

cellules ES. La prolifération de ces cellules ES dans un milieu défini, n'ayant pas été exposé aux tissus et cellules d'autres mammifères, permet d'envisager leur utilisation chez l'homme sans risque de contamination par des virus apportés par les cellules stromales nourricières. La voie de la médecine régénérative semble plus ouverte que jamais ! Lorsqu'en 1826, âgé de 23 ans, Antoine-Jérôme Balard (qui donna son nom à une station de métro et à une place parisienne) découvrait dans l'eau de mer un nouvel élément, il proposa le nom de Murine à l'Académie, en raison de sa couleur pourpre et de son extraction à partir de saumure. L'Académie lui préféra le nom de Brome (du grec *Bromos*, mauvaise odeur) [13]. Celui qui allait devenir le directeur de thèse de Louis Pasteur pouvait-il imaginer que les molécules responsables de la couleur si caractéristique de la pourpre contenaient bien l'élément qu'il avait identifié ? Quelques décennies

plus tard, Henri de Lacaze Duthiers, fondateur de la Station Biologique de Roscoff, étudiait en détail la production de pourpre par les mollusques Muricidés [14]. Pouvait-il deviner que 150 ans plus tard, la pourpre de Tyr intéresserait encore les chercheurs et qu'elle laisserait entrevoir des applications diverses ? Les indirubines ont certainement encore beaucoup de secrets à nous révéler !

À suivre... ♦

Tyrian purple indirubins : a source of GSK-3 inhibitors

RÉFÉRENCES

1. Cooksey CJ. Tyrian purple: 6,6'-dibromoindigo and related compounds. *Molecules* 2001; 6: 736-69.
2. Friedlander P. Über den Farbstoff des antikeen Purpurs aus Murex brandaris. 1909; 765-70.
3. Balfour-Paul J. Indigo. *British Museum Press*. 1998 : 264 p.
4. Hoessel R, Leclerc S, Endicott J, et al. Indirubin, the active constituent of a Chinese antileukaemia medicine, inhibits cyclin-dependent kinases. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 60-7.
5. Damiens E, Baratte B, Marie D, et al. Anti-mitotic properties of indirubin-3'-monoxime, a CDK/GSK-3 inhibitor: induction of endoreplication following

- prophase arrest. *Oncogene* 2001; 20: 3786-97.
6. Davies TG, Tunnah P, Meijer L, et al. Inhibitor binding to active and inactive CDK2. The crystal structure of a CDK2-cyclin A/indirubin-5-sulphonate. *Structure* 2001; 9: 389-97.
7. Holton S, Merckx A, Burgess D, et al. Structures of *P. falciparum* PfPK5 test the CDK regulation paradigm and suggest mechanisms of small molecule inhibition. *Structure* 2003; 11: 1329-37.
8. Leclerc S, Garnier M, Hoessel R, et al. Indirubins inhibit glycogen synthase kinase-3 β and CDK5/p25, two kinases involved in abnormal tau phosphorylation in Alzheimer's disease - a property common to most CDK inhibitors ? *J Biol Chem* 2001; 276: 251-60.
9. Meijer L, Skaltsounis AL, Magiatis P, et al. GSK-3 selective inhibitors derived from Tyrian purple indirubins. *Chem Biol* 2003; 10: 1255-66.
10. Polychronopoulos P, Magiatis P, Skaltsounis L, et al. Structural basis for the synthesis of indirubins as potent and selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3 and cyclin-dependent kinases. *J Med Chem* 2004; 47: 935-46.
11. Fischer PM. CDK versus GSK-3 inhibition: a purple haze no longer ? *Chem Biol* 2003; 10: 1144-6.
12. Sato N, Meijer L, Skaltsounis L, et al. Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3 specific inhibitor. *Nat Med* 2004; 10: 55-63.
13. Dolique R. Balard, sa vie, son œuvre à Montpellier de 1802 à 1840. *Rev Hist Pharm* 1977; 232: 13-27.
14. Lacaze-Duthiers H. Mémoire sur la Pourpre. *An Sci Nat Zool* 1859; 12: 5-84.

NOUVELLE

Des cellules souches pour corriger les surdités neurosensorielles ?

