



repas sanguins de la punaise, lorsque la salive de celle-ci entre en contact avec le sang de l'hôte. Une étude récente suggère même que dans certains cas de trypanosomiase chronique, l'ADN mitochondrial du trypanosome, dont le cycle de développement se déroule en partie à l'intérieur des cellules humaines, peut être transféré dans le génome de l'homme [10]. Les ET auraient pu emprunter la même route que les trypanosomes, ou même être véhiculés par l'intermédiaire de ces derniers. Nous n'avons pas trouvé de trace des quatre familles d'ET en question dans le génome complet de *Trypanosoma cruzi*, un des agents de la maladie de Chagas, mais nous continuons de chercher activement ces éléments dans les génomes d'autres trypanosomes. Il est cependant possible que les trypanosomes aient véhiculé les ET entre la punaise et ses hôtes mammaliens sans que ces ET ne se soient intégrés de manière stable et soient donc détectables dans le génome de ces microparasites.

Ici encore le mécanisme moléculaire précis à l'origine de ces transferts ne peut pas être formellement démontré.

Néanmoins, c'est à notre connaissance la première fois que des transferts horizontaux d'ET impliquant des vertébrés et un de leurs parasites invertébrés ont été détectés. Il s'agit donc de l'évidence la plus probante supportant l'hypothèse proposée par Margaret Kidwell en 1991 selon laquelle les relations hôtes-parasites pourraient faciliter les transferts horizontaux [11]. Des datations basées sur l'horloge moléculaire des mammifères nous ont permis de montrer que la plupart de ces transferts horizontaux se sont produits entre 15 et 50 millions d'années avant l'ère actuelle. Afin de caractériser de manière plus directe un vecteur et un mécanisme de transfert horizontal, il serait souhaitable d'identifier un transfert plus récent. Si cette possibilité pouvait paraître irréaliste il y a seulement quelques années, la réduction continue des coûts du séquençage génomique devrait nous permettre de rapidement détecter un tel événement et d'évaluer plus précisément l'impact des transferts horizontaux sur l'évolution des eucaryotes. ♦

Mobile elements jump between parasites and vertebrate hosts

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Akiba TK, Koyama Y, Ishiki S, et al. On the mechanism of the development of multiple drug-resistant clones of *Shigella*. *Japan J Microbiol* 1960 ; 4 : 219-27.
2. Frost LS, Leplae R, Summers AO, et al. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nat Rev Microbiol* 2005 ; 3 : 722-32.
3. Keeling PJ, Palmer JD. Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nat Rev Genet* 2008 ; 9 : 605-18.
4. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001 ; 409 : 860-921.
5. Schnable PS, Ware D, Fulton RS, et al. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science* 2009 ; 326 : 1112-5.
6. Feschotte C, Pritham EJ. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annu Rev Genet* 2007 ; 41 : 331-68.
7. Schaack S, Gilbert C, Feschotte C. Promiscuous DNA: horizontal transfer of transposable elements and why it matters for eukaryotic evolution. *Trends Ecol Evol* 2010 ; 25 : 537-46.
8. Gilbert C, Schaack S, Pace JK, et al. A role for host-parasite interactions in the horizontal transfer of DNA transposons across animal phyla. *Nature* 2010 ; 464 : 1347-50.
9. Pace JK, Gilbert C, Clark MS, et al. Repeated horizontal transfer of a DNA transposon in mammals and other tetrapods. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 17023-8.
10. Hecht MM, Nitz N, Araujo PF, et al. Inheritance of DNA transferred from American trypanosomes to human hosts. *PLoS ONE* 2010 ; 5 : e9181.
11. Houck MA, Clark JB, Peterson KR, et al. Possible horizontal transfer of *Drosophila* genes by the mite *Proctolaelaps regalis*. *Science* 1991 ; 6 : 1125-9.

