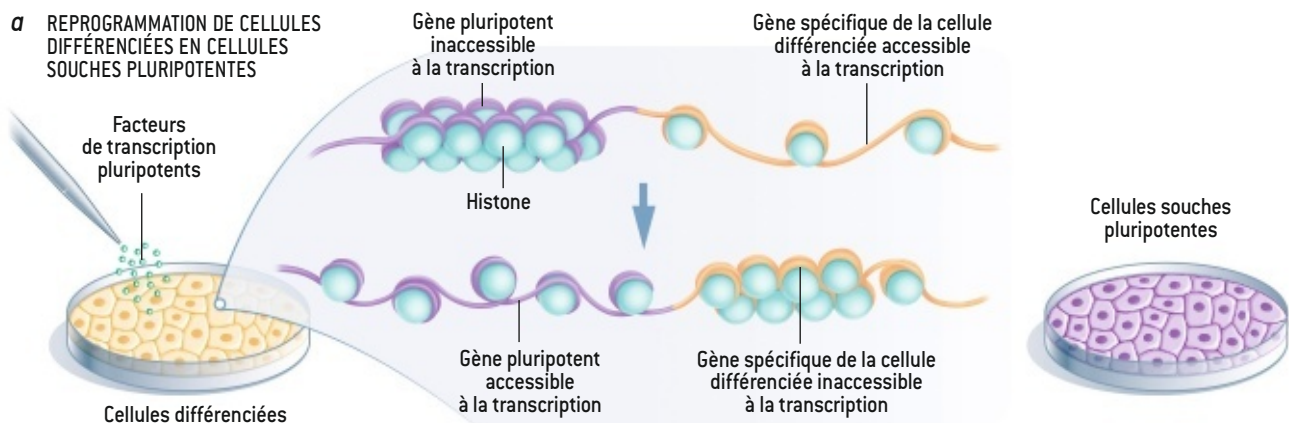
Les premiers essais cliniques

Quelles que soient leurs différences, les cellules souches embryonnaires humaines et les cellules souches pluripotentes induites partagent deux avantages décisifs par rapport aux autres cellules souches adultes ou fœtales : elles prolifèrent à l'infini, et sont donc disponibles en nombre illimité, et on peut – en théorie – déclencher leur différenciation à la demande dans n'importe quel tissu. On doit cependant nuancer ce dernier point : il aura fallu plus de dix ans pour définir les protocoles

guidant la différenciation de cellules souches embryonnaires humaines en cardiomyocytes, en différents types de neurones, en hépatocytes (cellules du foie), ou encore en cellules rétinienne, et, aujourd'hui encore, les cellules différenciées obtenues fonctionnent souvent moins bien que leurs contreparties dans les tissus adultes : par exemple, les cellules bêta du pancréas, issues de cellules souches pluripotentes, ne synthétisent pas suffisamment d'insuline et ne sont pas assez sensibles au glucose dont elles doivent pourtant réguler la concentration sanguine ; les hépatocytes n'expriment pas toute la panoplie des enzymes que le foie sécrète normalement.

Néanmoins, trois essais cliniques viennent de commencer aux États-Unis et au Royaume-Uni avec des cellules dérivées de cellules souches embryonnaires humaines dans deux pathologies de la rétine (la dégénérescence maculaire liée à l'âge et la dystrophie maculaire de Stargardt) et dans les lésions traumatiques de la moelle épinière. D'autres essais pourraient

LA REPROGRAMMATION



Amandine Wanet

■ BIBLIOGRAPHIE

D. Robinton et G. Daley, **The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy**, *Nature*, vol. 481, pp. 295-305, 2012.

A. Wagers, **The stem cell niche in regenerative medicine**, *Cell Stem Cell*, vol.10(4), pp. 362-369, 2012.

G. Daley, **The promise and perils of stem cell therapeutics**, *Cell Stem Cell*, vol.10(6), pp. 740-749, 2012.

P. Charbord et L. Casteilla, **La biologie des cellules souches mésenchymateuses d'origine humaine**, *Med. Sci.*, vol. 27(3), pp. 261-267, 2011.

S. Yamanaka et H. Blau, **Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches**, *Nature*, vol. 465, pp. 704-712, 2010.

L. Coulombel, **Pluripotence : une définition à géométrie variable**, *Med. Sci.*, vol. 25(10), pp. 798-801, 2009.

LES CELLULES THÉRAPEUTIQUES devront être introduites au bon endroit, s'intégrer dans le tissu à réparer et établir d'étroites connexions avec les cellules de l'hôte.

commencer bientôt en France. Même si ces essais évaluent avant tout la faisabilité de la technique et l'innocuité des cellules, on pourrait avoir quelques indications sur leur efficacité, en particulier sur la vision, dans les deux essais s'adressant aux pathologies rétinienne.