Azel Zine

> L'audition et l'équilibre dépendent de l'intégrité de l'oreille interne, composée de deux parties: la cochlée, responsable de l'audition, et le vestibule, responsable de l'équilibre (Figure 1). L'épithélium neurosensoriel de la cochlée des mammifères, ou organe de Corti, comprend deux types de cellules: les cellules sensorielles, ou cellules ciliées, internes (CCI) et externes (CCE) (Figure 1), responsables de la transduction auditive, et les cellules de soutien. Dans l'oreille interne des mammifères, le nombre des cellules sensorielles est fixé définitivement après la phase de différenciation cellulaire. Chez l'homme, on dénombre ainsi en moyenne 3500 CCI et 12 000 CCE dans une

cochlée différenciée, dès le 5^e mois de la vie fœtale. Par la suite, ce nombre de cellules, ridiculement faible pour une fonction aussi sophistiquée que l'audition, ne fait que décroître au fil du temps en raison des agressions d'origine exogène et endogène (drogues ototoxiques, bruits intenses, accidents ischémiques...) qui les altèrent, ou tout simplement de l'âge. Les surdités neurosensorielles touchent près de 22 millions d'européens, soit 6 % de la population et, dans la majorité des cas, elles résultent de lésions entraînant des pertes de cellules ciliées (→).

Inserm U.583,
Université Montpellier I,
80, rue Augustin Fliche,
34295 Montpellier Cedex 5,
France.
zine@montp.inserm.fr

(→) m/s
2004, n° 3,
p. 304 et
p. 311

Cette situation est différente dans l'oreille interne des vertébrés inférieurs et des oiseaux. Dans ces espèces, les cellules ciliées détruites par le bruit ou des substances ototoxiques sont remplacées par de nouvelles cellules ciliées [1, 2] qui proviennent en partie d'une réactivation de la prolifération des cellules de soutien. Il y a vraisemblablement, dans l'évolution phylogénétique de l'oreille interne des mammifères, un stade où l'épithélium sensoriel perd cette propriété de conserver une population de cellules souches ou celle de permettre leur prolifération et leur différenciation en de nouvelles cellules ciliées. Toutefois, une capacité très limitée de régénération des cellules ciliées subsiste probablement dans le système vestibulaire des mammifères [3]. Depuis



ces découvertes, de nombreux travaux ont été entrepris pour essayer de stimuler, dans l'organe de Corti du mammifère, un processus de régénération analogue à celui qui est observé chez les oiseaux et les vertébrés inférieurs. Le remplacement des cellules ciliées détruites par de nouvelles cellules ciliées pourrait en effet constituer une solution thérapeutique aux troubles de l'audition d'origine neurosensorielle, pour lesquels il n'existe à ce jour aucun traitement curatif permettant de restaurer la fonction auditive. Dans cet objectif, une équipe de chercheurs de l'Université de Harvard à Boston, dirigée par Stephan Heller a mis au point un protocole expérimental permettant d'obtenir *in vitro* des cellules progénitrices des structures sensorielles de l'oreille interne [4]. Ces chercheurs ont cherché à orienter la différenciation de cellules souches embryonnaires de souris (cellules ES), en cellules sensorielles de l'oreille interne en combinant plusieurs facteurs de croissance comme l'EGF (*epi-*

dermal growth factor), l'IGF-I (*insulin growth factor I*) et des FGF (*fibroblast growth factor*) impliqués dans le développement de l'oreille interne [5-8]. Après dix jours de culture en présence d'EGF et d'IGF-I, suivis de huit jours en présence de bFGF (*basic FGF*), 96% des cellules dérivant de corps embryoides (agrégats cellulaires se formant spontanément lors du retrait du LIF de la culture de cellules ES, et qui indique la perte du caractère indifférencié des cellules ES et leur engagement dans un processus de différenciation) expriment un marqueur spécifique de la différenciation des cellules ES (cellules progénitrices neuroendocrines), la nestine. Après le retrait de ces facteurs de croissance, ces cellules progénitrices se différencient en plusieurs types de cellules de l'oreille interne, notamment en cellules ciliées.

Pour que ce protocole puisse aboutir à une application thérapeutique, il fallait vérifier d'abord que les cellules progénitrices obtenues à partir des cellules ES,

une fois greffées, s'intègrent dans l'épithélium cochléaire et se différencient *in vivo* en cellules ciliées. Des cellules ES préalablement traitées par l'EGF, l'IGF-I et le bFGF ont été injectées dans la vésicule otique d'embryons de poulet. L'examen des animaux chimères a montré qu'une partie des cellules injectées s'intègre rapidement à l'épithélium de la vésicule otique, préférentiellement au niveau de régions de l'épithélium qui avaient été lésées juste avant la greffe. Lorsque la région est examinée plus tardivement après la greffe, les cellules greffées sont notamment retrouvées dans les couches cellulaires constituant l'ébauche embryonnaire de la cochlée. Ces cellules expriment des gènes et des protéines caractéristiques des cellules ciliées matures normales de l'épithélium cochléaire. Les auteurs estiment donc que l'obtention de cellules progénitrices des cellules de l'oreille interne à partir des cellules ES peut, à terme, déboucher sur le développement de thérapies cellulaires