NOUVELLE

Fuseau mitotique et division asymétrique des cellules souches

De l'importance de bien s'orienter

Frédéric Hollande, Dominique Joubert

CNRS UMR5203/Inserm U661,
Institut de génomique fonctionnelle,
141, rue de la Cardonille,
34094 Montpellier Cedex 05, France.
fhollande@univ-montp1.fr

► Le fuseau mitotique, assemblage de microtubules formé à partir des centrosomes, participe à la séparation des chromatides durant la division cellulaire. L'orientation du fuseau mitotique est un des mécanismes permettant aux cellules souches de se diviser de façon asymétrique, en modifiant le positionnement d'une des cellules filles par

rapport à l'environnement cellulaire, ou niche [1]. Ce type de division asymétrique permet de générer des cellules différenciées tout en maintenant le nombre de cellules souches, assurant ainsi le renouvellement et l'homéostasie tissulaires. Le contrôle de la division asymétrique des cellules souches fait donc partie des événements primordiaux

dont la perturbation participe à l'initiation et à la progression tumorales [2], comme cela a été démontré chez la drosophile ou dans l'épiderme humain. Les résultats récents de l'équipe de Inke Näthke montrent maintenant que le contrôle de l'orientation du fuseau mitotique est également essentiel pour la division asymétrique des cellules

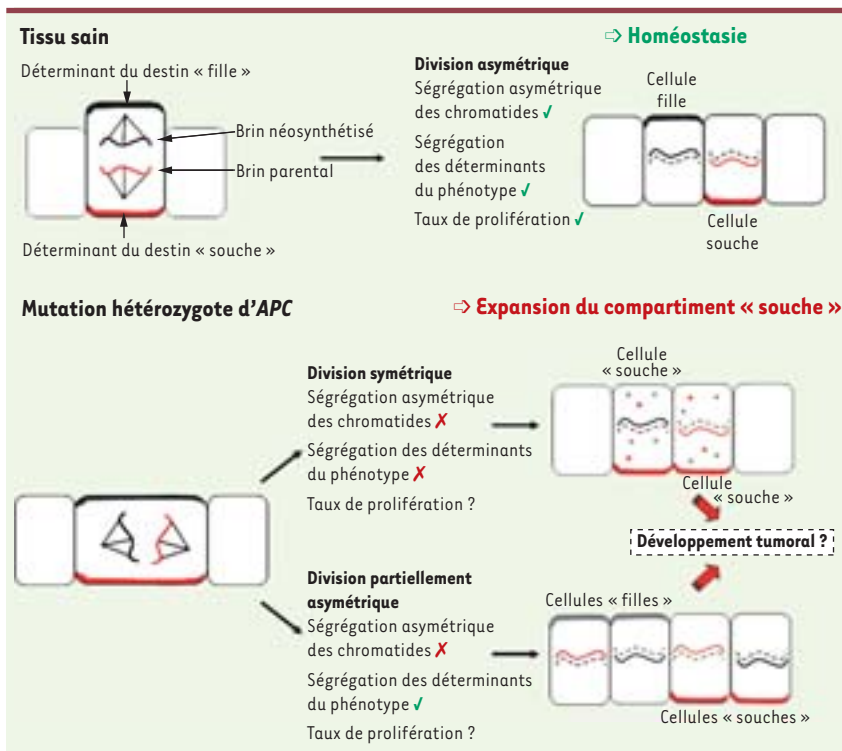


Figure 1. Représentation schématique de l'orientation du fuseau mitotique et de la ségrégation des chromatides et des déterminants protéiques du destin cellulaire dans les cellules souches intestinales du tissu sain et du tissu précancéreux. Dans le tissu sain, la ségrégation asymétrique de toutes les composantes permet de maintenir l'homéostasie. À la suite de mutations hétérozygotes du gène *Apc*, la ségrégation asymétrique des chromatides est perdue dans la majorité des cellules souches. Cependant, plusieurs possibilités existent (et coexistent peut-être) concernant la ségrégation des déterminants plus immédiats du phénotype. Au moins deux de ces possibilités (division symétrique en deux cellules à caractère « souche » ou division asymétrique lors de laquelle la cellule souche est altérée et ne contient plus forcément le brin d'ADN parental) pourraient participer à l'initiation du développement tumoral. Le symbole vert (✓) indique la survenue du processus, le symbole rouge (✗) son absence.

souches intestinales [3], siège des mutations initiatrices de la tumorigenèse colorectale [4].

Contrôle de l'orientation du fuseau mitotique dans les cryptes intestinales : rôle du gène *APC*

