

Hépatologie-Hématologie, un rien les sépare

Au grand dam des hématologistes, la moelle osseuse ne peut plus être considérée comme un tissu strictement hématopoïétique, puisqu'au fil des articles, elle se révèle un réservoir incroyablement riche en cellules souches variées, contribuant à la formation de tissu nerveux central, d'os, de cartilage, de muscle squelettique, de vaisseaux, et de foie qui nous occupe ici. Cette observation va-t-elle pour autant introduire un peu de transversalité dans nos disciplines médicales ? Hépatologie et hématologie ne diffèrent que par une seule lettre, et les pathologies qui relèvent de l'une retentissent souvent sur l'autre, mais il n'était venu à l'idée de personne de réparer un foie par une transplantation de moelle osseuse. Or trois équipes américaines [3] démontrent aujourd'hui sans ambiguïté qu'existent bien dans la moelle osseuse des cellules qui se différencient en hépatocytes, cellules biliaires et peut-être cellules ovales, un progéniteur commun aux cellules épithéliales des canalicules biliaires et aux hépatocytes [1-3]. Il faut rappeler que lorsqu'une lésion hépatique est créée dans un foie sain, par le biais d'une hépatectomie partielle des 2/3 par exemple, les hépatocytes mûrs (sous réserve qu'ils soient normaux) réagissent immédiatement, sortant de leur quiescence en quelques heures, et remplaçant l'intégralité du tissu manquant en une semaine chez le rat, ce qui témoigne d'une activité de prolifération considérable. L'efficacité des hépatocytes est telle qu'il est nécessaire d'en neutraliser la prolifération dans les modèles expérimentaux pour espérer identifier la contribution d'autres cellules à la réparation du foie. Si l'animal est traité par 2-AAF (2-acétylamino-fluorène), qui bloque la prolifération des hépatocytes, une autre population cellulaire, appelée cellules ovales en

raison de leur morphologie particulière, et retrouvée dans certaines régions hépatiques (canaux de Héring, épithélium biliaire), se mobilise. Ces cellules sont des progéniteurs bipotents, capables de se différencier en cellules épithéliales des canalicules biliaires et en hépatocytes. Deux modèles expérimentaux ont été utilisés par les trois équipes américaines pour démontrer la participation de cellules de moelle osseuse à la réparation hépatique. Petersen *et al.* [1] utilisent un modèle de rat : ils induisent chez ces animaux une destruction hépatique chimique par le tétrachlorure de carbone (CCL4), et inhibent la prolifération hépatocytaire par le 2-AAF. Malheureusement, cette stratégie n'est pas utilisable chez la souris, et le groupe de I.L. Weissman, associé à celui de M. Grompe [2] utilise un modèle murin de tyrosinémie par déficit en fumarylacétoacétatehydrolase (FAH). Les souris mutantes (*FAH*^{-/-}) ont une cytolysse hépatique importante et permanente, qui entraîne la mort à moins que les animaux ne soient traités par un agent pharmacologique, ou greffés avec des hépatocytes normaux. Le principe expérimental est le même dans les trois études : la première étape consiste à greffer l'animal receveur irradié (généralement de sexe femelle) avec la moelle osseuse du donneur (généralement de sexe mâle), selon un protocole standard (*figure 1*). Les cellules du donneur se distinguent de celles de l'hôte par des marqueurs soit génétiques, chromosome Y, transgène rapporteur (gène *lacZ* dans le cas des souris ROSA26), soit antigéniques (rats Lewis Ly21.6). Une fois la reconstitution hématopoïétique acquise, dont témoigne un chimérisme de plus de 50 % dans la moelle osseuse et/ou le sang, 8-10 semaines après la greffe, on induit chez le

