

Professeur David Suter
École des sciences de la vie, EPFL

Cellules souches, hématopoïèse et homéostasie des tissus

BIO-310
2024

Plan du cours

28-29/11 Introduction générale aux cellules souches

05-06/12 Notions de base d'histologie, principes d'homéostasie tissulaire et implications pour le cancer

12-13/12 Cellules souches hématopoïétiques et homéostasie du sang

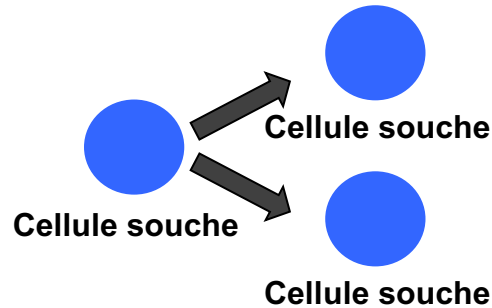
19-20/12 Technologies d'analyse et d'utilisation des cellules souches

Un génome, de un à des centaines de types cellulaires

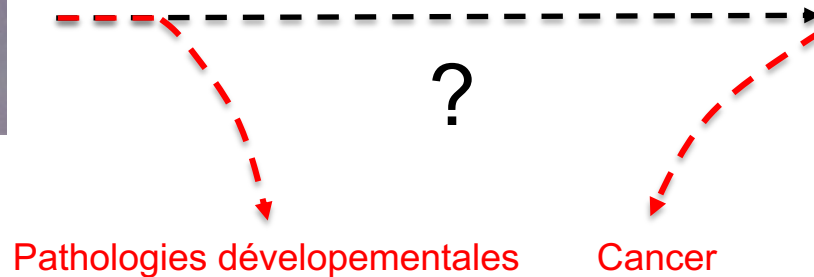
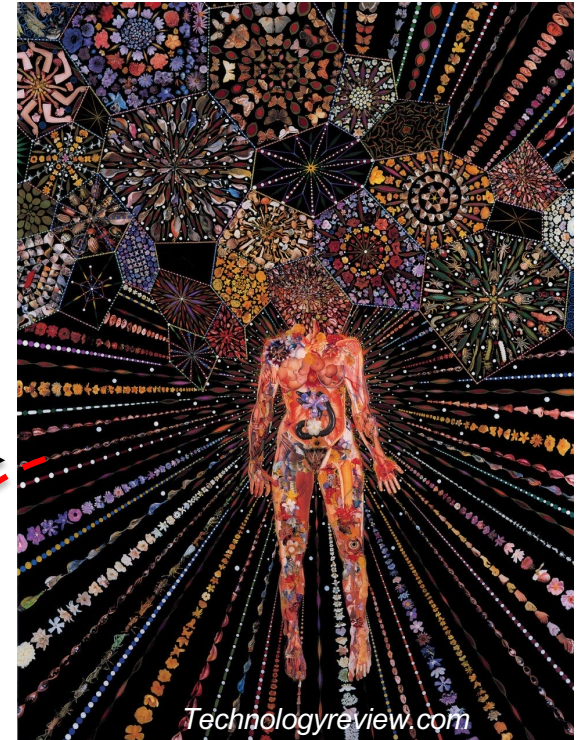
1 génome, 1 cellule



Auto-renouvellement



1 génome, >300 types cellulaires

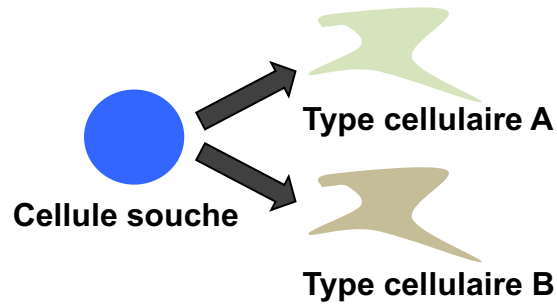


Un génome, de un à des centaines de types cellulaires

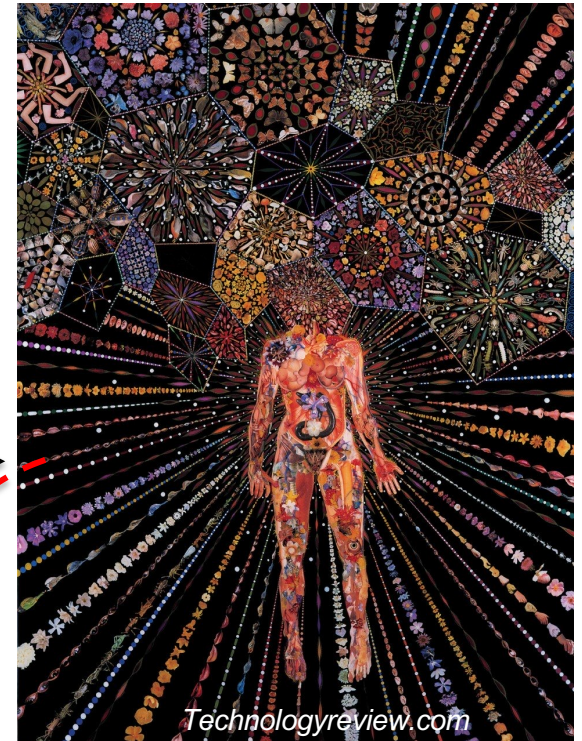
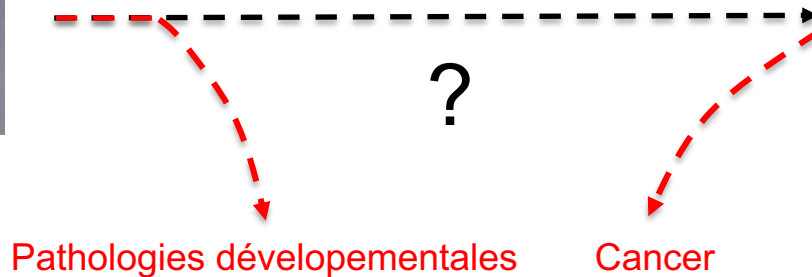
1 génome, 1 cellule