Le côlon humain est constitué de plusieurs millions de cryptes, chacune contenant environ 2 000 cellules. L'épithélium intestinal est entièrement renouvelé tous les 2 à 7 jours chez la souris et l'homme, et environ 10^{10} nouvelles cellules sont ainsi produites tous les jours dans l'intestin. Deux types cellulaires présentent des caractéristiques de cellules souches intestinales chez la souris : les cellules portant le marqueur *Lgr5* (*crypt base columnar cells*, ou CBC), et les cellules localisées en position +4¹ dans la crypte, qui expriment le marqueur *Bmi1* et seraient quiescentes [5]. Dans le travail de Quyn *et al.*, l'orientation du fuseau mitotique a été examinée sur des cryptes intestinales entières

grâce à la microscopie multiphoton et celle des cellules situées dans les positions 1 à 7 (incluant ainsi les cellules *Lgr5*⁺ et *Bmi1*⁺) a été comparée à celle des cellules en phase mitotique localisées plus haut dans la crypte, qui correspondent principalement aux cellules progénitrices. Alors que dans ces dernières, le fuseau mitotique est orienté de façon parallèle à la membrane basale, il est orienté perpendiculairement à la lumière dans les cellules souches. La même étude suggère également que ce mécanisme est corrélé à la ségrégation asymétrique des chromatides dont il a déjà été question dans *Médecine/Sciences* [14] : le brin « parental » d'ADN resterait dans la cellule souche alors que le brin néosynthétisé serait systématiquement dirigé vers la cellule fille [3]. Une telle ségrégation, aussi identifiée récemment par Falconer *et al.* [6], corrobore la théorie du brin immortel d'ADN émise par Cairns [7]. Les auteurs montrent par ailleurs que cette orientation spécifique du fuseau dans les cellules souches est majoritairement perdue dans le tissu intestinal précancéreux des souris *APC*^{Min/+} et des

patients atteints de polypose adénomateuse familiale (PAF) qui portent des mutations hétérozygotes du gène codant pour l'*adenomatous polyposis coli* (*APC*).

L'étude de Quyn *et al.* suggère donc que le contrôle de l'orientation préférentielle du fuseau mitotique participe au rôle répresseur de tumeur du produit du gène *APC*, dont les mutations sont impliquées dans l'initiation tumorale d'une majorité de cancers colorectaux. Au-delà du mécanisme de ségrégation asymétrique des chromatides, ce travail soulève également plusieurs questions complémentaires, notamment en ce qui concerne les mécanismes moléculaires impliqués, la relation entre division asymétrique et destin cellulaire et l'impact physiopathologique de la mutation du gène *APC* chez l'homme.

Sur le plan mécanistique, l'identification du rôle d'*APC* sur l'orientation du fuseau mitotique et sur le contrôle de la division asymétrique n'est pas nouvelle à proprement parler. Une démonstration élégante en avait déjà été apportée par Y. Yamashita dans les cellules germinales de *Drosophila melanogaster* [8].

¹ Le point de départ de la numérotation est le fond de la crypte : la position + 4 indique donc qu'il s'agit de la quatrième cellule à partir du fond.



Plus récemment, la relation entre la voie Wnt et le contrôle de l'orientation du fuseau a également été mise en évidence chez *C. elegans* [9]. Cependant, en démontrant l'existence d'un tel phénomène dans les cellules souches intestinales, siège de l'initiation tumorale [4], Quyn *et al.* identifient une arme supplémentaire dans l'arsenal déjà bien fourni des mécanismes participant au rôle oncogénique des mutations du gène *APC* dans l'intestin. En effet, l'impact de ces mutations est très important, car il affecte l'activité transcriptionnelle de β -caténine/Tcf-4, la stabilité chromosomique, la vitesse de division cellulaire [10], l'adhésion cellulaire, et maintenant la division asymétrique. S'il est probable que, dans la plupart des cas, les cellules affectées entrent en apoptose car elles sont incapables de gérer de telles modifications, une extension de la théorie du *just right* [11] suggère qu'un nouvel équilibre doit cependant intervenir entre les différents effets associés aux mutations du gène *APC* dans un petit nombre de cellules, leur permettant de dériver vers un état néoplasique.

Orientation asymétrique du fuseau mitotique et destin cellulaire

Par ailleurs, un point important reste également en suspens en ce qui concerne l'impact de cette orientation particulière du fuseau mitotique sur la régulation du destin cellulaire. Ainsi, le travail de Quyn *et al.* ne démontre pas de façon formelle que la perte de ségrégation asymétrique des chromatides s'accompagne nécessairement d'une perte de la répartition asymétrique des protéines, déterminants plus immédiats du phénotype cellulaire. En d'autres termes, les cellules filles issues de la division altérée des cellules souches dans le modèle hétérozygote *Apc*^{+/-} sont-elles différentes l'une de l'autre, ou bien cette division est-elle devenue complètement symétrique ? Le fait que la proportion des différents lignages différenciés n'est pas fonda-

mentalement altérée dans l'épithélium intestinal de ces souris semble arguer en faveur de la première alternative. Cette hypothèse impliquerait que l'une des deux cellules continue à présenter des caractéristiques de cellule souche (peut-être en partie à cause de son positionnement), mais ne conserverait plus nécessairement son ADN parental. Lors des divisions ultérieures, un tel mécanisme permettrait à une ou plusieurs mutations supplémentaires d'affecter cette cellule « souche » au lieu de cibler de façon mécanique la cellule destinée à se différencier, augmentant ainsi l'impact potentiel de ces mutations sur le développement tumoral (Figure 1).

