

Résumé de l'interview de B. Galliot :

Définition cellules souches: 2 critères :

- Self-renewal = Capables de se renouveler elles-mêmes de façon indéfinie.
- Capable de produire des divisions asymétriques : une pour auto-reproduction du pool de cellules souches et l'autre qui rentre dans un chemin de différenciation.

Autre critère :

- Cellules souches (totipotentes) doivent pouvoir produire toutes les cellules somatiques et, tous les types de cellules germinales, qui donneront un seul type cellulaire : spermatozoïde ou ovocyte.

Les cellules souches germinales ont besoin d'une niche (=environnement de la cellule souche plus cellules nourricières) pour rester à l'état quiescent pour favoriser la division asymétrique

Exemples de cellules souches chez l'homme : Peau, intestin, moelle osseuse...

Différences qualitatives entre :

- Totipotente = cellules capables de donner un individu entier y compris les cellules germinales. *Exemple Hydre et planaire: on parle de néoblastes : Quelques soit l'âge de l'animale les cellules souches vont pouvoir donner toutes les cellules somatiques et germinales.*
- Pluripotentes : Cellules souches pourront donner plusieurs lignées de cellules mais pas toutes les lignées. *Ex : bipotente donne 2 lignées cellulaires.*
- IPS : *Induced pluripotent stem cell* = induction artificielle de cellules souches pluripotentes dérivées de cellules somatiques différenciées adultes (non pluripotentes) par injection de 4 facteurs de transcriptions hyper-régulés. *Exemple : kératinocytes, fibroblastes*

3 grands axes de recherche :

• IPS :

Expérience : IPS de kératynocytes (ou fibroblastes) ont été injecté dans un « œuf » (= embryon de départ). Grâce à un marqueur, ils ont constaté que toutes les lignées somatiques étaient issues de ces IPS. A la génération suivante, ils ont vu que des embryons avaient été formés uniquement à partir des IPS (donc les IPS formaient également les lignées germinales).

Mais attention, ces souris chimériques ont des problèmes de tumeurs car ces cellules IPS ne sont pas régulées comme les « naturelles ». La raison probable est que parmi les 4 facteurs de transcription utilisés pour induire les IPS, il y a un oncogène.

Faut-il revenir jusqu'au stade zéro de la cellule souche vue les problèmes cancéreux engendrés ?

Expérience : Prendre une cellule de peau, d'un malade, induire la dédifférenciation. A partir de ce pool de cellules souches, injecter des facteurs de différenciation pour induire la création de cellules de rein, foie....

Atouts : Pas de problèmes de rejets de greffe, pas de manipulations d'embryonnaires et surtout il n'y a plus de difficultés à identifier et caractériser les cellules souches chez l'homme

- Au cours du développement, les cellules souches sont naturellement très modelables et sont capables de donner toutes les lignées cellulaires : Comprendre ce développement de ces cellules permettra de les manipuler : lien très étroits entre la biologie du développement et compréhension des mécanismes du cancer.
- Recherche sur les contextes de régénérations chez organismes adultes (triton et hydre). Exemple : amputation d'un membre d'un triton, les cellules du moignon sont capable de régénérer la partie qui manque. Cela implique la formation de blastème de régénération (= tumeur qui se passe bien, car prolifération limité dans le temps et l'espace) sous l'épiderme refermées sans donner de métastase : Donc ces cellules sont capables de retourner dans un stade progéniteur et de donner tous les types de cellules et de les organiser dans l'espace.

Expérience : Animaux transgéniques : Cellules musculaires (exprime GFP) greffées dans le blastème de régénération avant amputation et ces cellules musculaires retournent dans le cycle cellulaire mais ne donneront que des cellules musculaires.(idem pour toutes les lignées cellulaires). Donc de façon naturelle ces cellules retournent dans le cycle cellulaire), mais ce sont des cellules monopotentes.

Expérience : Amputations de chez la planaire. Il suffit d'1/256^{ème} de planaire pour redonner un nouvel individu complet. Ceci ne fonctionne pas avec les parties très différenciées de la tête.

Animal de recherche :

Hydre (« *tube gastrique* ») hydrozoaires sans stade méduse, animal adulte encore larvaire (néoténique) donc capable de régénération bien supérieure

L'Hydre est extraordinaire : Elle est capable de régénérer des cellules après injection d'antimitotiques et donc peut remodeler des cellules avec une réussite de 100% en 3 jours.

Expérience : désagréger les tissus dans un milieu hyper-osmotique (les cellules ne sont alors plus en contact), puis centrifugation faible pour former une boule. En 30', il y a une réorganisation de l'hydre. Comme un puzzle mais où toutes les pièces non identifiables seraient mélangés en 2 groupes : Les cellules de la couches internes redonneront uniquement des cellules de la couches internes et celles de la couche externes seront des cellules de la couches externes. La tête (structure en 3D avec une ouverture sommitale) est un pôle organisateur. Plusieurs têtes vont donc commencer à émerger, mais l'une prendra l'ascendance sur les autres.

2 axes de recherche en cours :

- Comprendre les cascades génétiques pour faire de la neurogenèse

Cascades génétiques qui sont capables d'induire la différenciation au cours de la régénération avec aussi comme autre support l'anémone de mer

- Qu'est ce qui se passe si on ampute sectionne l'animale en 2 : quel est la plasticité cellulaire ?

