

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

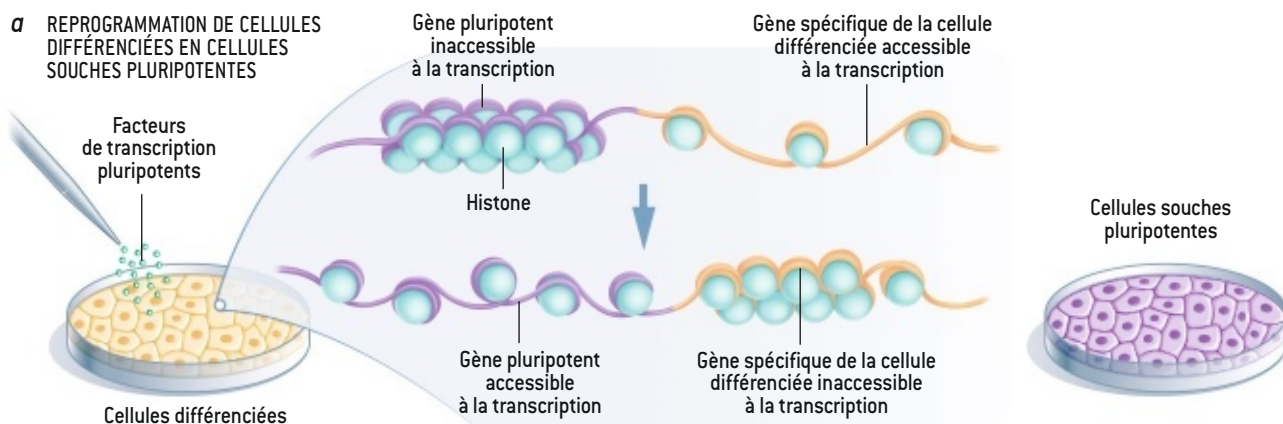
Quelles que soient leurs différences, les cellules souches embryonnaires humaines et les cellules souches pluripotentes induites partagent deux avantages décisifs par rapport aux autres cellules souches adultes ou fœtales : elles prolifèrent à l'infini, et sont donc disponibles en nombre illimité, et 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.

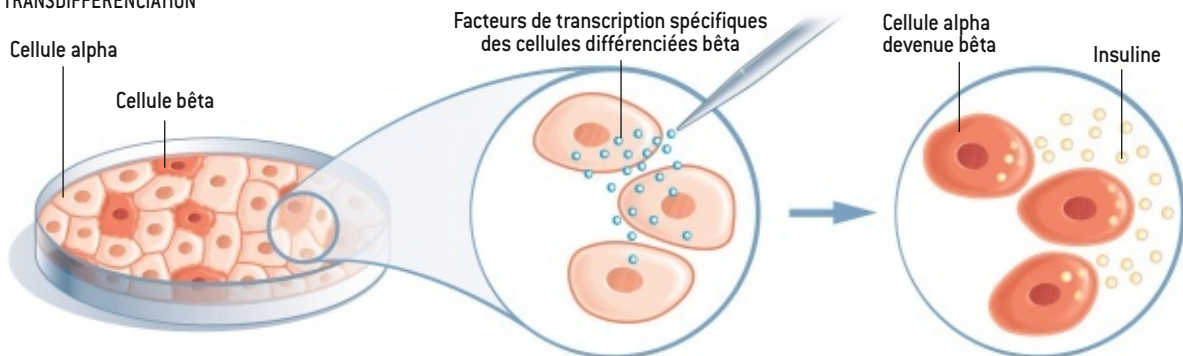
Néanmoins, trois essais cliniques viennent de commencer aux États-Unis et au Royaume-Uni avec des cellules dérivées de cellules souches embryonnaires humaines dans deux pathologies de la rétine (la dégénérescence maculaire liée à l'âge et la dystrophie maculaire de Stargardt) et dans les lésions traumatiques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

LA REPROGRAMMATION

a REPROGRAMMATION DE CELLULES DIFFÉRENCIÉES EN CELLULES SOUCHES PLURIPOTENTES



b TRANSDIFFÉRENCIATION



Amandine Wanet