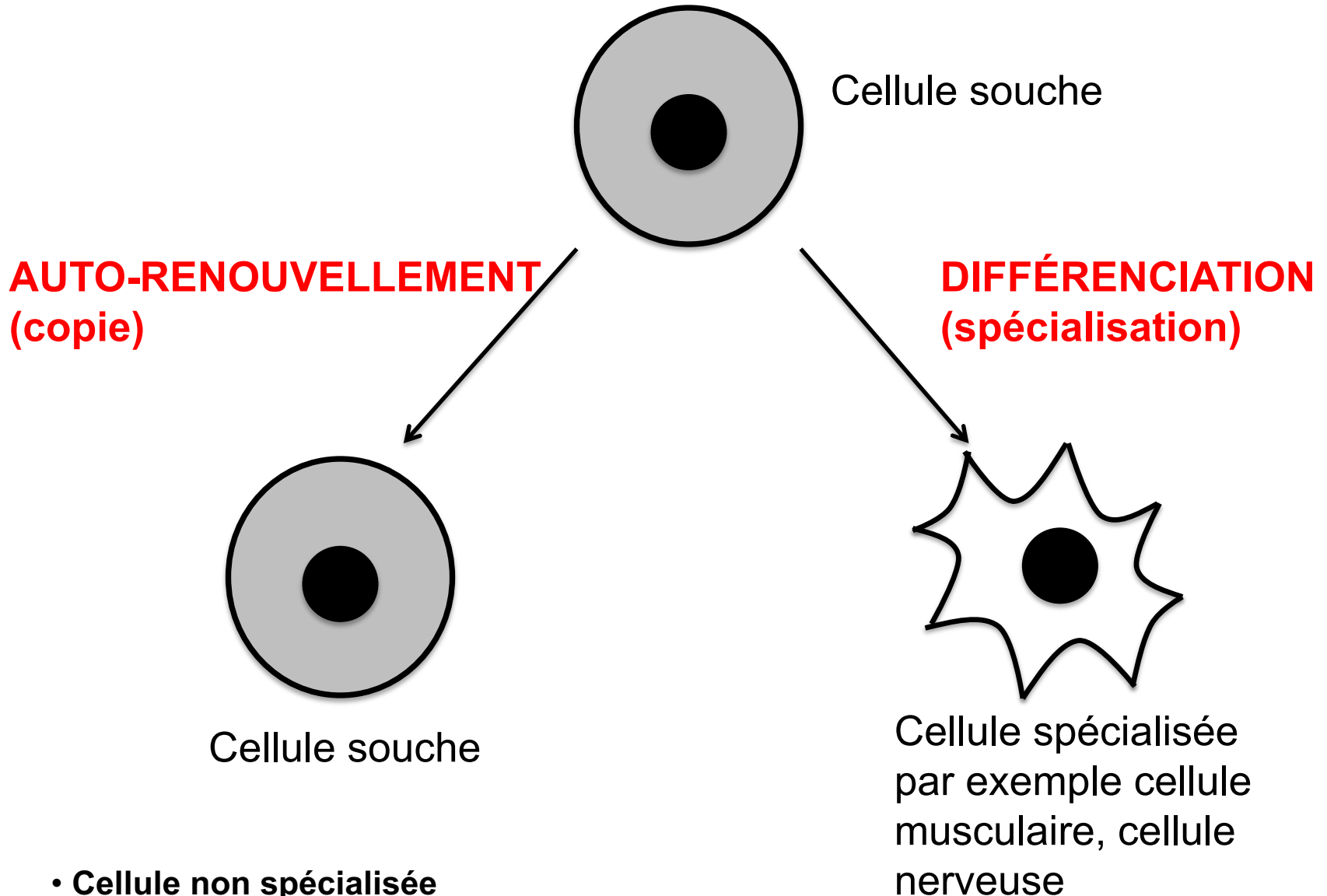
Différenciation



1 génome, >300 types cellulaires

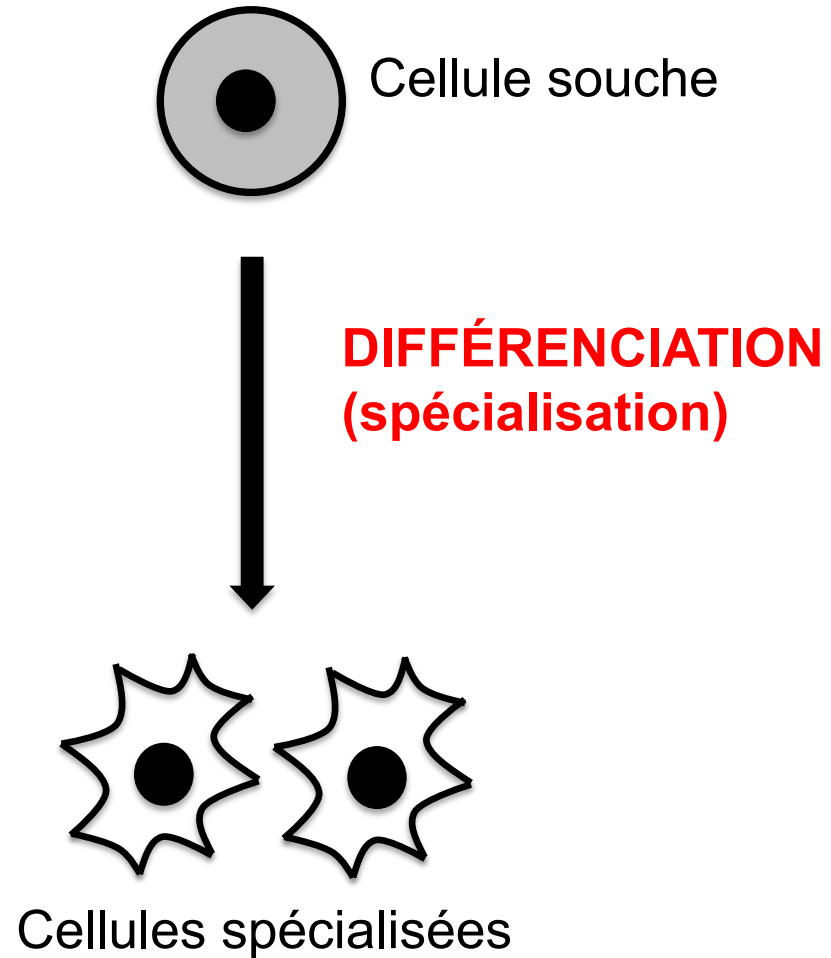
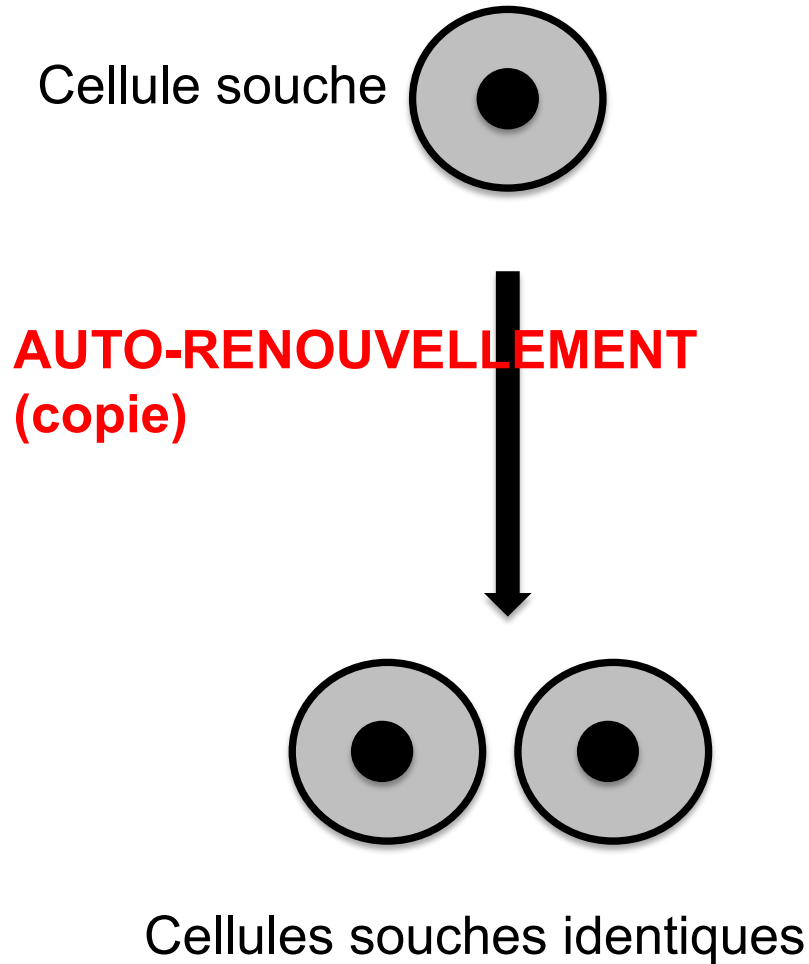


Qu'est-ce qu'une cellule souche ?



- Cellule non spécialisée
- Capacité à se renouveler et à se différencier

Qu'est-ce qu'une cellule souche?



**La recherche sur les cellules souches est née au lendemain
d'Hiroshima et de Nagasaki (6 et 9 août 1945)**



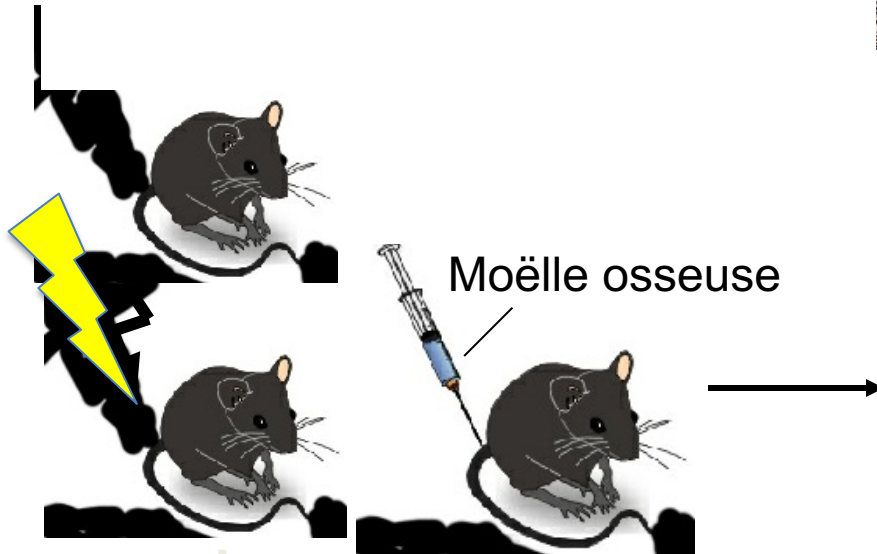
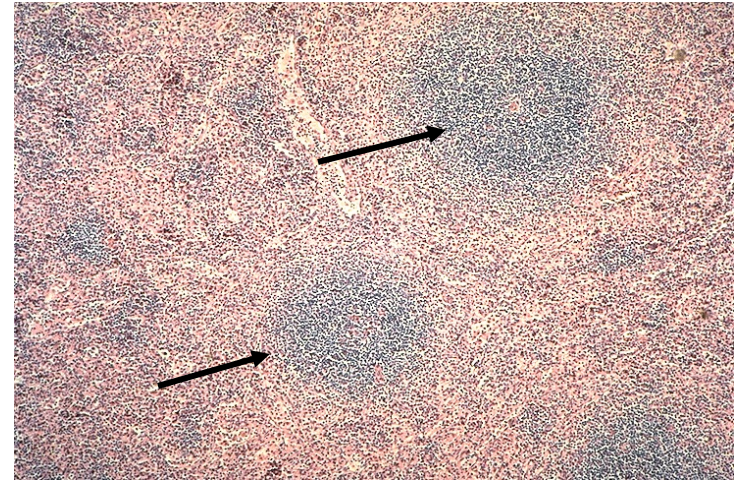
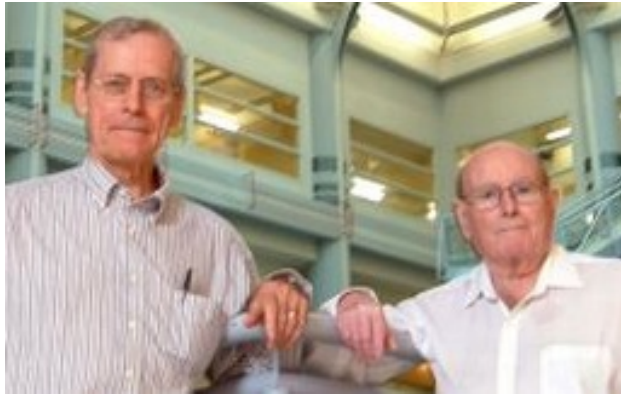
Symptômes des personnes irradiées

- Perte de poils et cheveux
- Perte de globules blancs
- Atteinte digestive et intestinale

→ **Atteintes de certains types cellulaires en particulier**

→ **Tissus à renouvellement rapide**

Till et McCulloch (1961)



Après 7-10 jours

section de rate, notez les colonies

Les cellules formant la colonie peuvent-elles se renouveler et générer de nouvelles cellules formant des colonies?

→ La transplantation en série permet de démontrer l'activité d'auto-renouvellement.



