

Dans l'embryon, les cellules neuroépithéliales forment des structures cérébrales spécifiques, après avoir reçu des signaux chimiques externes. L'un de ces signaux déclenche le développement du diencephale, qui engendrera la rétine et l'hypothalamus (une aire cérébrale contrôlant l'appétit et de nombreuses fonctions physiologiques fondamentales). Après avoir fait s'agréger les cellules en sphères, nous avons provoqué leur différenciation en progéniteurs rétiniens – les précurseurs des cellules rétiniennes matures. Pour ce faire, nous avons ajouté à notre culture un mélange de protéines, incluant celles qui assurent ce rôle chez l'embryon.

Quelques jours plus tard, des structures semblables à la vésicule optique ont spontanément « bourgeonné » sur les sphères, avant de changer de forme : la structure finale ressemblait à la cupule optique de l'œil embryonnaire (voir l'encadré page 62). Comme la cupule optique des animaux vivants, cette structure issue de cellules souches embryonnaires se composait de deux parois (deux épithéliums), l'une extérieure et l'autre intérieure ; c'est cette dernière qui est à l'origine de la rétine.

Ainsi, une structure ordonnée est née de la seule agrégation de cellules souches dans un récipient. Contrairement à ce qui se passe chez l'embryon, il ne se formait pas de cristallin ou de lentille au voisinage de la cupule optique. Nos travaux montrent donc qu'aucune force exercée par des tissus voisins (tel le cristallin) n'est nécessaire à

la formation de la protorétine. Au moins *in vitro*, c'est un phénomène auto-organisé, fondé sur un programme interne des cellules. Ce programme est encodé dans leur ADN, et nous travaillons à préciser ses mécanismes d'action.

■ L'AUTEUR



Yoshiki SASAI est directeur du groupe d'organogenèse et de neurogenèse au Centre de biologie du développement du RIKEN, à Kobe, au Japon.

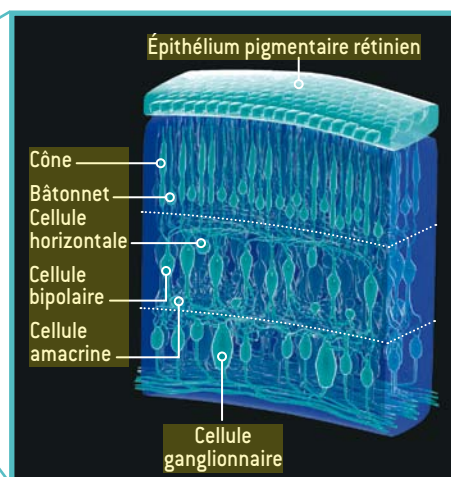
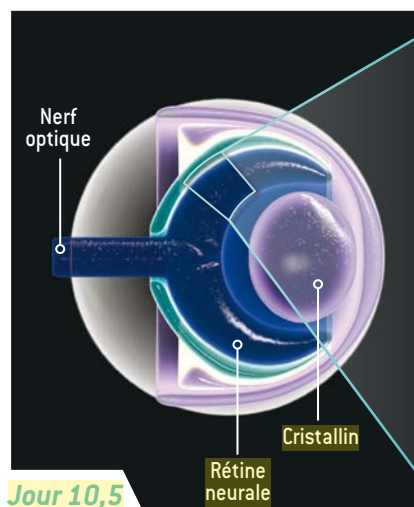
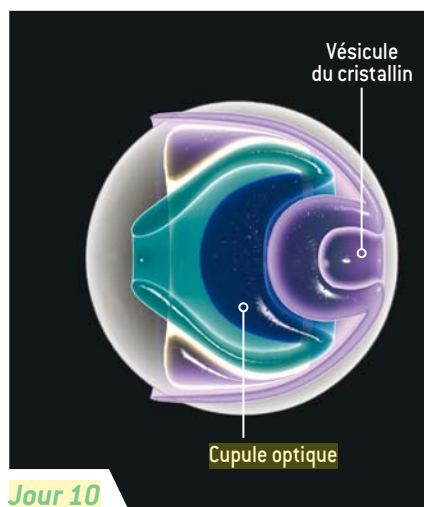
■ SUR LE WEB

Plus d'information sur Y. Sasai et ses recherches : www.ScientificAmerican.com/nov2012/sasai

L'apparition spontanée d'une structure stratifiée

Le développement normal de la rétine, tel qu'on l'observe chez les embryons, s'est poursuivi dans nos cultures. En deux semaines supplémentaires, la cupule optique a grandi jusqu'à environ deux millimètres de diamètre, et l'épithélium monocouche interne est devenu une structure stratifiée, contenant les six catégories de cellules d'une rétine naturelle après la naissance. L'une des couches extérieures de cette structure était constituée de photorécepteurs et l'autre de cellules dites ganglionnaires, qui, dans le corps, relie la rétine au cerveau. Entre les deux se trouvaient plusieurs couches de cellules de liaison, nommées interneurons.