receveur une lésion hépatique. Dans le cas de l'étude de Petersen, la destruction hépatique est induite par le tétrachlorure de carbone (CCL4) et sa réparation spontanée par les hépatocytes résiduels est freinée par l'administration de 2-AAF, ce qui stimule l'intervention des cellules ovales. Dans le modèle de Markus Grompe, la cytolysse hépatique est permanente en raison du défaut métabolique. Theise quant à lui, ne bloque pas la réparation endogène [3]. Dans tous les cas, les hépatocytes sont identifiés en histochimie par des marqueurs spécifiques (cytokératine 18, albumine...) et leur origine définie par la reconnaissance des marqueurs. Or la surprise a été, dans les trois études, de trouver qu'une proportion non négligeable des hépatocytes, des cellules formant les canalicules biliaires, et des cellules ovales exprimaient le(s) marqueur(s) spécifique(s) des cellules du donneur de moelle simultanément aux marqueurs hépatiques spécifiques. Il est à noter qu'aucun marqueur hématopoïétique n'était exprimé sur ces hépatocytes. L'équipe de Petersen a confirmé ces données par une stratégie inverse : le foie d'un rat normal a été greffé à des receveurs, puis, comme précédemment, une lésion hépatique a été induite, complétée par l'inhibition de la prolifération hépatocytaire. Une partie des cellules épithéliales biliaires et hépatocytaires provenait également du receveur et était donc forcément d'origine extra-hépatique, sans que l'on puisse dans cette étude préciser le tissu d'origine. Dans le cas du modèle de la souris *FAH*^{-/-}, 6 mois après transplantation de 1×10^6 cellules médullaires, on dénombrait dans le foie 50 à 200 nodules hépatiques provenant du donneur, mesurant chacun 0,5-4 mm de diamètre, occupant 30-50 % de la masse hépatique (réduite chez ces