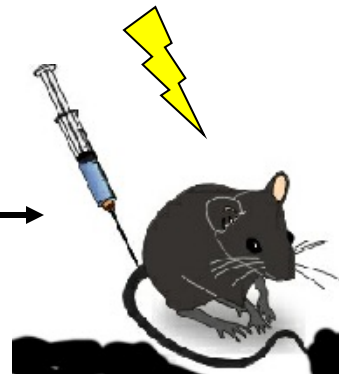
Moëlle osseuse



1°



Rate

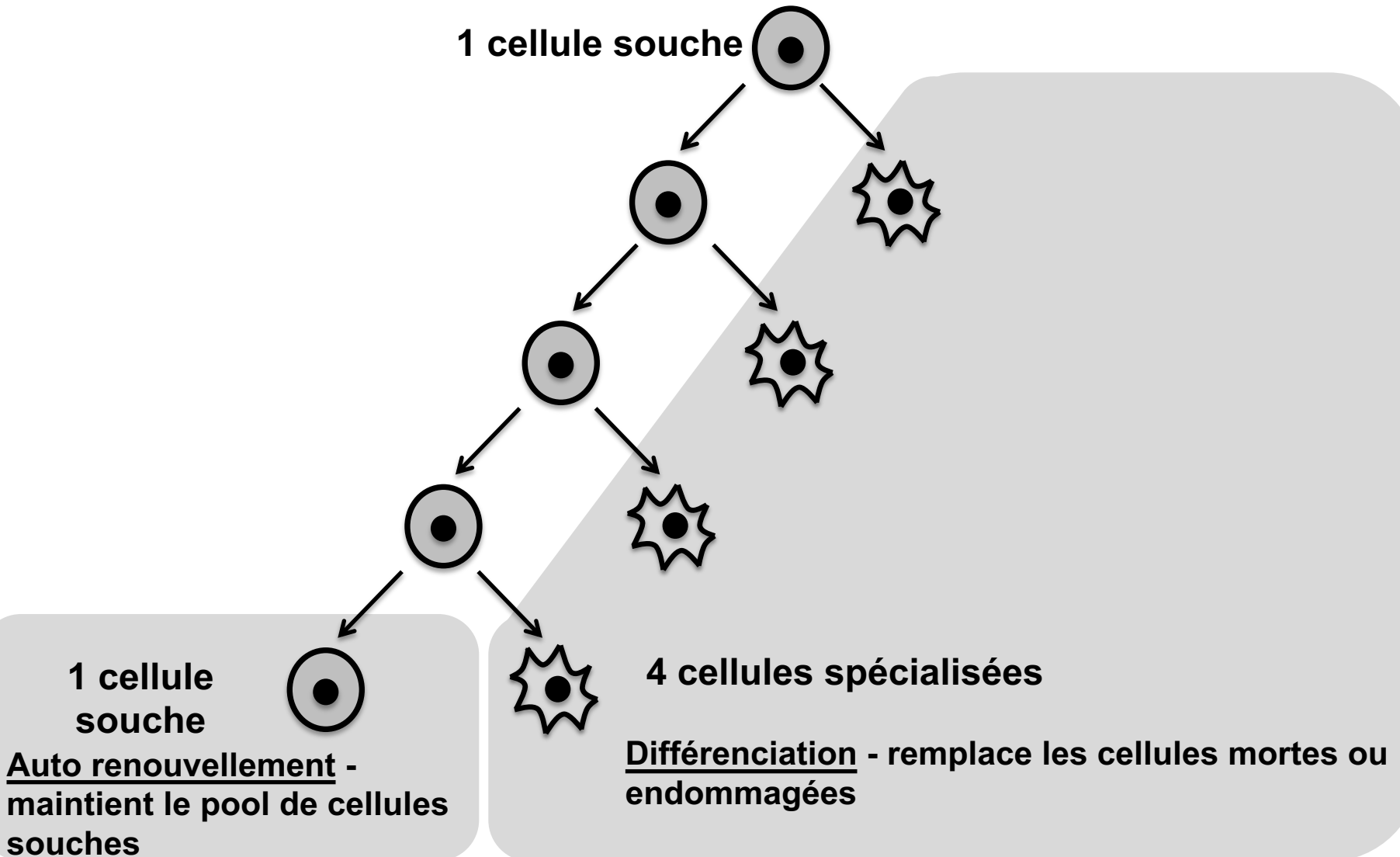


2°

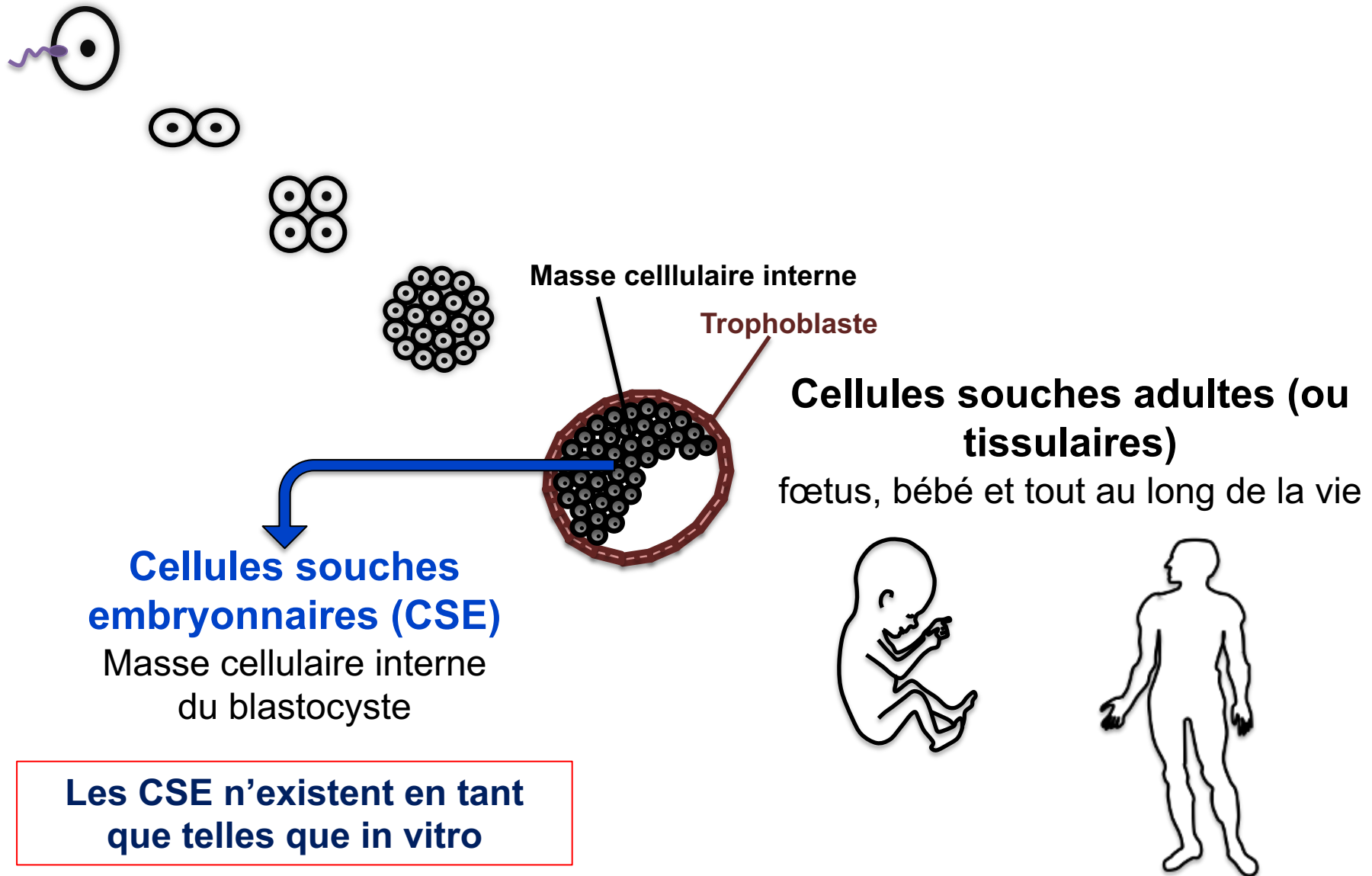


Rate

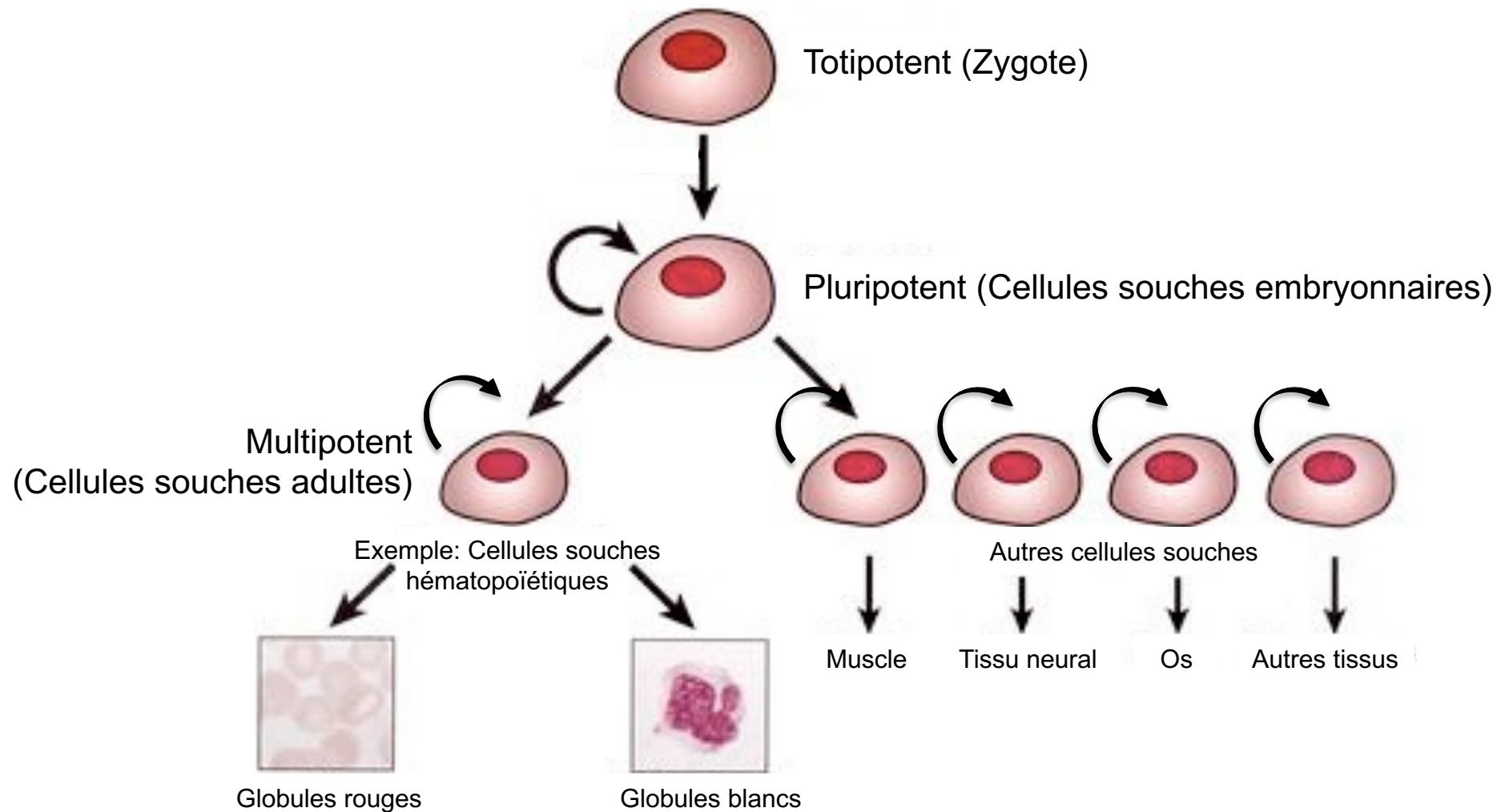
Pourquoi se renouveler et se différencier ?



Où trouve-t-on les cellules souches ?



Hiérarchie cellulaire lors du développement



Modifié à partir de <http://intrd187s-f12-grosovsky.wikispaces.umb.edu/Group+2+Stem+Cells>

Potentiel cellulaire

Totipotent: Peut faire **tous** les types de cellules spécialisées dans le corps et du placenta.

Le zygote est totipotent, mais ce n'est pas une cellule souche !

Pluripotent: Peut faire **tous** les types de cellules spécialisées dans le corps.
Les cellules souches embryonnaires sont pluripotentes.