L'alternative d'une division réellement symétrique induite par la mutation hétérozygote de *Apc* dans la majorité des cellules souches donnerait quant à elle naissance soit à deux cellules souches, soit à deux cellules ayant vocation à devenir post-mitotiques et différenciées. Ces deux types de division symétrique ont déjà été identifiés dans les cellules souches intestinales : la première hypothèse entraînerait l'expansion du compartiment souche (et pourrait ainsi jouer un rôle dans le développement tumoral, Figure 1), alors que la deuxième conduirait à l'extinction des clones affectés et à un phénomène de conversion clonale des cryptes [12]. Cependant, aucun de ces deux mécanismes n'est détecté de façon globale dans toutes les cryptes de ces souris, en partie parce que la perte de division asymétrique n'affecte pas toutes les cellules souches, mais peut-être également parce que ses conséquences ne sont pas identiques dans toutes les cellules souches de l'épithélium ; s'établirait alors un nouveau niveau d'équilibre entre les divisions d'expansion et celles d'extinction. Bien que les pertes d'orientation du fuseau et de la division asymétrique identifiées par Quyn *et al.* concernent les positions 1 à 7 de la crypte, l'identification formelle des cellules concernées n'est pas toujours facile, en particulier pour les cellules

Bmi1⁺, et l'existence d'un mécanisme de régulation différent pour les cellules *Lgr5*⁺ et *Bmi1*⁺ ne peut pas être exclue à ce stade.

Quelles perspectives en physiopathologie humaine ?

Sur le plan physiopathologique, cette problématique est particulièrement pertinente dans le cas des patients atteints du syndrome héréditaire de polypose adénomateuse familiale (PAF), puisque toutes les cellules portent une mutation du gène *APC* similaire à celle qui caractérise le modèle de souris utilisé par Quyn *et al.* Bien que de nombreux adénomes se développent dans l'épithélium intestinal de ces patients, chaque cellule souche ne génère pas un adénome, suggérant bien que la perte d'orientation du fuseau initie un processus de transformation uniquement dans certaines cellules. De plus, les données récentes de la littérature suggèrent que le nombre de cellules souches est significativement élevé dans les adénomes intestinaux des patients PAF [13]. On peut donc postuler que les divisions des cellules souches intestinales gardent un degré d'asymétrie sur le plan phénotypique (y compris du fait de la ségrégation au hasard des chromatides parentales et néosynthétisées) générant de façon non homogène certaines cellules à caractère souche présentant un avantage sélectif (par ex. un taux de renouvellement accru) et à partir desquelles vont émerger les adénomes.

Enfin, ces patients ont un risque accru de développer d'autres pathologies cancéreuses (hépatoblastomes, tumeurs thyroïdiennes, desmoïdes, cérébrales, etc.). Le mécanisme d'initiation tumorale engendré par l'orientation anormale du fuseau mitotique et par la perte de division asymétrique ne serait donc pas restreint à l'intestin chez ces patients, et pourrait également jouer un rôle dans ces autres organes dans les rares cas où ils sont le siège d'une mutation de *APC*. ♦