De nombreuses questions demeurent, notamment sur la façon dont une boule de cellules entre dans un programme de différenciation, qui aboutit à des tissus distincts. Tout au long du développement embryonnaire, des formes complexes apparaissent spontanément à partir d'amas de matière homogène – on parle de brisure



de symétrie. En l'absence de ce phénomène, les divisions cellulaires de l'œuf fécondé n'engendreraient qu'une masse indifférenciée de cellules. Nos cultures de cellules souches embryonnaires qui s'auto-organisent devraient aider à mieux comprendre les mécanismes en jeu dans les brisures de symétrie.

On cherche également à mieux comprendre comment s'effectue le modelage de la cupule optique à partir d'une simple couche de cellules (l'épithélium rétinien). La force qui s'applique sur les cellules et la rigidité varient dans l'épithélium. En mesurant *in vitro* la direction de la force et la rigidité du tissu en différents endroits, nous avons découvert que la cupule optique se forme en plusieurs étapes. Tout d'abord, la rigidité de la protorétine diminue, ce qui accroît sa flexibilité. Dans le même

Des essais cliniques de thérapie cellulaire pour un type de dégénérescence rétinienne ont débuté aux États-Unis.

temps, les cellules qui se trouvent à la jonction de l'épithélium (la boule dont a bourgeonné la rétine) et de la protorétine adoptent une forme en coin. Finalement, la protorétine commence à se replier vers l'intérieur en raison de sa rapide extension. Nous avons appliqué les conditions mécaniques correspondantes à une simulation sur ordinateur, et la forme de la cupule optique est apparue !

Pour y voir plus clair...

Nos travaux aideront-ils à lutter contre les troubles oculaires humains ? Nous avons progressé dans cette voie. En particulier, mon équipe a récemment recréé une cupule optique et un tissu neuronal à couches multiples à partir de cellules souches embryonnaires humaines. La même méthode de culture devrait être applicable à des cellules souches humaines dites pluripotentes induites – des cellules matures et différenciées dont on a « inversé » le développement pour qu'elles se comportent comme des cellules souches embryonnaires. Nous avons également inventé une méthode fiable de cryoconservation, qui permet de stocker du tissu rétinien issu de cellules embryonnaires humaines dans de l'azote liquide.

Ces travaux promettent des applications médicales. Par exemple, nous pourrions créer des rétines artificielles, qui aideront à étudier les maladies de l'œil et, peut-être, à développer des médicaments et des thérapies géniques pour inverser la dégénérescence rétinienne.

Trois catégories de dégénérescence rétinienne pourraient bénéficier de nos recherches : la dégénérescence maculaire, la rétinopathie pigmentaire et le glaucome. Ces maladies touchent des millions d'individus à travers le monde et altèrent des couches différentes de la rétine.

Dans la dégénérescence maculaire, un tissu nommé épithélium pigmentaire rétinien est endommagé : ce tissu tapisse le fond de la rétine et supporte les photorécepteurs, qui se détériorent également, en particulier dans la région centrale de la rétine.

Dans la rétinopathie pigmentaire, les bâtonnets (un type de photorécepteurs) disparaissent progressivement pendant plusieurs années. La maladie se manifeste d'abord par une cécité nocturne, ou héméralopie, puis le champ visuel se réduit jusqu'à se limiter à une petite zone au centre, avant que le patient ne devienne totalement aveugle.

UNE RÉTINE À PARTIR DE CELLULES SOUCHES

La formation d'une rétine à partir d'une culture de cellules souches embryonnaires ressemble à ce qui se produit dans l'utérus. Les cellules s'agrègent et commencent à former la vésicule optique « primitive » environ cinq jours après avoir été mélangées avec des substances nommées facteurs de croissance. Cette vésicule gonfle, puis forme la cupule optique. Le 24^e jour, toutes les couches de la rétine sont visibles.