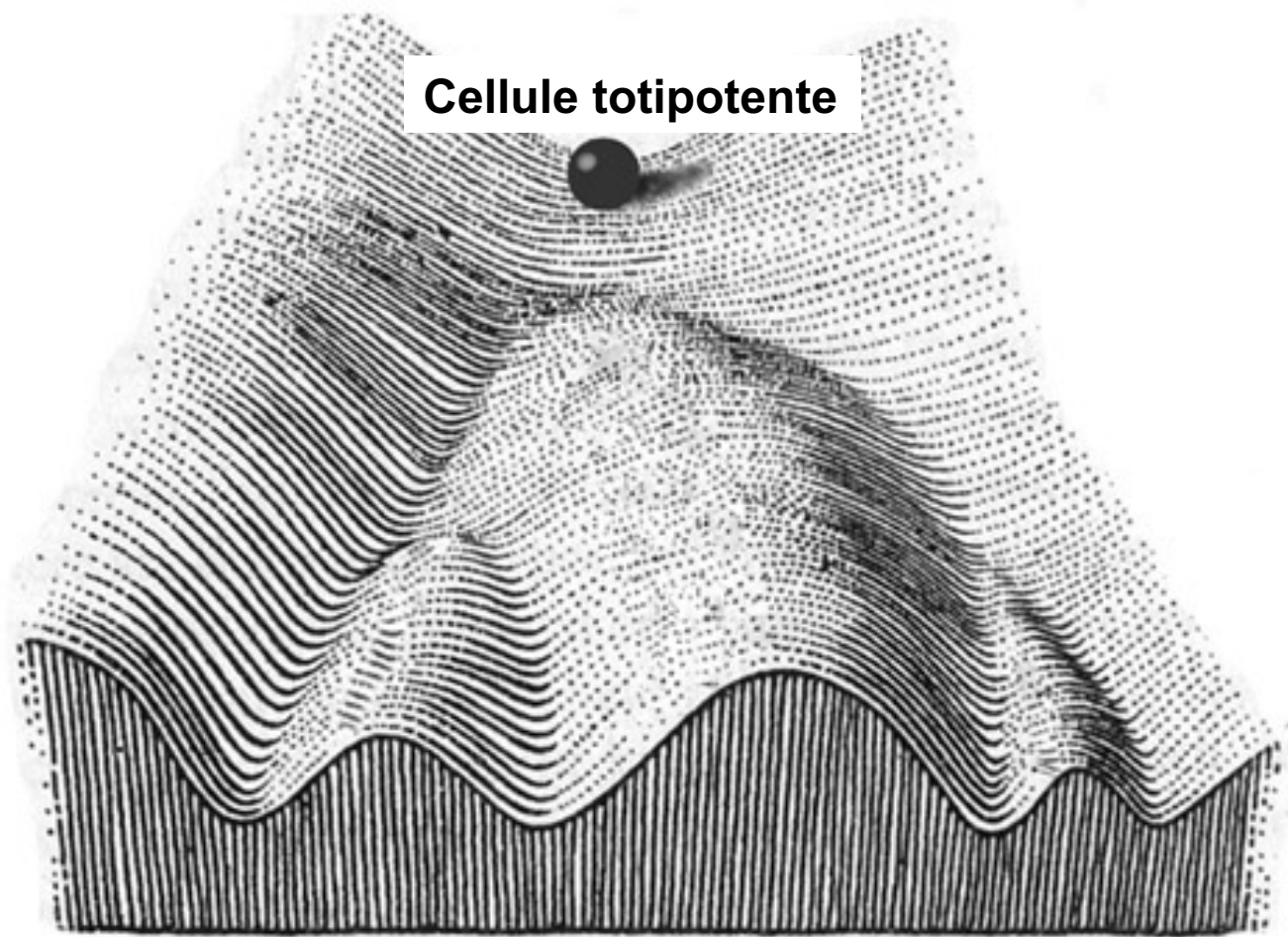
Multipotent: Peut faire **plusieurs** types de cellules spécialisées, mais pas tous les types.

La plupart des cellules souches tissulaires sont multipotentes

Unipotent: Peut faire **un seul** type de cellules spécialisées
Les cellules souches spermatogoniales sont unipotentes

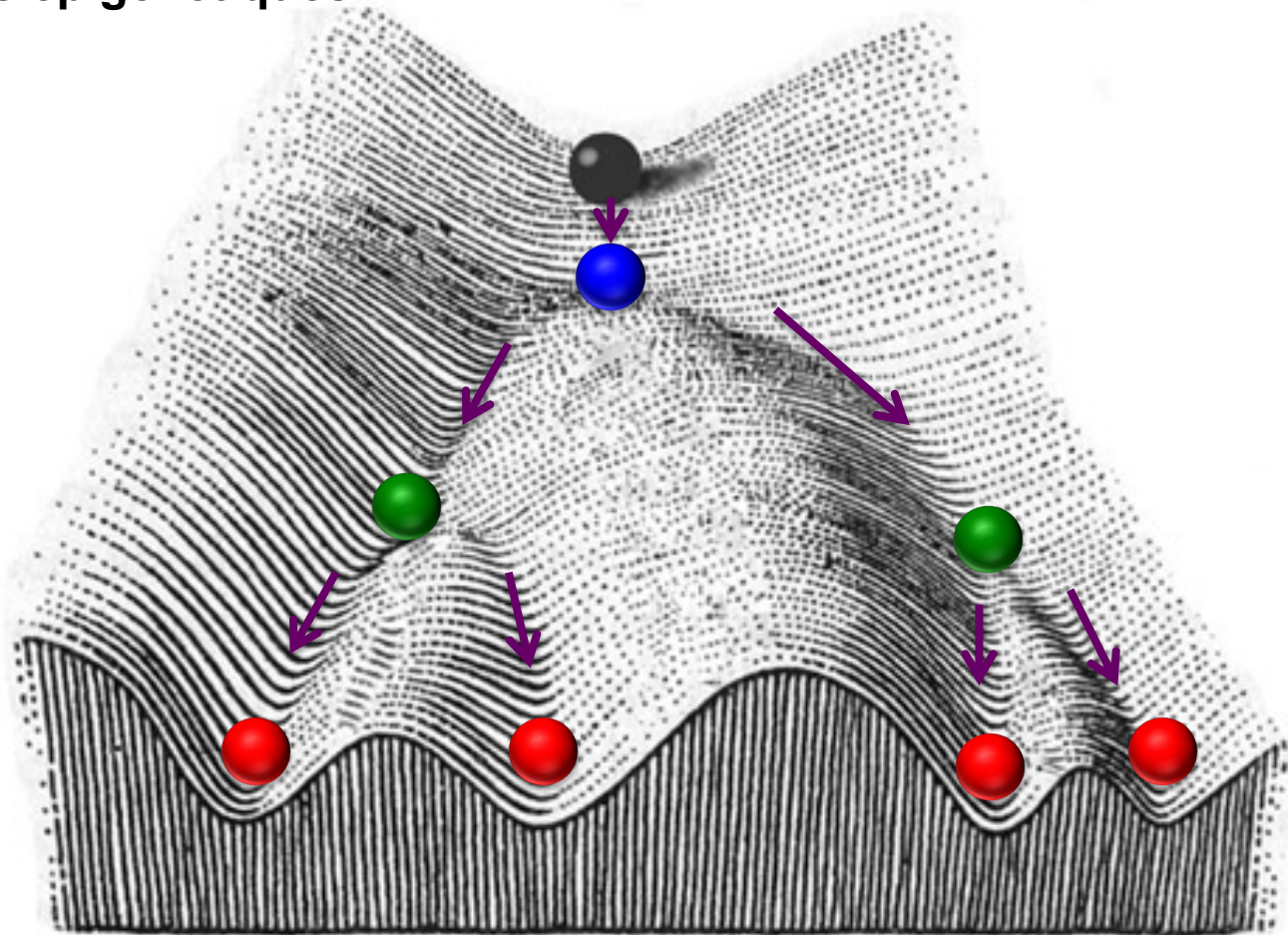
Paysage de Waddington

En 1957, Conrad Waddington proposa un **paysage épigénétique** pour représenter les décisions de **différenciation cellulaire** durant le développement



Paysage de Waddington

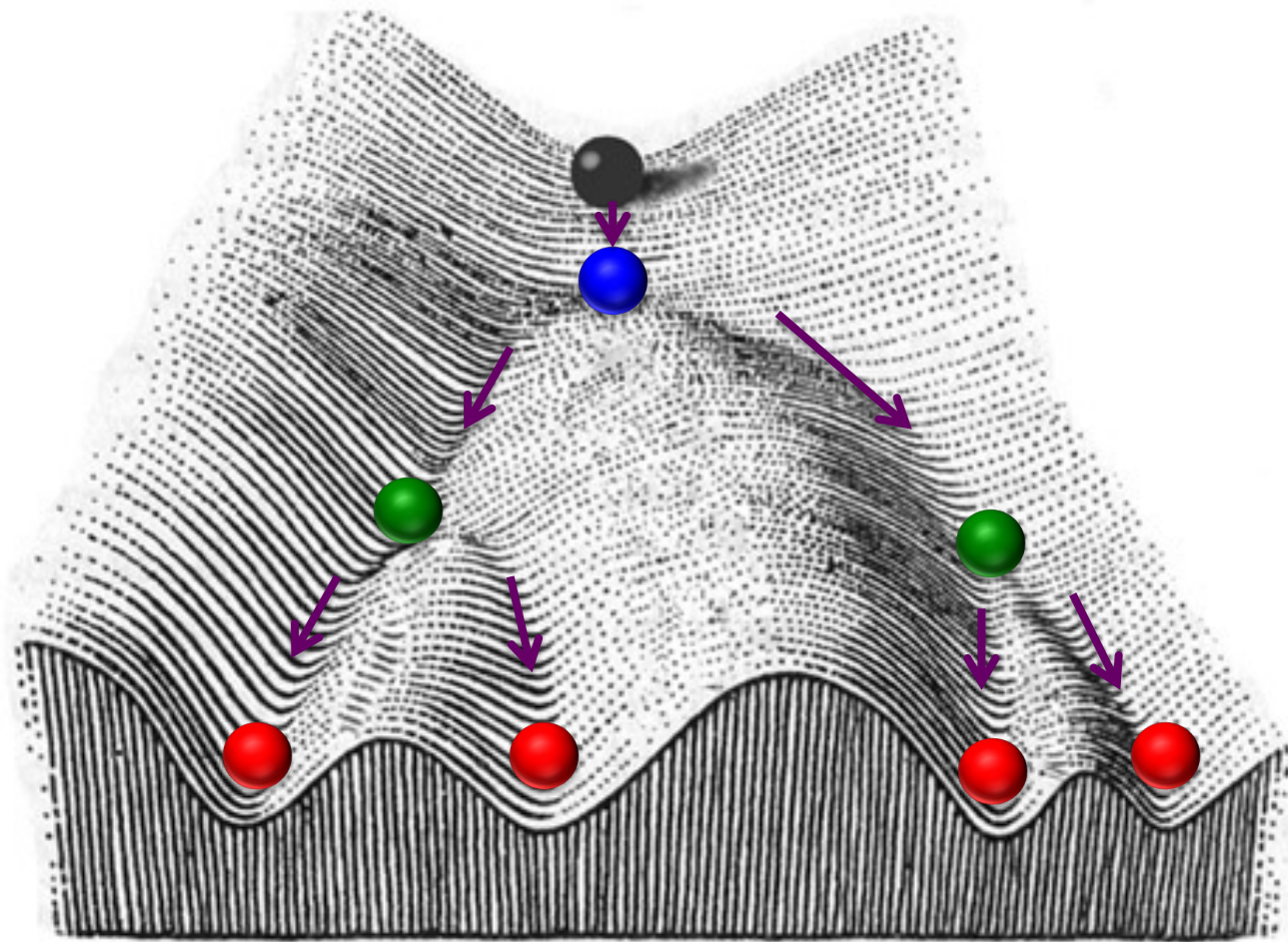
- Une cellule totipotente (le zygote) donne naissance aux **cellules pluripotentes**, puis aux **cellules souches adultes** et aux **cellules terminalement différenciées**
- Ces cellules sont génétiquement identiques, mais elles diffèrent par leurs propriétés épigénétiques