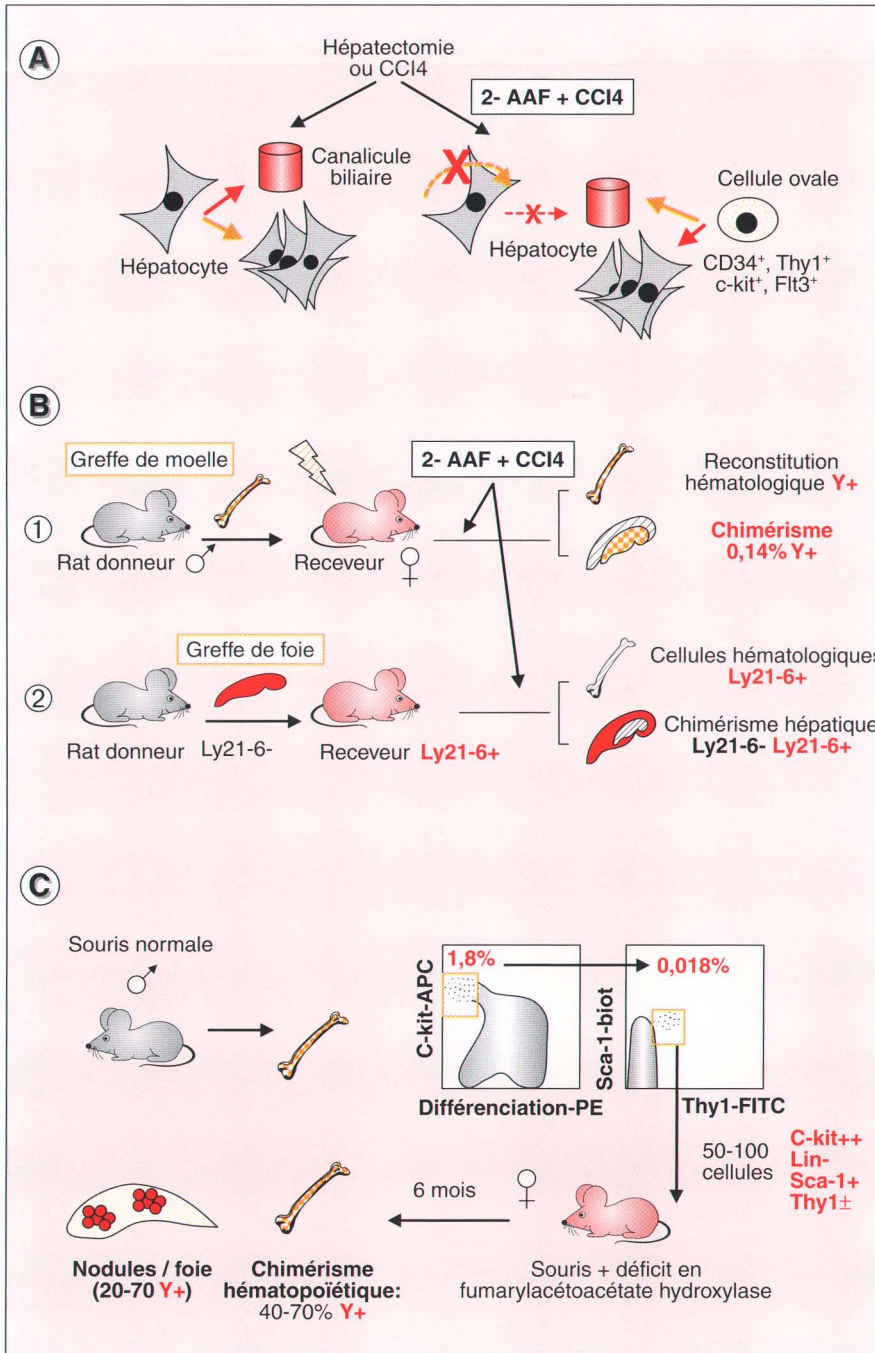


Figure 1. **Stratégies expérimentales utilisées pour démontrer le potentiel hépatique de cellules de la moelle osseuse.** **A.** Normalement, en cas d'agression hépatique (induite par exemple par le tétrachlorure de carbone CCl4, ou par une hépatectomie partielle) l'hépatocyte mûr prolifère et répare la lésion en produisant des hépatocytes et des cellules épithéliales biliaires. La contribution d'autres cellules à la réparation hépatique ne peut être appréciée que si l'on bloque la prolifération des hépatocytes mûrs par du 2-AAF, traitement qui n'est efficace que chez le rat. **B.** La stratégie utilisée par Petersen [1] consistait à greffer de la moelle osseuse de rat mâle (Y+) à des rattes femelles irradiées, ou à greffer à un receveur Ly21-6(+) le foie d'un donneur Ly21-6(-). Les receveurs étaient traités par CCl4 et 2-AAF. L'existence d'un chimérisme au niveau du foie (présence de cellules Y dans le premier cas, ou Ly21-6(+) dans le second) attestait de la contribution de cellules médullaires du donneur, ou de cellules de l'hôte, respectivement, à la réparation hépatique. **C.** La stratégie de Lagasse [2] consistait à greffer des souris receveuses irradiées avec différentes fractions de la moelle osseuse d'un donneur mâle. La fraction Sca-1⁺Lin⁻Thy-1⁻c-kit⁺⁺, était purifiée par cytométrie en flux en deux étapes: un premier tri sélectionne les cellules c-kit⁺⁺, Lin⁻, qui sont ensuite re-triées pour isoler les cellules Sca-1⁺Thy-1⁻. Un petit nombre de cellules de cette fraction (ou un nombre plus important provenant des fractions Lin⁻ ou Sca-1⁺) étaient injectées à des souris receveuses ayant une cytolysse hépatique continue par déficit en fumarylacétoacétate hydroxylase. La reconstitution hématopoïétique (100% des animaux), et la présence de nodules hépatiques provenant de la fraction médullaire du donneur (Y+) était analysée plusieurs mois après greffe.

animaux), et fonctionnels puisque la fonction hépatique était très améliorée en l'absence de traitement substitutif.

Deux études récentes, rétrospectives, de Theise [4] et Alison [5, 6] suggèrent qu'il en est probablement de même chez l'homme. Les analyses ont été faites sur des coupes histologiques de foie de patients ayant subi

soit une greffe de moelle soit de foie et identifient l'origine donneur des hépatocytes sur leur expression du chromosome Y au sein du parenchyme. Toutefois, les données sont encore peu précises.

Les études chez l'animal confirment donc sans ambiguïté la contribution à la réparation hépatique de cellules d'origine médullaire, qui ne se trou-

vent pas initialement dans le foie. Deux questions se posent. L'une est fondamentale: y a-t-il un progéniteur commun aux systèmes hématopoïétique et hépatocyttaire? Ceci pourrait paraître une hérésie car les cellules hématopoïétiques sont d'origine mésodermique et le foie d'origine endodermique. Cependant, les embryologistes ont eux-mêmes

