

De la moelle aux épithéliums avec... une seule cellule souche !

Nous rapportons récemment dans ces colonnes l'extraordinaire capacité de cellules issues de la moelle osseuse à se différencier en cellules épithéliales du foie (*m/s* 2001, n° 4, p. 491). Cette capacité de certaines cellules médullaires à adopter, après transplantation *in vivo*, les voies de différenciation caractéristiques du tissu nerveux [1, 2], musculaire, osseux ou vasculaire [3] pour ne citer que les plus inattendus, a également été décrite très récemment. La moelle hébergeant de multiples types cellulaires, y compris non hématopoïétiques, une question fondamentale reste néanmoins en suspens: les cellules hématopoïétiques nées et produites dans la moelle osseuse, et les cellules spécialisées tissulaires périphériques, épithéliales du foie, neurones, cellules gliales, issues de ces cellules médullaires proviennent-elles d'un progéniteur commun localisé dans la moelle osseuse? En d'autres termes, si l'on prend l'exemple du foie, une seule de ces cellules est-elle à la fois à capable de reconstituer le système hématopoïétique et de se différencier en cellules épithéliales tissulaires? Il semble que, au moins dans certains cas, l'on puisse répondre par l'affirmative à cette question. En effet, une équipe américaine vient de procéder à l'analyse du potentiel de cellules souches médullaires uniques après leur transplantation *in vivo* [4]. Le protocole expérimental est fort astucieux (*figure 1*), car il sélectionne, parmi les cellules transplantées initialement, celles qui ont migré dans la moelle osseuse: les cellules médullaires de souris mâles, débarrassées des cellules différenciées (*Lin*⁻) sont séparées par élutriation [5] et la fraction connue pour être enrichie en cellules souches hématopoïétiques est marquée par un fluorochrome membranaire (PKH26), qui persiste tant que les cellules ne se divisent pas. Les

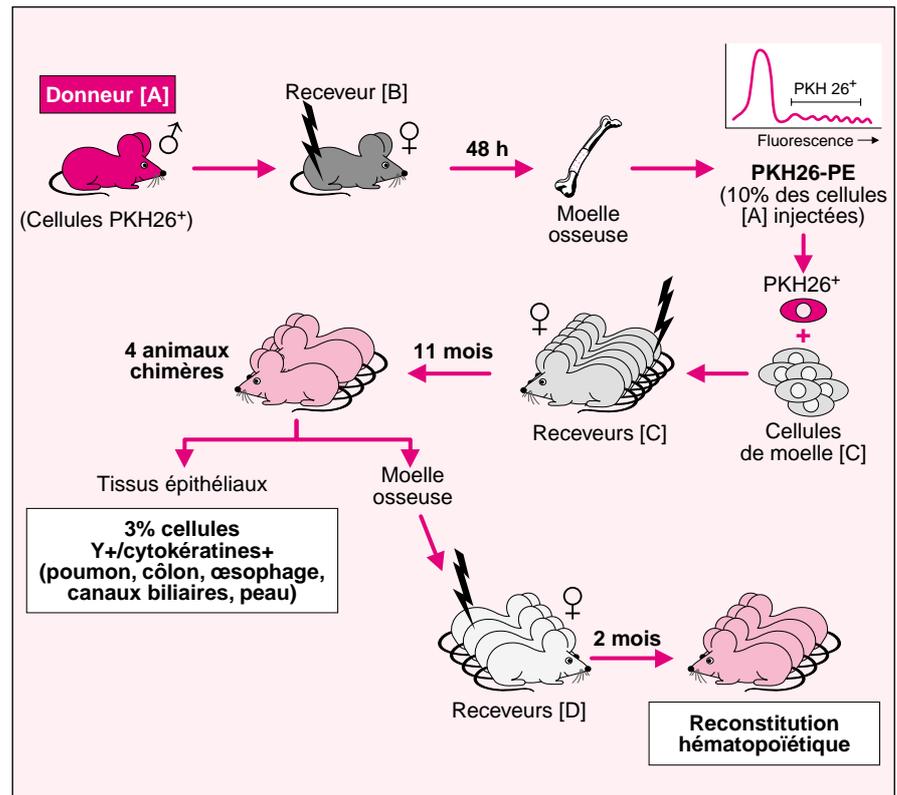


Figure 1. **Protocole expérimental.** Les souris B (femelles) reçoivent des cellules *Lin*⁻ de la moelle de souris A (mâles). Ces cellules ont incorporé un marqueur fluorescent (PKH26); 48 heures après, on sélectionne (tri sur la fluorescence PKH26) les cellules [A] ayant migré dans la moelle des receveurs [B]. Une seule de ces cellules est injectée avec des cellules de moelle de [C]. Onze mois après, les souris chimériques [A/C] sont sélectionnées et la moelle et les tissus épithéliaux analysés, pour la présence de cellules [A]. La moelle est également injectée à de nouveaux receveurs [D] afin de prouver la pérennisation du potentiel de reconstitution hématopoïétique.