Expérience : Section transversale en 2 d'une hydre : La partie postérieure va régénérer une partie antérieure très facilement par différenciation des cellules au niveau de l'amputation. Cela s'observe après 20' déjà, et commence par l'expression de gènes. Sur ce sujet les questions sont :

Qu'est-ce qui règle la symétrie qui se met en place si facilement ?

Qu'est-ce qui règle le fait qu'un tissu gastrique peut devenir un tissu organisateur ?

Si on greffe une partie de régénération antérieure sur une hydre entière, environ au milieu de l'animal, la partie greffée va induire une tête. La position de la greffe est importante, car la tête « actuelle » induit un *gradient d'inhibition de la tête au pied* pour d'autres têtes.

1 heure après amputation, au niveau du moignon, dans la première couche de cellules 50% meurent. Ce sont uniquement les cellules assez différenciées qui meurent et qui « relarguent » des signaux qui vont induire la prolifération des cellules avoisinantes: il y a une mort asymétrique (après division cellulaire des cellules souches, elles restent souvent en paires). Seule survit la cellule souche (même observation chez la drosophile ou dans le pancréas de souris). Il faut 70% de cellules en apoptose pour que l'on observe une prolifération des cellules souches. Lien avec le cancer : certaines des cellules tumorales sont des cellules souches donc par administration de facteurs antiméiotiques, on ne tue que les cellules qui prolifèrent vite en laissant vivantes ces cellules souches qui restent silencieuses et qui sont responsables des rechutes. En tuant les cellules tumorales on facilite la prolifération de cellules souches cancéreuses qui vont avoir tendance à proliférer, car les gens ne meurent pas de tumeurs primaires mais de métastases qui sont des cellules tumorales primaires qui ont trouvé une nouvelle niche favorable.

Lois et restrictions :

Aucune limitation par des lois sur les cellules souches d'hydre
A part sur les recombinaisons génétiques.

Cellules souches humaines : lois strictes mais aucun accident connu aujourd'hui.
Cf : SSCN

Aucune mesure spéciale de laboratoire. Seule la colchicine (fort antiméiotique et poison toxique) n'est pas manipulée par tout le monde dans le laboratoire.

Obstacles et recommandations didactiques :

Notion d'échelle entre organisme / tissus / cellule / organite / molécule
Comment une molécule peut réguler un comportement cellulaire ?

Toujours définir le lieu de représentation pour se situer à l'échelle adéquate.

Moins insister sur le vocabulaire mais plus sur la compréhension des phénomènes.

Parler de l'évolution et se battre contre le créationnisme

Distinguer 3 niveaux du savoir :

- Bases dogmatiques vérifiées et acquises. Exemple : DNA→RNA→Protéines.
- Hypothèses vérifiées moins consolidées mais en cours de consolidation. Ex : cellules souches sont capables de donner des cellules cancéreuses.
- Spéculations à partir de données existantes plus flottantes et avec des idées qui permettent de confirmer ces idées.

Question que pourraient poser les élèves :

Comment 1 cellule souche peut savoir qu'elle doit entrer en mitose ?

Penser alors au niveau de communication cellulaire entre les cellules et à l'intérieur même de la cellule : aborder peut-être la notion de message cellulaire et permettre de faire le lien avec le nouveau concept de développement du cancer à partir des cellules souches. Introduire ce thème par une question générale pour glisser sur la notion de cancer et comprendre la prolifération cellulaire.

L'évolution, heureusement acquises pour les chercheurs qui travaillent sur les invertébrés, a fait ses preuves grâce aux comparaisons de séquences d'ADN conservées depuis les hydres jusqu'à l'homme. Une idée est de les faire comparer des séquences pour prouver que les résultats prometteurs sur ces animaux pourront peut être s'appliquer à l'homme avec seulement quelques améliorations.

Idée de B Galliot : Intégrer des notions concrètes de cette évolution en comparant de séquences d'ADN, avec comme autre support les reviews de A Sanchez Alvarado (en anglais !).

Autre exemple de recherche actuelle qui prouve la conservation de séquence d'ADN, et qui en est une application directe est l'implantation de gènes orthologues entre souris, mouche et hydre et qui permet par exemple a une souris KO pour 1 gène responsable de la régénération de cellules nerveuses périphériques, d'être remplacé par un gène de mouche.

Voir les travaux sur le poisson Zèbre, très prometteurs, car il régénère ses cellules nerveuses toute sa vie. Il est également capable de régénérer son cœur entièrement, à partir de cellules souches qui migrent depuis une niche, se différencient puis régénèrent ailleurs : Actuellement un des projets les plus attendus pour les accidents du myocarde mais difficile car les dernières expériences a ce sujet sur la souris ont été vaines.

Quelques références :

[Abstract Alejandro Sanchez Alvarado comparaison du renouvellement cellulaire entre plantes et animaux :](#)

[Bridging the regeneration gap: genetic insights from diverse animal models](#)

[Les cellules souches porteuses d'immortalité](#)

Conclusion :

Maintenant, à partir de ces informations souches, on a plus qu'à les régénérer, pour les différencier de manière à les adapter à notre projet !

Remerciements :

Un grand merci au Professeur B. Galliot pour cet interview.