

Cours n°9 : UE bio cell :
Cellules souches et thérapie cellulaire :

Deux types de cellules souches : les cellules souches embryonnaires (pluripotentes) et les cellules souches adultes (multipotentes).

I. Les cellules souches embryonnaires de souris :

➤ Isolement :

Sur un blastocyste (3-5 jours après fécondation), on isole la masse de cellule interne (embryoblaste) qui contient les CSE.

Puis on rajoute du LIF (ou du MEF) dans la culture. Le LIF est un effecteur capital dans le maintien de la pluripotence des cellules souches embryonnaires murines.

➤ Potentiel thérapeutique :

Les CSE sont une source potentielle de cellules thérapeutiques pour la médecine régénérative. En 2002, il a été mis en évidence que les CSE ont la capacité de corriger certaines fonctions cérébrales après transplantation dans un modèle animal de la maladie de Parkinson.

Expérience :

Injection de CSE de souris dans le striatum d'aniamux dont les neurones dopaminergiques avaient été détruits.

Après 9 semaines : 56% ont des améliorations locomotrices

24 % n'ont pas d'amélioration

20% développent une tumeur et meurt

II. Les cellules souches embryonnaires humaines :

➤ Parkinson :

- En 1998 : isolement de CSE à partir d'embryons humains de 5 jours.

- En 2001 : ces CSE humaines peuvent former des neurones dopaminergiques en culture, mais cela nécessite de nombreuses étapes pour une faible efficacité.

➤ Infarctus du myocarde :

En 2007 : isolement de CSE humaines et différenciation in vitro en cardiomyocytes. Transplantation 4 jours après induction de l'infarctus chez le rat. Analyse après transplantation : amélioration de la fonction cardiaque et pas de formation de tumeur (temps suffisant ? prolifération plus limitée des cellules humaines ?).

➤ Avantage :

Pas de rejet immunitaire de la greffe grâce au clonage thérapeutique (utilisation du noyau d'une cellule somatique du patient pour développer le blastocyste).

➤ Limites :

- Processus très lourd, peu efficace et très coûteux actuellement :

Le taux de réussite chez l'animale d'élevage est de 1 pour 100 tentatives.

L'obtention d'une cellule souche à partir d'un individu a nécessité 242 ovules, 16 femmes volontaires, et pour un coût de 100 000 euros.

D'où la nécessité d'effectuer des recherches fondamentales pour comprendre et améliorer le processus, ou développer des solutions alternatives.

- Problèmes éthiques :

On crée des embryons humains destinés à être détruits pour isoler des cellules souches : partir de quand un embryon est un être humain ?

On risque d'instrumentaliser, de commercialiser le corps de la femme pour obtenir des oocystes pour le clonage thérapeutique.

On risque d'ouvrir la porte au clonage thérapeutique.

Loi de bioéthique : En France : le clonage reproductif est passible de 20 ans de réclusion criminelle (interdiction internationale en cours). Pour le clonage thérapeutique, il est possible d'utiliser des embryons surnuméraires et d'importer des cellules embryonnaires humaines générées aux USA.

III. Les nouvelles alternatives au clonage thérapeutique :

➤ Les embryons chimères :

Création in vitro d'embryons chimères constitués d'un patrimoine génétique humain intégré dans un ovocyte de mammifère (cache, lapine).

➤ La reprogrammation de cellules somatiques :

En 2007 : reprogrammation de cellules de peau humaine ayant toutes les caractéristiques de CES, en les forçant à exprimer 4 gènes. On utilise un virus comme vecteur des gènes, mais on peut actuellement utiliser d'autres procédures pour introduire les gènes de reprogrammation.

On appelle ces cellules les cellules iPS (induced Pluripotent Stem cells).

Gènes de reprogrammation : Oct3/4, Sox9, Klf4 et c-myc.

IV. Les cellules souches adultes :

➤ Utilisation en clinique :

- Greffe de moelle osseuse depuis 30 ans.

- Utilisation de CS mésenchymateuses isolées à partir du stroma de la moelle osseuse pour la régénération osseuse. « Osiris therapeutics » commercialise des ostéoblastes dérivés de CS isolées à partir de volontaires.

...

➤ Limites de l'utilisation de CS adultes :

- Il y a une faible abondance dans les tissus de CS (0,1-0,01% dans la moelle osseuse).

- Amplification limitée ex vivo.

- Les CS ne se différencient pas en tous les types cellulaires...

➤ Le tissu adipeux :

Le tissu adipeux est une source importante de CS, de plus c'est un tissu très abondant dans le corps. Ces cellules souches sont appelées hMADS (human Multipotent Adipose Derived Stem cells).

Pour les isoler, on prend du tissu adipeux et on ajoute de la collagénase A qui permet de digérer le collagène et d'obtenir deux fractions : le stroma et les adipocytes.

Les hMADS peuvent se différencier en adipocytes, en myocytes squelettiques, en ostéoblastes, ou en chondrocytes.

Les hMADS ont un potentiel thérapeutique pour la régénération du muscle squelettique et la formation d'os.

- Formation d'os : les hMADS sont capables de former de l'os après transplantation chez des souris *nude* (souris sans thymus, sans réponse de rejet possible).
- Régénération de muscle squelettique : les hMADS sont capables de régénérer du muscle squelettique avec restauration de la dystrophine après transplantation chez les souris *mdx* (souris modèle de la dystrophie de Duchenne).

De plus, l'association MyoD-hMADS permet la restauration de la dystrophine chez des myoblastes issus de patients atteints de dystrophie de Duchenne *in vitro*.