Nous sommes très loin d'essais thérapeutiques avec les cellules souches pluripotentes induites – même si l'équipe de S. Yamanaka envisage un essai en 2013 dans une maladie rétinienne –, mais les « recettes » de différenciation étant probablement transposables entre cellules souches embryonnaires et cellules souches pluripotentes induites, on devrait savoir assez rapidement si ces cellules représentent une source possible de cellules progénitrices tissulaires. Plusieurs années de travail et d'essais chez l'animal seront nécessaires pour évaluer l'efficacité réparatrice des cellules dérivées des cellules souches embryonnaires humaines et, éventuellement, des cellules souches pluripotentes induites.

Parmi toutes les questions qui se posent, évoquons celle du type de cellule à choisir dans le cadre d'une application de thérapie cellulaire. Il n'est pas envisageable d'utiliser les cellules souches pluripotentes elles-mêmes, car, en raison de leur pouvoir de multiplication, elles forment des tumeurs ; probablement pas non plus des cellules complètement

thérapeutiques si l'on ignore où et comment les injecter : s'ils ne sont pas introduits au bon endroit, ils ne survivront que quelques heures, ne s'intégreront pas dans le tissu et n'établiront pas les indispensables connexions avec les cellules de l'hôte.

Les bonnes cellules au bon endroit

Cette étape clé fait l'objet de nombreuses recherches. Une des approches consiste à insérer les cellules du greffon dans une petite niche reconstituée, faite de cellules nourricières et protectrices (par exemple des cellules souches mésenchymateuses), intégrées dans des supports résorbables imprégnés de facteurs de croissance.

Ce montage protège les progéniteurs greffés dans le milieu hostile que représente un tissu malade : mal vascularisé, donc mal « nourri », siège d'une inflammation ou d'une cicatrice fibreuse, toutes conditions défavorables à la survie et à l'installation de cellules réparatrices. On pourra peut-être un jour fabriquer de vrais organes ou fragments d'organes *ex vivo*, qui seraient ensuite greffés : ainsi, on a récemment reconstruit, à partir de cellules souches embryonnaires murines, l'organisation tridimensionnelle de cupules rétinienne, et de glandes hypophysaires ou thyroïdes.

Les cellules souches embryonnaires, parce qu'elles ont la capacité de se multiplier sans fin, présentent, nous l'avons évoqué, le risque de provoquer une tumeur. Ce serait le cas si le greffon était contaminé par quelques cellules souches immortelles et pluripotentes résiduelles ayant échappé à la différenciation. Pour cette raison, on exige une purification draconienne des précurseurs déjà engagés dans la voie de la différenciation et qui constitueront le greffon. Il est difficile aujourd'hui d'évaluer si ce risque serait plus important si les précurseurs étaient issus de la différenciation de cellules souches pluripotentes induites. Le caractère « brutal » de la reprogrammation peut entraîner une instabilité génétique et, peut-être, des modifications épigénétiques ou une expression anormale de certains gènes dont on mesure encore mal l'impact à long terme. Ainsi, on sait d'ores et déjà que la stratégie de reprogrammation utilisant des rétrovirus comme vecteurs des facteurs de transcription ne serait pas utilisable en pratique.

différenciées, car la réparation ne durerait pas longtemps en raison de la courte durée de vie de ces cellules et de leur fragilité. En revanche, on peut supposer que des précurseurs déjà engagés dans un processus de différenciation, correspondant approximativement aux cellules souches adultes, seraient préférables : non seulement ces cellules seraient susceptibles de fonctionner pendant un certain temps chez le receveur, mais elles pourraient aussi s'y différencier plus efficacement qu'en culture.

De surcroît, on oublie trop souvent qu'il ne servira à rien de savoir produire des millions de précurseurs de cellules

Le risque de rejet immunologique, si les cellules greffées sont génétiquement différentes de celles du receveur, peut être maîtrisé par des immunosuppresseurs, mais ceux-ci présentent des inconvénients. Les cellules issues de cellules souches pluripotentes induites présentent un avantage important par rapport à celles qui dérivent de cellules souches embryonnaires humaines, puisqu'on peut les obtenir à partir des propres cellules de chaque patient, ce qui, en théorie, élimine tout risque de rejet immunologique, le donneur et le receveur étant une seule et même personne.

Toutefois, d'une part, la reprogrammation pourrait déclencher l'expression de nouveaux antigènes, susceptibles de provoquer une réaction immunologique, et, d'autre part, le coût de cette dérivation « personnalisée et individuelle » soulève des difficultés logistiques et économiques qui seront difficiles à surmonter. Et il est probable que si les cellules issues de la différenciation des cellules souches pluripotentes (embryonnaires ou reprogrammées) constituent un jour des produits thérapeutiques largement diffusés, elles

seront préparées et validées par le biais de biobanques nationales ou internationales. Ces structures semblent seules capables de produire et de stocker des cellules thérapeutiques représentatives de la diversité des différents groupes immunologiques de tissus selon des protocoles standardisés et sécurisés. Cela nécessitera l'élaboration de nouveaux modèles médico-économiques, et soulèvera la question de l'accès pour tous à ces thérapies.