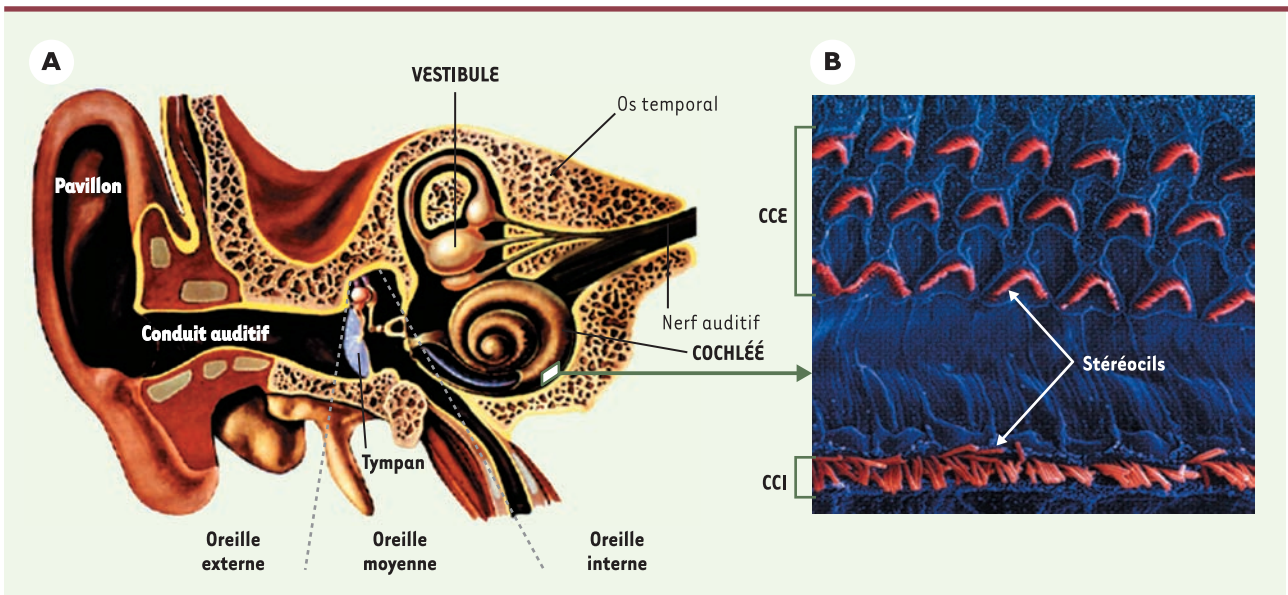


Figure 1. Organisation de l'oreille interne. **A.** Vue en coupe de l'oreille humaine. Après avoir été capté par le pavillon et avoir cheminé dans le canal auditif externe, le son fait vibrer le tympan et les osselets qui assurent la transmission mécanique de la vibration sonore jusqu'à la cochlée, organe sensoriel de l'audition. **B.** Vue de surface de l'organe de Corti. Les principaux éléments nécessaires à la transduction auditive se trouvent à l'intérieur de la cochlée au niveau de l'organe de Corti qui contient une mosaïque complexe de cellules ciliées sensorielles et cellules de soutien. On y trouve deux types de cellules sensorielles : une rangée de CCI (cellules ciliées internes) et trois rangées de CCE (cellules ciliées externes). Au sommet de toutes les cellules ciliées se trouvent des stéréocils, structures indispensables à la mécanotransduction. Pour plus de détails sur l'anatomie fonctionnelle de la cochlée, voir <http://www.iurc.montp.inserm.fr/cric/audition/>.

pour traiter les surdités neurosensorielles. Cependant, le recours à de telles thérapies pose une fois de plus le problème de l'utilisation des cellules ES humaines. Des recherches complémentaires de la même équipe, publiées pratiquement en même temps que les travaux précédents [9], ont abouti à la découverte que des cellules souches adultes présentes dans l'oreille interne, pourraient permettre de contourner cette difficulté. En effet, ces chercheurs ont réussi à isoler une nouvelle population de cellules souches, nichées au plus profond de la composante vestibulaire de l'oreille interne de la souris adulte (Figure 2). Une fois cul-

tivées *in vitro*, ces cellules forment des sphères (agrégats cellulaires flottants) qui prolifèrent après l'addition des facteurs de croissance de type EGF et IGF dans le milieu de culture. Une fraction de cellules des sphères expriment un ensemble de marqueurs comme Pax2, BMP-4 et BMP-7 (*bone morphogenetic protein*) caractéristiques du développement de l'oreille interne. Comme le faisait celle des cellules issues des cellules ES, la greffe des cellules souches adultes de la souris dans l'oreille interne de l'embryon du poulet a conduit à la production de plusieurs types cellulaires, dont certaines expriment un phénotype

de cellules ciliées.