Paysage de Waddington

Éléments clés du paysage de Waddington:

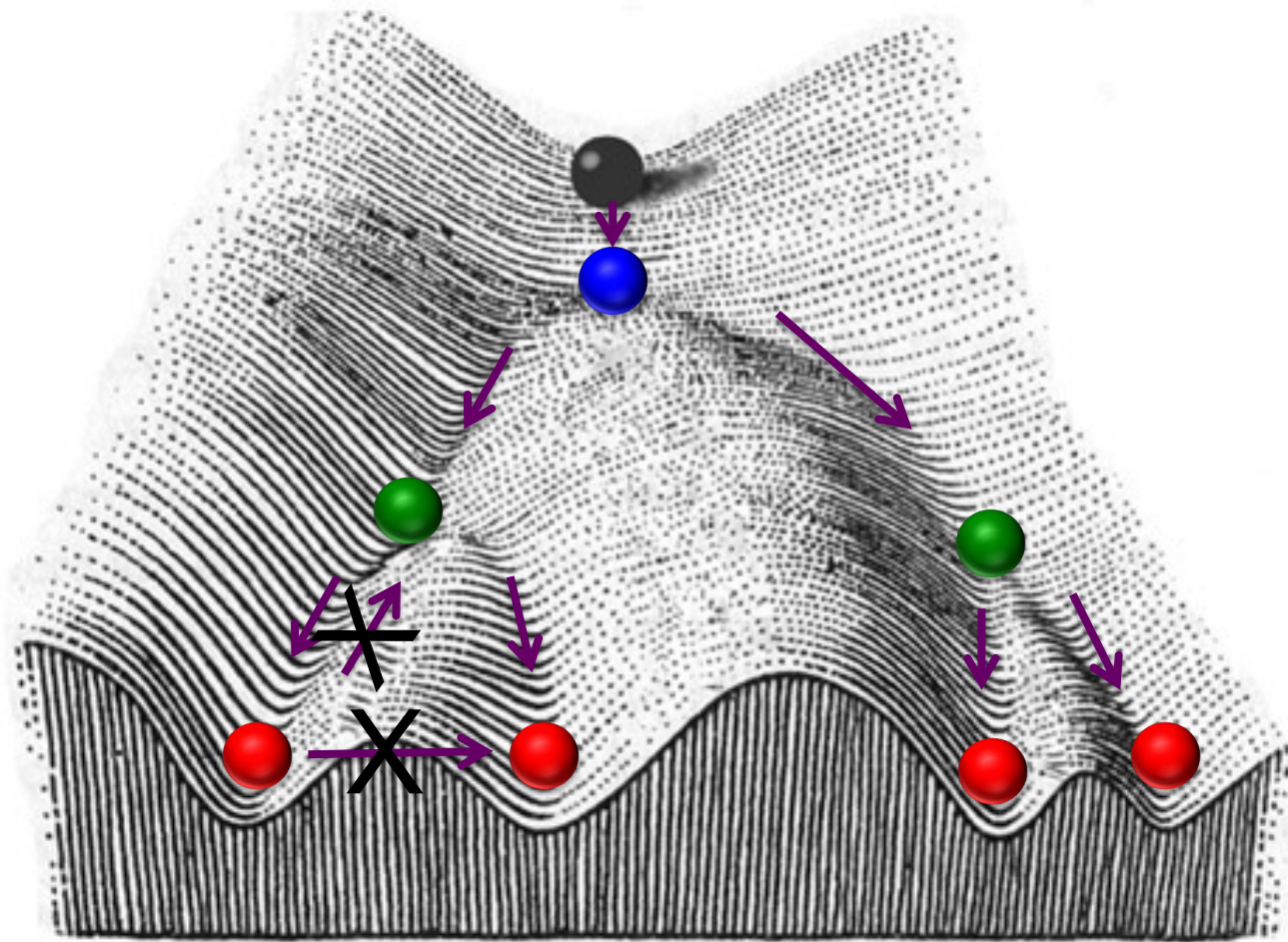
1. **Directionnalité** de la différenciation cellulaire



Paysage de Waddington

Éléments clés du paysage de Waddington:

2. **Irréversibilité** de la différenciation cellulaire

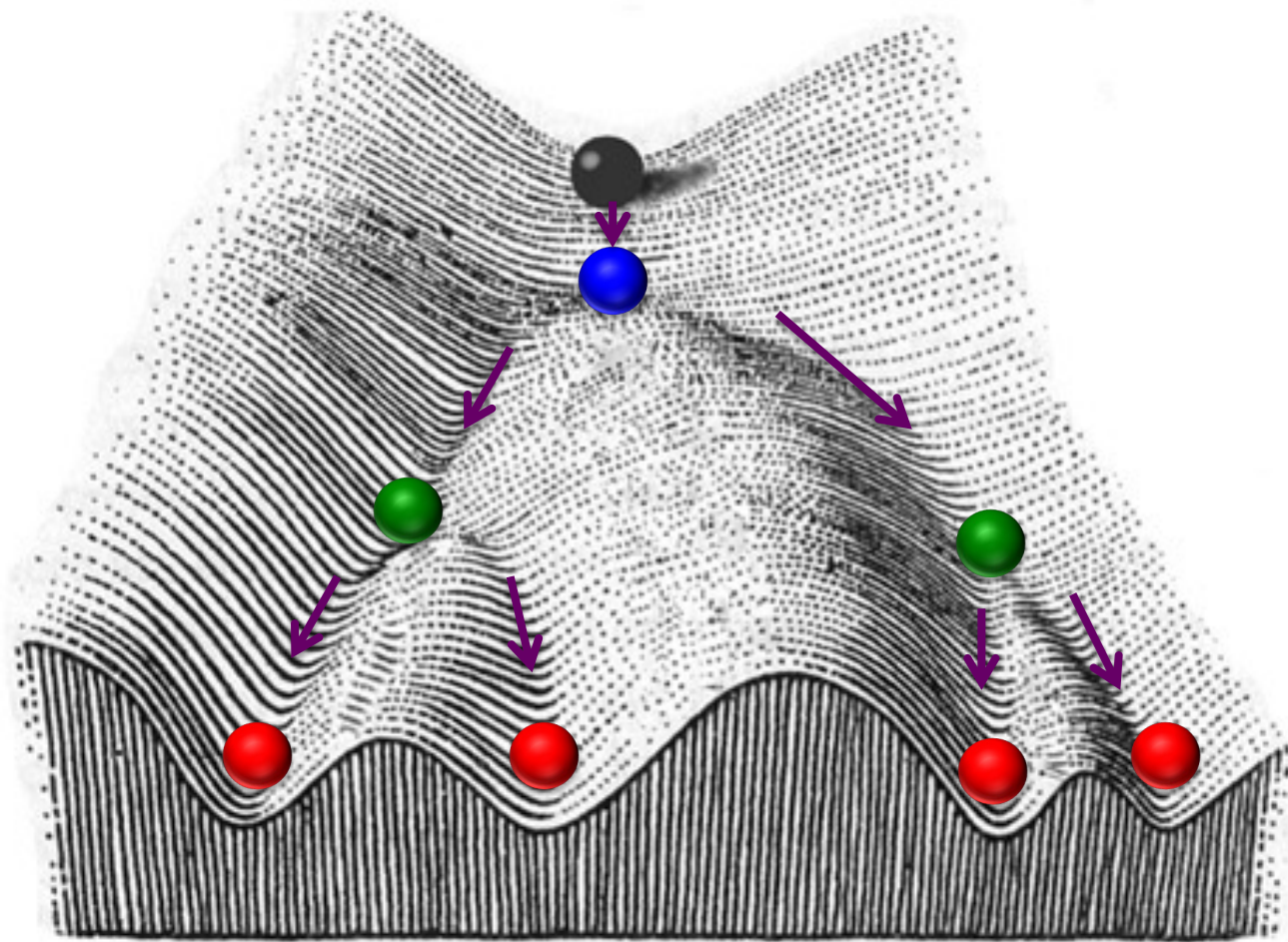


Concepts clés

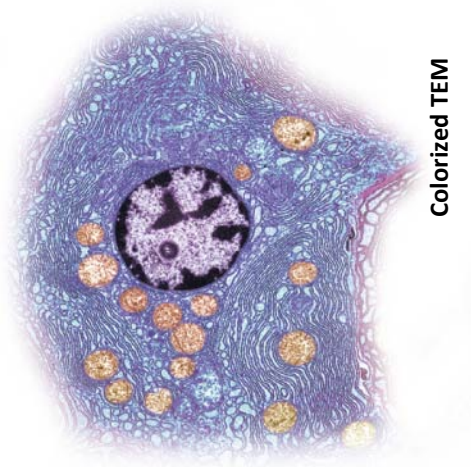
- Les propriétés **épigénétiques** formulées par Waddington font référence à **des mécanismes non génétiques** qui confèrent **des modifications stables de l'identité des cellules**.
- La **plasticité** fait référence à **la capacité des cellules à changer leur identité**.
- Les cellules souches ont une plasticité élevée, comme elles sont capables de se différencier en plusieurs types cellulaires. Les cellules terminalement différenciées ont un faible niveau de plasticité.

Questions clés

- Quels sont les mécanismes moléculaires qui confèrent la **directionnalité** et l'**irréversibilité** de la différenciation cellulaire ?

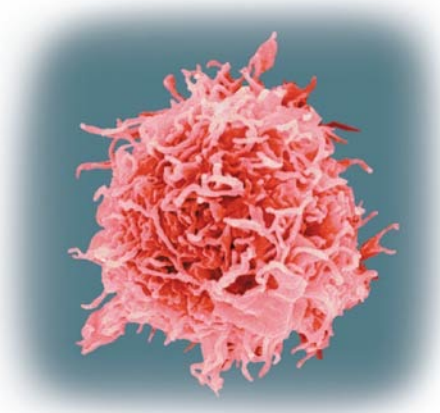


Qu'est-ce qui détermine l'identité d'une cellule ?