Quel avenir pour les cellules souches ?

D'importants progrès ont été accomplis en un demi-siècle dans nos connaissances en matière de cellules souches. Quelles sont les limites des reprogrammations cellulaires ? La reprogrammation peut conférer l'immortalité à une cellule, mais pas à un individu. Est-il même nécessaire de reprogrammer une cellule différenciée en une cellule souche pluripotente, qui devra ensuite se différencier à nouveau, de façon parfois périlleuse ? Le chemin pourrait-il être raccourci et simplifié ? C'est

ce que montrent des travaux récents, qui reprogramment « directement » un fibroblaste en un cardiomyocyte, ou en un hépatocyte, voire un neurone... sans passer par la case « cellule souche ». Peut-être pourra-t-on un jour appliquer cette « transdifférenciation » *in situ*, comme vient de le faire une équipe américaine en reprogrammant des cellules du pancréas de rat en cellules bêta qui sécrètent l'insuline, et ce directement dans le tissu *in vivo* (voir l'encadré pages 86-87).

Dans 20 ans, nous ne serons toujours pas immortels, mais quoi qu'il arrive les recherches actuelles sur les cellules souches seront source de progrès décisifs pour la médecine, tant pour « réparer » des tissus, que pour concevoir des modèles de maladies humaines ou cribler de nouveaux médicaments, ce que permettent déjà les cellules souches pluripotentes. Dans ce cadre, la diversité des cellules souches dont nous disposons, et la complémentarité des talents travaillant dans ce domaine seront des atouts déterminants pour le succès de ces approches qui ne semblent plus aujourd'hui hors de portée. ■

france culture

LA MARCHÉ DES SCIENCES

Découvertes, inventions, aventures savantes au fil de l'Histoire

Aurélie Luneau
14h-15h / chaque jeudi

franceculture.fr

SCIENCE

Des prothèses pilotées par la pensée

Miguel Nicolelis

Le premier exosquelette commandé par la pensée et permettant à une personne paralysée de se déplacer pourrait bientôt être opérationnel...

En 2014, lors de la coupe du monde de football, des milliards de téléspectateurs assisteront peut-être à un événement inédit : le coup d'envoi du match d'ouverture donné par un adolescent paralysé, revêtu d'un « costume » robotique. Ce costume – ou exosquelette – enveloppera ses jambes et sera commandé par des signaux électriques provenant de son cerveau (voir l'encadré page 93). Ils seront transmis sans fil à un petit ordinateur (placé dans un sac à dos), qui les traduira en commandes motrices.

À l'entrée sur le terrain, l'exosquelette stabilisera le corps du tireur, puis coordonnera les mouvements des jambes robotiques. Lorsqu'il sera correctement placé, le tireur devra penser à son pied tapant le ballon. Trois cents millisecondes plus tard, des signaux cérébraux donneront au pied robotique de l'exosquelette l'ordre de frapper la sphère de cuir.

Les défis à surmonter sont encore considérables, mais nous y travaillons activement, avec mon équipe de l'Université Duke, aux

L'ESSENTIEL

- On sait diriger divers dispositifs (curseurs d'ordinateurs, bras robotiques...) « par la pensée ». Pour ce faire, on enregistre au préalable des signaux cérébraux correspondant à des commandes motrices.
- On espère construire un exosquelette commandé de la sorte, qui permettrait à un paraplégique de marcher.
- Cet exosquelette pourrait être présenté à la Coupe du monde de football de 2014, au Brésil.

États-Unis, ainsi qu'avec des partenaires européens et brésiliens. Un tel événement marquerait une étape importante dans la lutte contre la paralysie. Il montrerait à plusieurs milliards d'individus que la commande de machines par le cerveau a quitté le stade des démonstrations de laboratoire et de la science-fiction pour entrer dans une ère nouvelle, où elle rendra une certaine mobilité à des personnes handicapées. Celles-ci sont des victimes d'accident ou de guerre, et des patients souffrant de maladies qui perturbent les comportements moteurs. Ces maladies gênent la préhension, la locomotion et la parole. Il s'agit par exemple de la sclérose latérale amyotrophique, ou maladie de Charcot (aux États-Unis, elle est aussi nommée maladie de Lou Gehrig), ou encore de la maladie de Parkinson.

Les dispositifs neuroprothétiques – ou interfaces cerveau-machine – ne se limiteront pas à l'aide aux personnes handicapées : ils permettront d'explorer le monde de façon nouvelle, en accroissant les capacités