L'ensemble de ces travaux constitue une première approche sur laquelle les chercheurs peuvent s'appuyer pour tester le potentiel thérapeutique des cellules souches dans les surdités neurosensorielles. Néanmoins, avant d'envisager l'utilisation des cellules souches pour restaurer la fonction auditive chez les patients malentendants, leur efficacité thérapeutique doit d'abord être testée dans des modèles animaux de surdité, ou chez des animaux âgés. ♦

Stem cells to repair neurosensory deafness ?

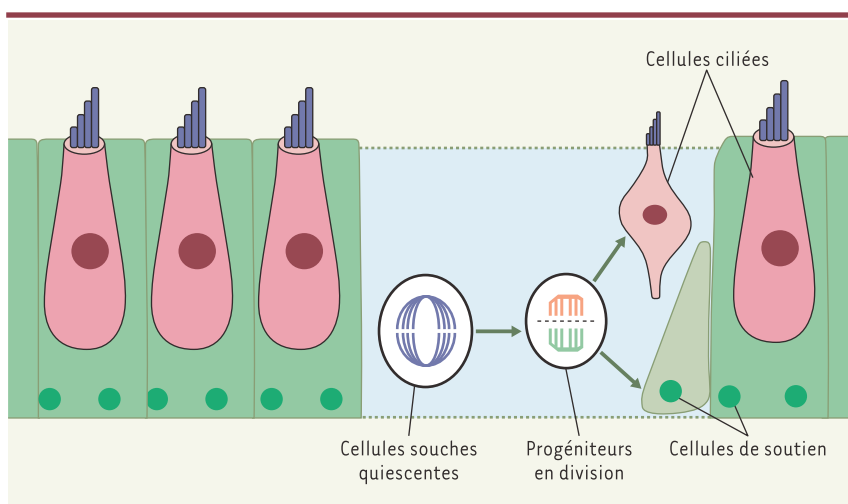
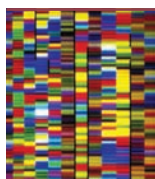


Figure 2. Potentiel régénératif des cellules souches du vestibule de la souris. Les épithéliums sensoriels de l'oreille interne sont composés de deux types cellulaires : les cellules ciliées (rose) et les cellules de soutien (vert). L'équipe de S. Heller [9] a mis en évidence l'existence d'une population de cellules souches nichées (bleu) dans l'épithélium utriculaire de la souris adulte. À la suite de la perte des cellules ciliées, les cellules souches réactivent leur cycle cellulaire, se divisent et donnent naissance à des cellules progénitrices qui ont la capacité de se différencier en cellules ciliées sensorielles et en cellules de soutien.

RÉFÉRENCES

1. Ryals BM, Rubel EW. Hair cells regeneration after acoustic trauma in adult Coturnix quail. *Science* 1988; 240: 1774-6.
2. Corwin JT, Cotanche DA. Regeneration of sensory hair cells after acoustic trauma. *Science* 1988; 240: 1772-4.
3. Warchol ME, Lambert PR, Goldstein P, et al. Regenerative proliferation in inner ear sensory epithelia from guinea pig and human. *Science* 1993; 259: 1619-22.
4. Li H, Roblin G, Liu H, Heller S. Generation of hair cells by stepwise differentiation of embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 23: 13495-500.
5. Zine A, Van De Water TR, de Ribaupierre F. Notch signaling regulates the pattern of auditory hair cell differentiation in mammals. *Development* 2000; 127: 3373-83.
6. Fekete DM, Wu DK. Revisiting cell fate specification in the inner ear. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12: 35-42.
7. Zine A. Molecular mechanisms that regulate auditory hair cell differentiation in the mammalian cochlea. *Mol Neurobiol* 2003; 27: 223-38.
8. Zheng JL, Helbig C, Gao WQ. Induction of cell proliferation by fibroblast and insulin-like growth factors in pure rat inner ear epithelial cell cultures. *J Neurosci* 1997; 17: 216-26.
9. Li H, Liu H, Heller S. Pluripotent stem cells from the adult mouse inner ear. *Nat Med* 2003; 10: 1293-9.



Retrouvez chaque mois **médecine/sciences**
sur **France-Info** dans la chronique « **Info-Sciences** »
de **Marie-Odile Monchicourt**, du lundi au mercredi.

france-info.com