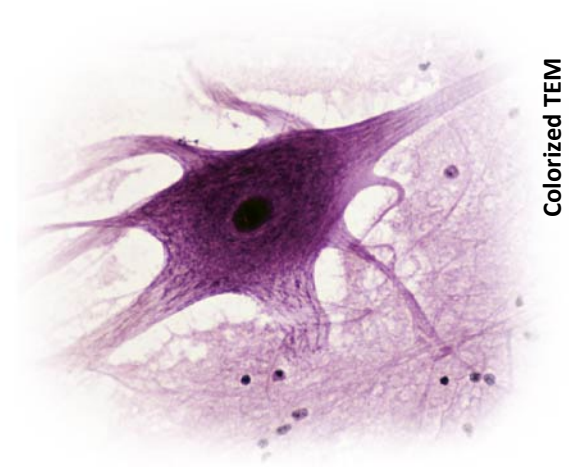
Cellule β

Colorized TEM



Lymphocyte B

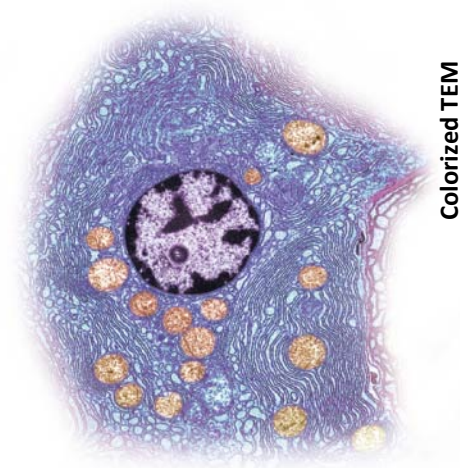
Colorized SEM



Neurone

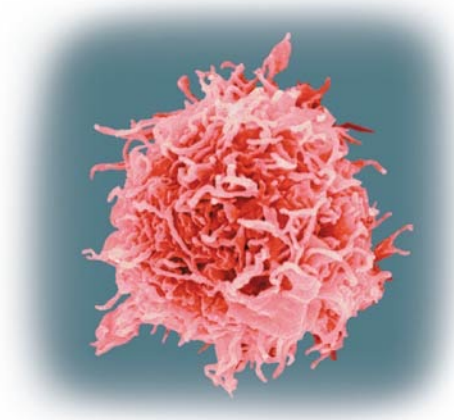
Colorized TEM

L'identité d'une cellule est déterminée par les gènes qu'elle exprime



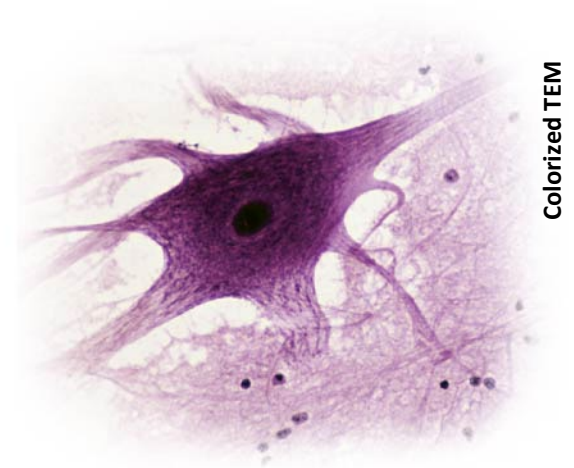
Cellule β

Colorized TEM



Lymphocyte B

Colorized SEM



Neurone

Colorized TEM

Gène pour un enzyme
de la glycolyse ✓



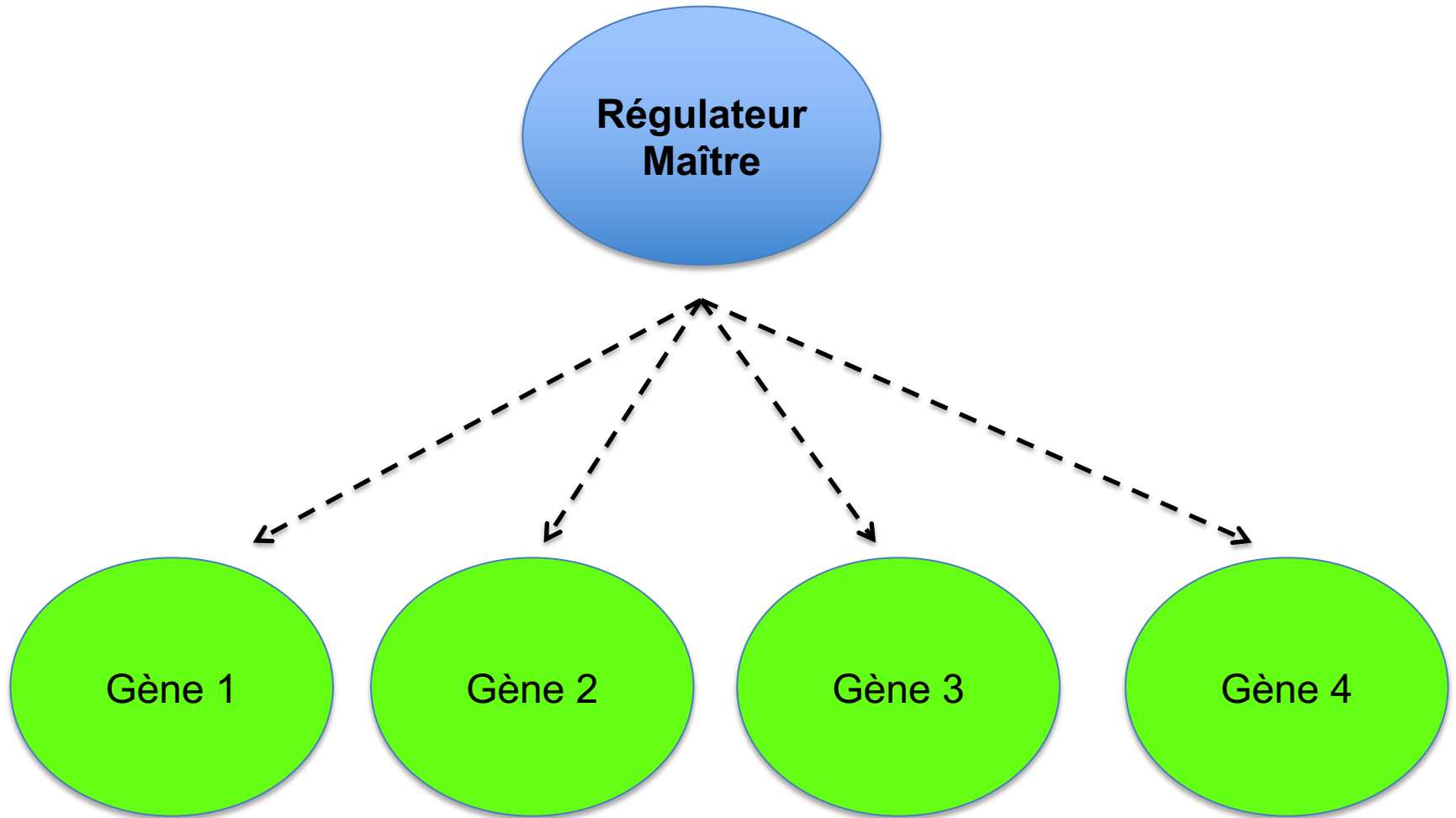