accepté depuis peu que cette ségrégation initiale entre feuillet embryonnaires puisse être transgressée. A ce stade de l'expérimentation, on n'en sait pas plus quant à l'existence d'un ou de plusieurs progéniteurs, mais Weissman et Grompe font un pas de plus : ils démontrent que la fraction cellulaire de phénotype Sca-1⁺Lin⁻thy1⁺ckit⁺⁺, qui représente moins de 0,01 % des cellules mononucléées de la moelle osseuse, et qui est très enrichie en cellules souches hématopoïétiques puisque 10-50 cellules reconstituent complètement le système hématopoïétique d'une souris irradiée, participe à la formation de nodules hépatiques. Leur résultat est assez impressionnant : des hépatocytes issus de la moelle osseuse des donneurs étaient détectés dans le foie des 5 receveurs ayant reçu 100 cellules Sca-1⁺Lin⁻thy1⁺ckit⁺⁺. Plus de 70 nodules hépatiques d'origine donneur étaient comptés dans le foie de receveurs transplantés plusieurs mois auparavant avec 20 000 cellules soit Sca1⁺, soit Lin⁻, soit c-kit⁺⁺, chacune de ces fractions représentant moins de 5 % des cellules initiales de moelle osseuse, et chacune incluant les cellules souches hématopoïétiques. Ceci confirme que la capacité d'acquérir un phénotype épithélial hépatocytaire est restreinte à une fraction rare, qui ségrège en même temps que les cellules souches hématopoïétiques. Toutefois, en l'absence d'analyse clonale, on ne peut pas affirmer que cellules hématopoïétiques et cellules épithéliales hépatiques proviennent d'un progéniteur commun. Il faut attendre pour cela soit l'analyse du potentiel de cellules uniques, soit l'analyse du polymorphisme des sites d'insertion d'un rétrovirus, deux stratégies très utilisées pour démontrer la multipotence de cellules uniques dans le système

hématopoïétique, et que le groupe de Weissman a sûrement entreprises. La seule constatation de l'expression par les cellules ovales de l'antigène CD34 et des récepteurs c-kit (récepteur de la cytokine SCF, ou *stem cell factor*) et flt-3 [6] qu'expriment aussi les cellules souches hématopoïétiques n'est pas un argument suffisant en faveur d'une origine commune, ces deux antigènes n'ayant aucune spécificité tissulaire. Quel que soit le résultat des études de clonalité, ceci n'exclurait quand même pas la possibilité que l'activité « hépatogène » puisse se trouver dans la « fraction stromale » dans la moelle osseuse [7]. Weissman exclut cette possibilité, mais au vu des seules données publiées, cela reste possible. On peut aussi imaginer que les précurseurs hépatiques n'appartiennent ni à l'une ni à l'autre de ces fractions, mais séjournent dans la moelle sans y avoir de fonction, ou transitent par la moelle, tissu extrêmement vascularisé.

Seconde question d'importance pour une réflexion thérapeutique : cette contribution de cellules de moelle osseuse à la réparation du tissu hépatique, si elle est indiscutable, est peu importante, et on ne sait pas si elle permet une correction suffisante du trouble métabolique des *FAH*^{-/-} pour leur permettre de survivre en l'absence de traitement substitutif. Si elle s'avère marginale, ce qui est probable, il faudra alors envisager d'essayer accroître la population d'intérêt *ex vivo* en culture, ou, pourquoi pas, *in vivo*. Dernière question épineuse, qu'en est-il de la nécessité d'une reconstitution hématopoïétique préalable par l'intermédiaire d'une greffe de moelle osseuse ? Nul ne peut répondre actuellement et on ne peut exclure que les cellules colonisent le foie très rapidement lors de

la circulation des progéniteurs injectés par voie intraveineuse. Nous aurons probablement une réponse à toutes ces questions dans les mois qui viennent. Enfin, on connaît l'existence d'un microchimérisme hématopoïétique médullaire y compris dans la population CD34⁺ après transplantation de foie [8], mais il ne viendrait à l'idée de personne d'imaginer que ceux-ci proviennent d'hépatocytes...

1. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, *et al.* Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-70.
2. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimiy M, *et al.* Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med* 2000; 6: 1229-34.
3. Theise ND, Badve S, Saxena R, *et al.* Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000; 31: 235-40.
4. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, *et al.* Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32: 11-6.
5. Alison MR, Golding M, Sarraf CE, Edwards RJ, Lalani EN. Liver damage in the rats induces hepatocyte stem cells from biliary epithelial cells. *Gastroenterology* 1996; 110: 1182-90.
6. Alison MR, Poulson R, Jeffery R, *et al.* Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000; 406: 257.
7. Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, *et al.* Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 500-4.
8. Nierhoff D, Horvath HC, Mytilineos J, *et al.* Microchimerism in bone marrow-derived CD34(+) cells of patients after liver transplantation. *Blood* 2000; 96: 763-7.

Laure Coulombel

Inserm U. 474, Maternité Port-Royal, 174, boulevard de Port-Royal, 750114 Paris, France.