cellules sont ensuite injectées à des femelles préalablement irradiées. Deux jours après la transplantation, les cellules du donneur ayant migré dans la moelle osseuse du receveur (qui représentent 0,1 % des cellules injectées) reconnues par leur fluorescence (PKH26⁺) furent triées au cytomètre, et utilisées pour reconstituer des souris secondaires. Ces trente nouvelles souris femelles irradiées

reçurent chacune une suspension cellulaire contenant une seule cellule mâle PKH26⁺, et 20 000 cellules médullaires femelles prévenant l'aplasie mortelle radio-induite des receveurs mais ne contribuant pas à la reconstitution hématologique à long terme. Cinq de ces 30 souris secondaires (17 %) ont survécu jusqu'au terme de l'étude, soit 11 mois après la transplantation. La moelle de 4 de ces

souris secondaires était alors presque exclusivement d'origine donneur (mâle), attestant la présence de cellules souches chez le donneur mâle initial. La moelle de ces 4 souris fut alors utilisée, cette fois sans fractionnement, pour une troisième transplantation (animaux « tertiaires »), ce qui aboutit, dans 3 séries sur les 4, à la reconstitution hématopoïétique des receveurs. Ce résultat apporte par conséquent la preuve que dans la fraction éluée de la moelle du donneur initial, les cellules sélectionnées sur leur capacité de *homing* en 48 heures, contiennent des cellules souches hématopoïétiques douées d'une activité de reconstitution hématopoïétique à long terme, et ce à l'échelon clonal. La prouesse technique est digne d'admiration, mais elle avait déjà été réalisée en 1996 [6]. En revanche, comme les animaux étaient reconstitués avec une seule cellule souche, il devenait très intéressant d'analyser, chez les receveurs, différents types tissulaires à la recherche de cellules d'origine donneur. Or, la présence de cellules mâles fut détectée dans certains épithéliums, le record revenant aux cellules épithéliales pulmonaires puisque jusqu'à 20 % des pneumocytes des souris ainsi transplantées sont issus de la cellule souche médullaire d'origine mâle. L'hybridation *in situ* pour l'ADN du chromosome Y associée à une étude de l'expression de cytokératines spécifiques a permis de démontrer l'origine mâle de cellules intestinales (avec un plus fort pourcentage dans l'œsophage et une moindre présence dans le côlon), de cholangiocytes et de kératinocytes. En revanche, aucune cellule tubulaire rénale pro-

venant de la cellule médullaire d'origine n'a pu être retrouvée chez ces souris. De même, les cellules mâles correspondant morphologiquement à des cardiomyocytes, des cellules musculaires squelettiques ou des hépatocytes n'étant pas reconnues par les anticorps anti-cytokératines utilisés, il ne fut pas possible d'affirmer l'existence de telles différenciations.

Quelles questions reste-t-il donc à résoudre ? Dans les expériences précédentes rapportées par Weissman et Grompe, la transplantation de 50 cellules souches hématopoïétiques suffisait à assurer une hématopoïèse durable et complète du receveur mais également à reconstituer partiellement le foie d'animaux déficients en fumaryl-acéto-acétate hydrolase [7]. On peut donc parier qu'existe un progéniteur commun aux cellules hématopoïétiques et aux hépatocytes, et ces auteurs nous en diront peut-être plus bientôt. Une information intéressante de l'étude de Krause *et al.* est qu'elle nous indique que les cellules médullaires se différenciant ultérieurement en cellules épithéliales font étape dans la moelle osseuse après transplantation. Quels sont les signaux d'appel qui permettent à ces cellules de migrer hors de la moelle et de s'implanter dans un nouvel environnement tissulaire ? La fréquence très variable d'implantation et de différenciation dans les différents tissus analysés peut-elle être imputée aux seules lésions tissulaires induites par l'irradiation comme le suggèrent les auteurs ? Enfin, ces cellules ont-elles acquies toutes les caractéristiques phénotypiques mais surtout fonctionnelles du tissu dont elles adoptent le

phénotype ? Autant de questions auxquelles il faut s'attacher à répondre avant de pouvoir réellement s'enthousiasmer sur la réalité d'une source cellulaire thérapeutique universelle, le Saint Graal des thérapeutes à venir ? En tout cas, cet article mettra du baume au cœur de beaucoup de biologistes à qui l'on serine toute la journée que sans génomique, point de salut !

1. Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science* 2000; 290: 1779-82.
2. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000; 290: 1775-9.
3. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, *et al.* Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7: 430-6.
4. Krause DS, Theise ND, Collector MI, *et al.* Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369-77.
5. Jones RJ, Wagner JE, Celano P, Zicha MS, Sherkis SJ. Separation of pluripotent haematopoietic stem cells from spleen colony-forming cells. *Nature* 1990; 347: 188-9.
6. Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 1996; 273: 242-5.
7. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, *et al.* Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med* 2000; 6: 1229-34.

Hélène Gilgenkrantz

Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.