Gène pour un anticorps



Gène de l'insuline ✓

Gène de l'hémoglobine

Régulateurs maîtres de l'identité cellulaire

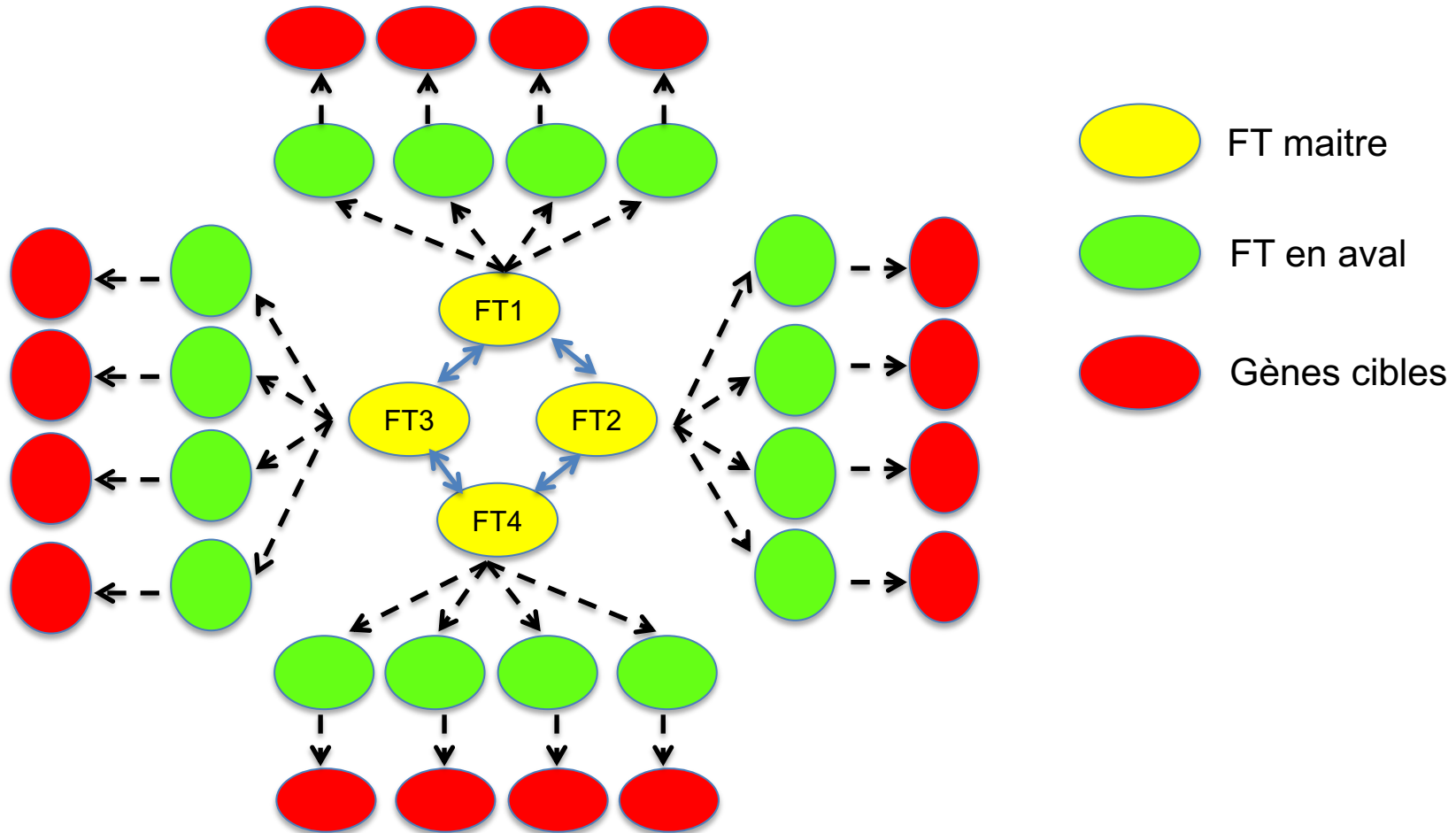


Propriétés des régulateurs maîtres

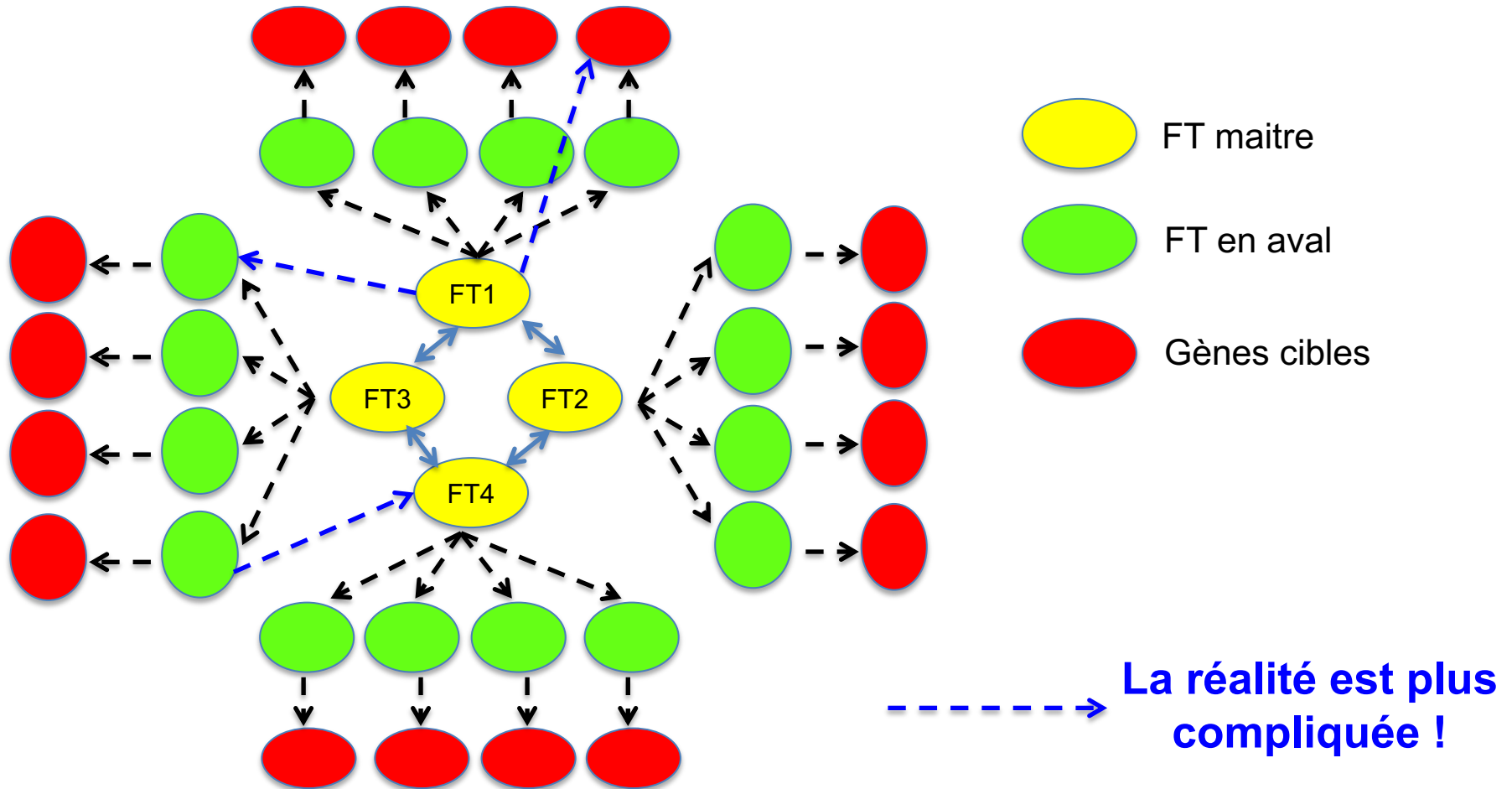
- Contrôlent positivement ou négativement l'expression d'autres gènes
- Spécifiques pour certains gènes

Facteurs de transcription

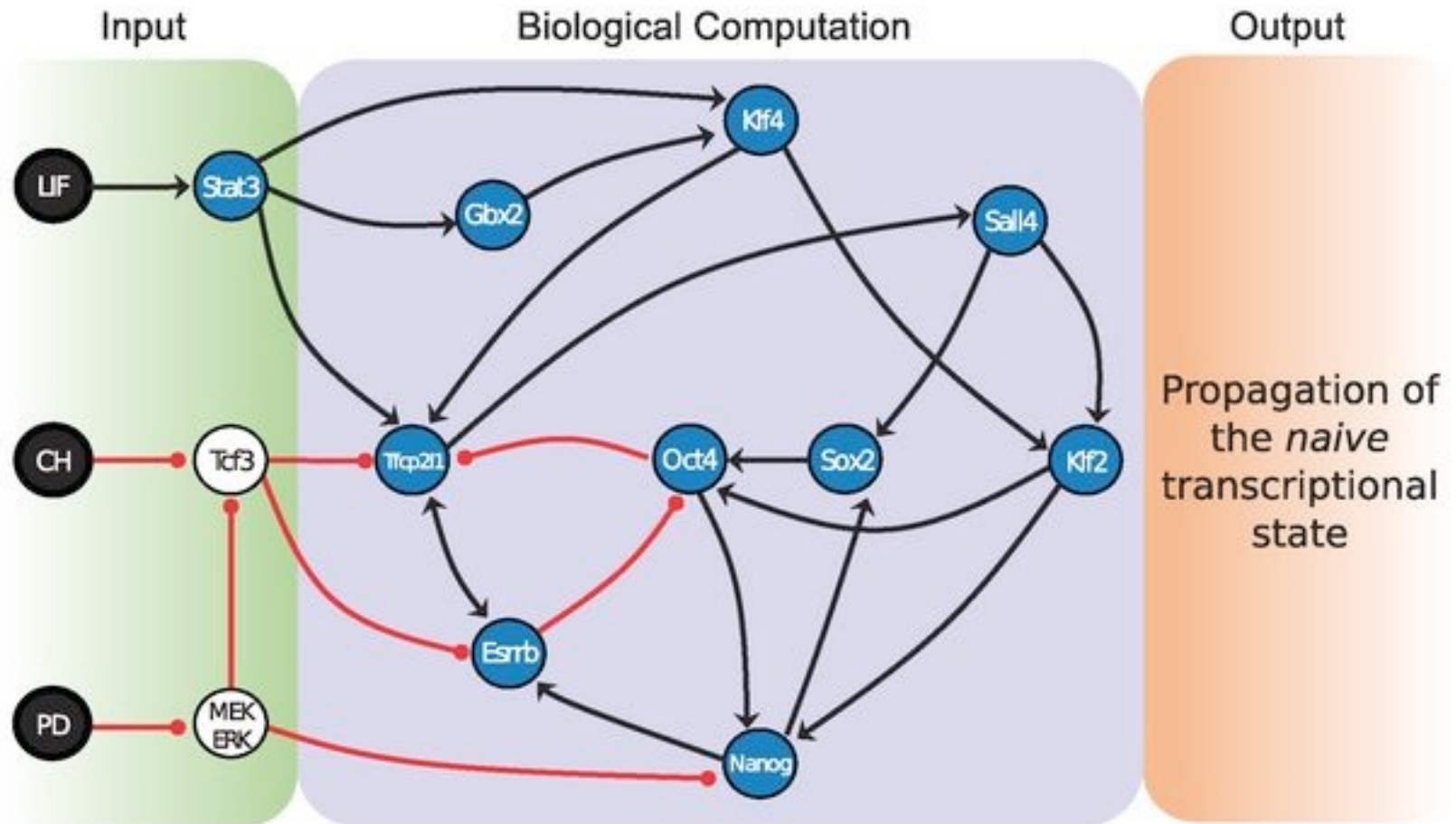
Les facteurs de transcription sont organisés en réseaux