Mitotic spindle and asymmetric stem cell division

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Kaltschmidt JA, Davidson CM, Brown NH, Brand AH. Rotation and asymmetry of the mitotic spindle direct asymmetric cell division in the developing central nervous system. *Nat Cell Biol* 2000 ; 2 : 7-12.
2. Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* 2006 ; 441 : 1068-74.
3. Quyn AJ, Appleton PL, Carey FA, et al. Spindle orientation bias in gut epithelial stem cell compartments is lost in precancerous tissue. *Cell Stem Cell* 2010 ; 6 : 175-81.
4. Barker N, Ridgway RA, van Es JH, et al. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature* 2009 ; 457 : 608-11.
5. Li L, Clevers H. Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals. *Science* 2010 ; 327 : 542-5.
6. Falconer E, Chavez EA, Henderson A, et al. Identification of sister chromatids by DNA template strand sequences. *Nature* 2010 ; 463 : 93-7.
7. Cairns J. Mutation selection and the natural history of cancer. *Nature* 1975 ; 255 : 197-200.
8. Yamashita YM, Jones DL, Fuller MT. Orientation of asymmetric stem cell division by the APC tumor suppressor and centrosome. *Science* 2003 ; 301 : 1547-50.
9. Cabello J, Neukomm LJ, Gunesdogan U, et al. The Wnt pathway controls cell death engulfment, spindle orientation, and migration through CED-10/Rac. *PLoS Biol* 2010 ; 8 : e1000297.
10. Tighe A, Johnson VL, Taylor SS. Truncating APC mutations have dominant effects on proliferation, spindle checkpoint control, survival and chromosome stability. *J Cell Sci* 2004 ; 117 : 6339-53.
11. Albuquerque C, Breukel C, van der Lijjt R, et al. The just-right signaling model: APC somatic mutations are selected based on a specific level of activation of the beta-catenin signaling cascade. *Hum Mol Genet* 2002 ; 11 : 1549-60.
12. Shibata D. Inferring human stem cell behaviour from epigenetic drift. *J Pathol* 2009 ; 217 : 199-205.
13. Kim KM, Calabrese P, Tavare S, Shibata D. Enhanced stem cell survival in familial adenomatous polyposis. *Am J Pathol* 2004 ; 164 : 1369-77.
14. Rocheteau P, Tajbakhsh S. ADN immortel ou signature épigénétique ? *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 847-52.

NOUVELLE

La transition mésoenchymato-épithéliale, passage obligatoire pour la reprogrammation de fibroblastes en iPSC

Laurent David

Center for Systems Biology,
Samuel Lunenfeld Research Institute,
Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada.
Room 1078, 600 University Avenue,
M5G1X5 Toronto, Canada.
lizardcore@gmail.com
ldavid@lunenfeld.ca

Une des limites de la médecine régénérative est la difficulté d'obtenir en nombre suffisant des cellules différenciées qui pourraient remplacer les cellules d'un tissu défectueux. Les cellules souches pluripotentes, par leur capacité à se développer en tout type cellulaire et à proliférer indéfiniment *in vitro*, pourraient répondre à cet impératif. Initialement isolées chez l'homme à partir d'embryons surnuméraires issus de fécondations *in vitro*, les cellules souches embryonnaires (ESC, *embryonic stem cells*) posent cependant plusieurs problèmes, notamment éthiques et de tolérance immunologique dans une perspective thérapeutique.

Récemment, plusieurs méthodes permettant de reprogrammer des cellules adultes différenciées en cellules pluripotentes ont vu le jour. La première est le transfert d'un noyau somatique dans un ovule, méthode qui a abouti à la nais-

sance de Dolly. La deuxième est la fusion d'une cellule somatique et d'une cellule souche embryonnaire : dans la cellule hybride, le noyau de la cellule somatique est reprogrammé par l'environnement embryonnaire pluripotent, qui est dominant, et il prend les caractéristiques d'un noyau de ESC. Les connaissances acquises grâce à ces méthodes et grâce à l'étude des ESC ont permis de mettre au point une troisième technique en 2006. Celle-ci consiste à surexprimer des facteurs de transcription - Oct4, Klf4, c-Myc et Sox2 (OKMS) - dans une cellule somatique, ce qui entraîne la reprogrammation du noyau et l'acquisition par cette cellule somatique de caractéristiques de cellules souches pluripotentes : on parle de cellule souche pluripotente induite (iPSC) [1, 2].

Depuis cette découverte, les méthodes de production se sont améliorées et des critères précis de pluripotence ont

été définis. Néanmoins, les mécanismes contrôlant le processus de reprogrammation lui-même n'ont pas pu être approfondis à cause de la très faible efficacité du processus de reprogrammation.

Transition mésoenchymateuse-épithéliale : une étape nécessaire

L'établissement de modèles murins dits « secondaires » a permis de mieux appréhender les mécanismes de la reprogrammation des iPSC. Les systèmes secondaires sont obtenus par reprogrammation de cellules somatiques primaires avec des transgènes inductibles, puis différenciation des iPSC ainsi obtenues, *in vitro*, ou *in vivo*, par agrégation dans une morula et création de souris chimères à partir desquelles on peut isoler des fibroblastes (MEF, *murine embryo fibroblasts*) dits secondaires. En déclenchant l'expression des transgènes inductibles