Les facteurs de transcription sont organisés en réseaux

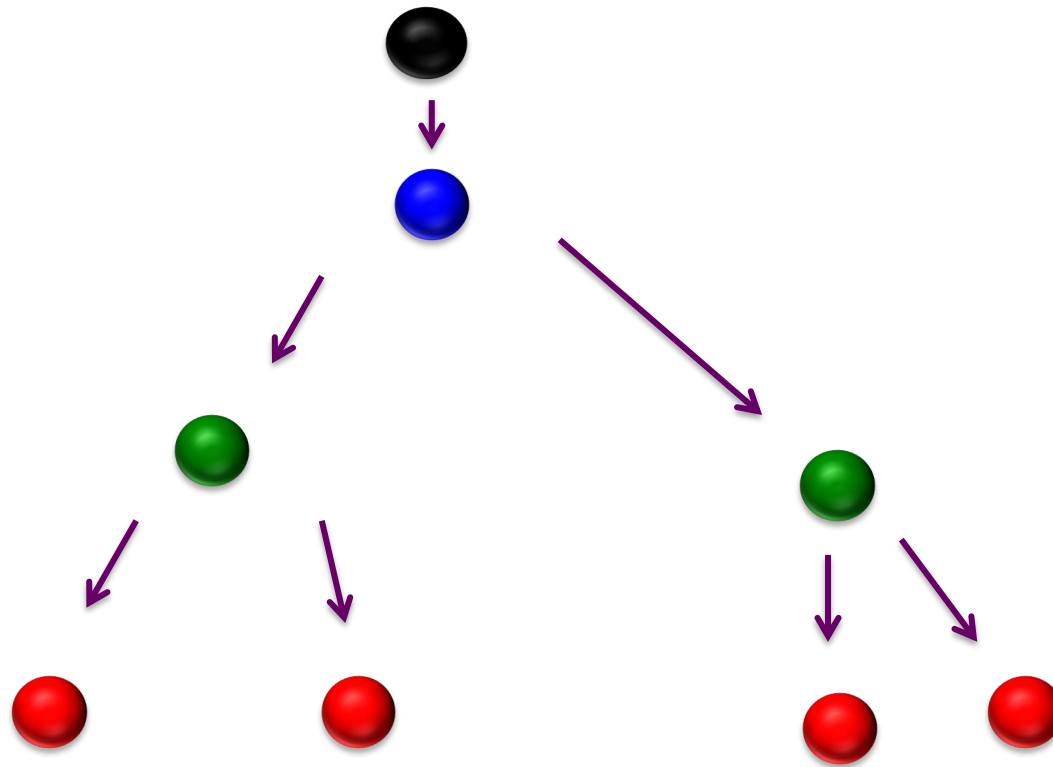


Exemple: cellules souches embryonnaires



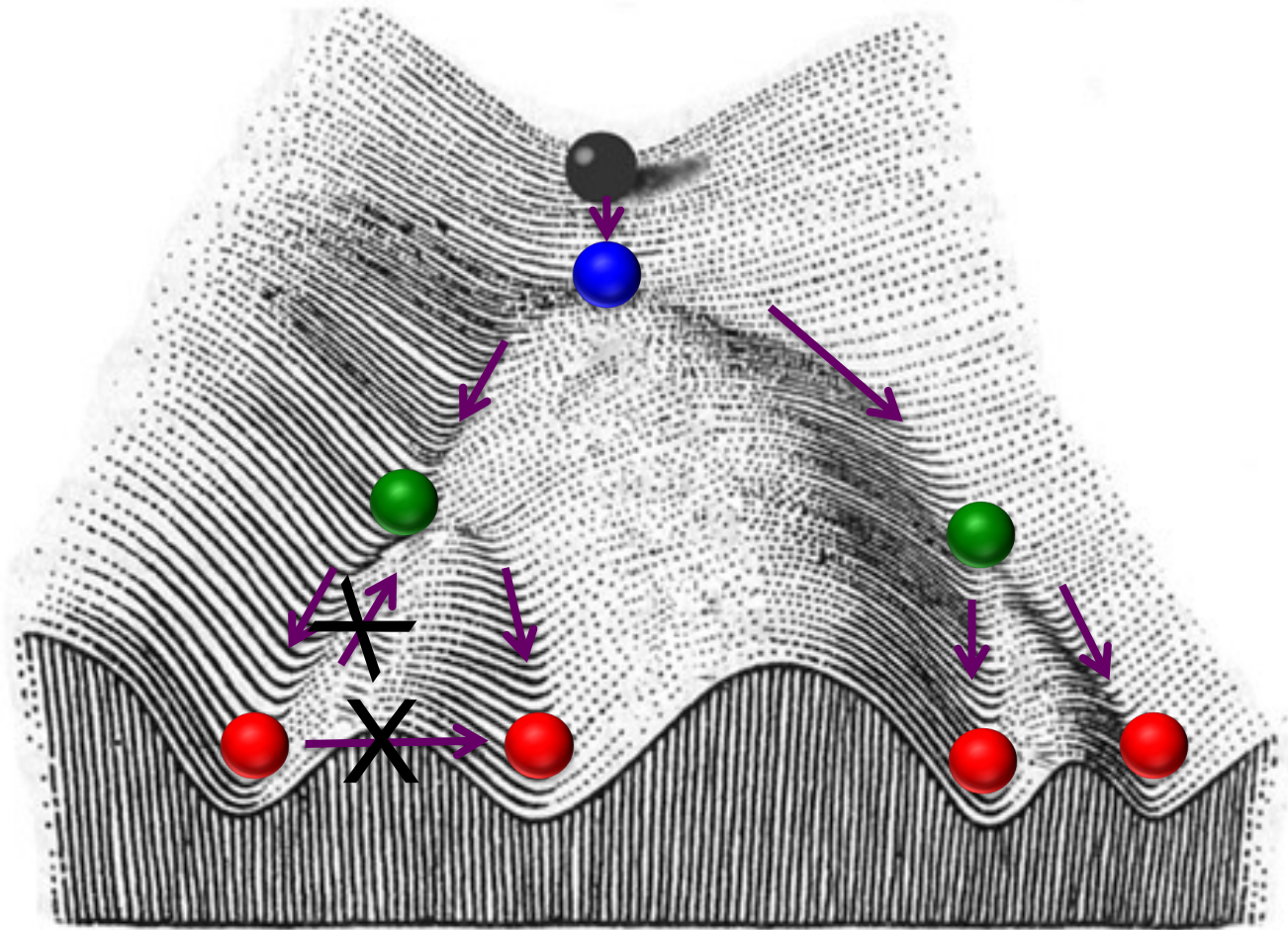
Rôle des **facteurs de transcription maîtres**

→ Définissent l'identité des cellules et la transition d'une identité à l'autre

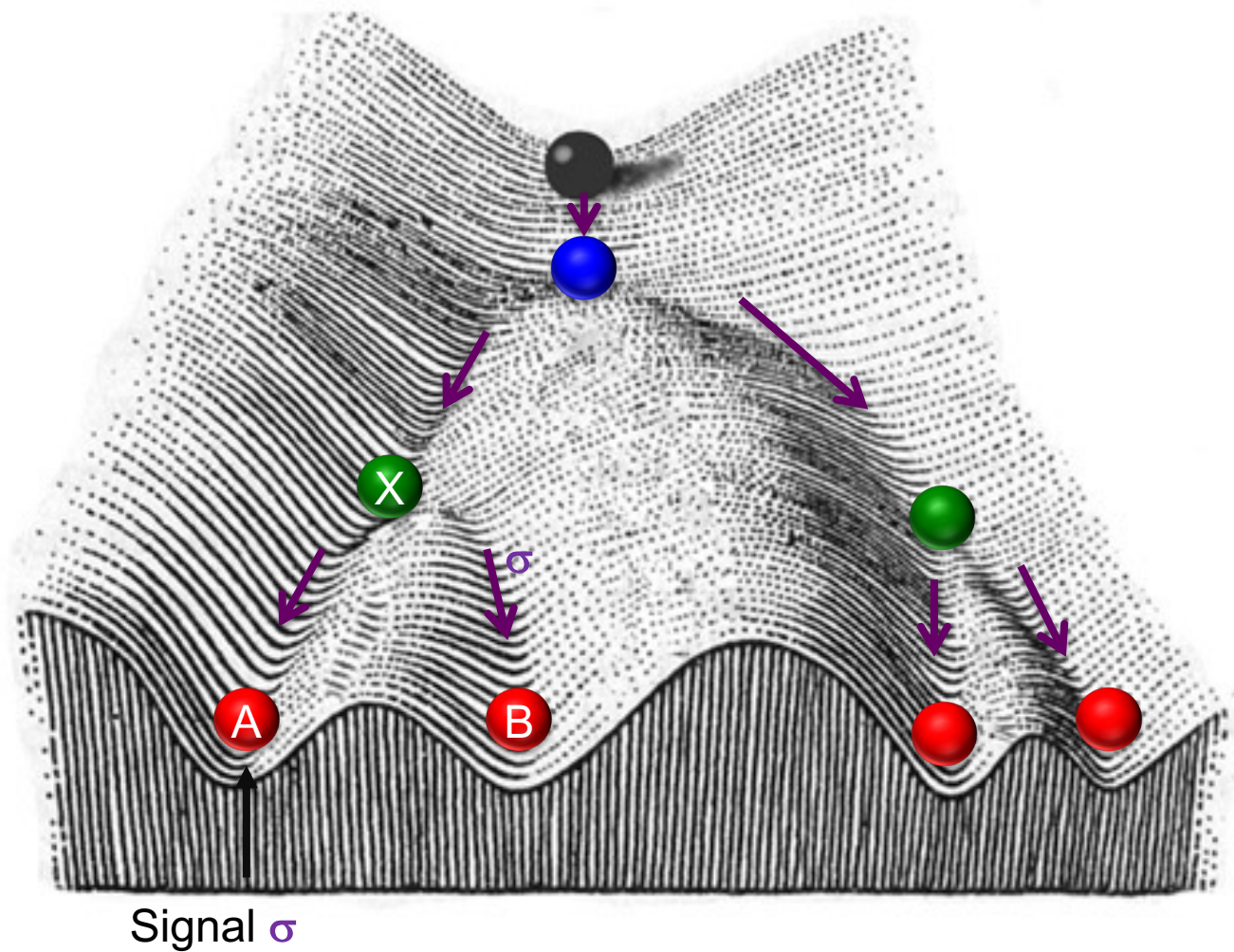


Fin de la 1^{ère} partie

D'où vient la barrière qui empêche les cellules de remonter sur le paysage ou de passer d'une vallée à l'autre ?

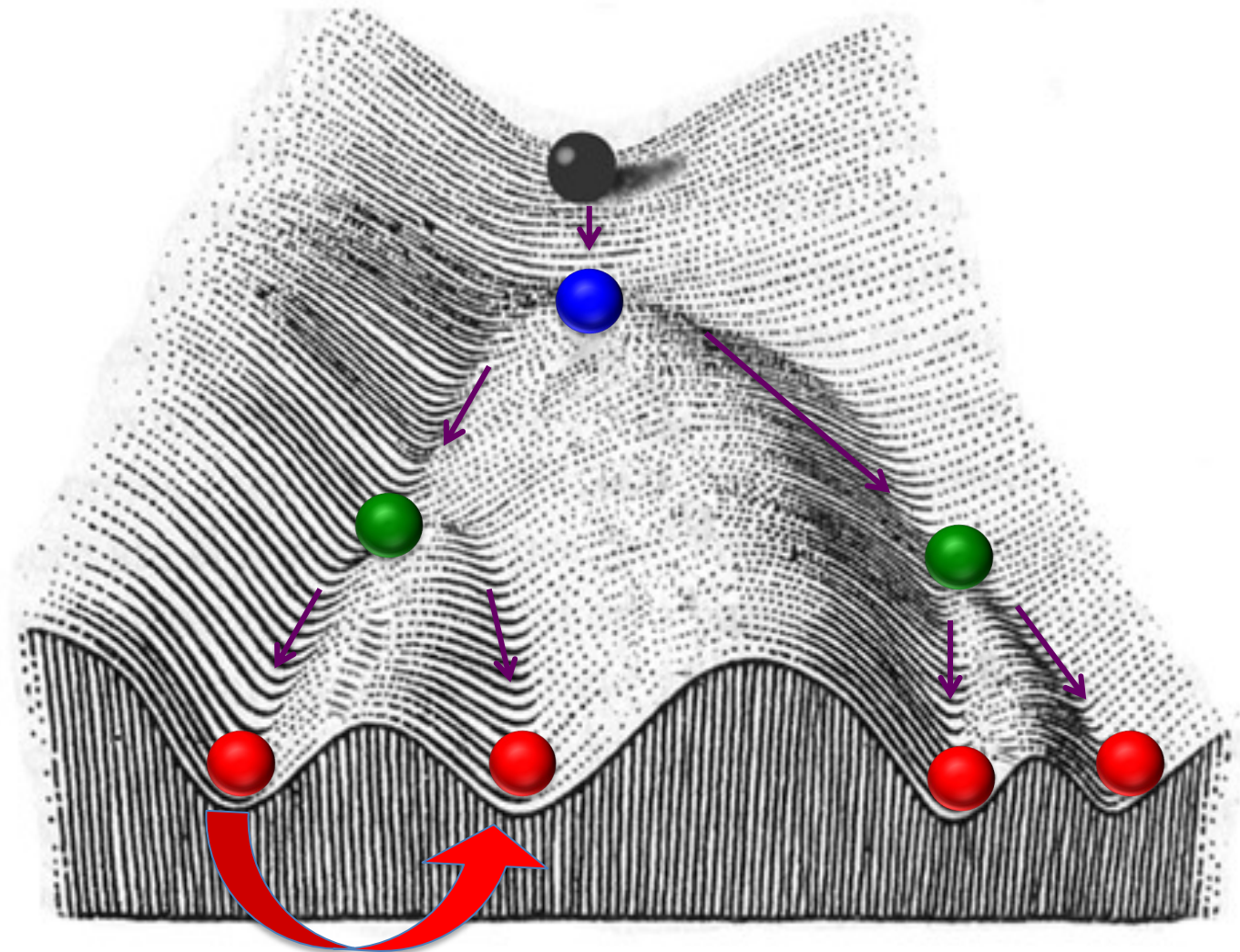


Que se passe-t'il si on stimule les cellules A avec le signal σ qui normalement font que X se différencie en B ?



En général: rien du tout

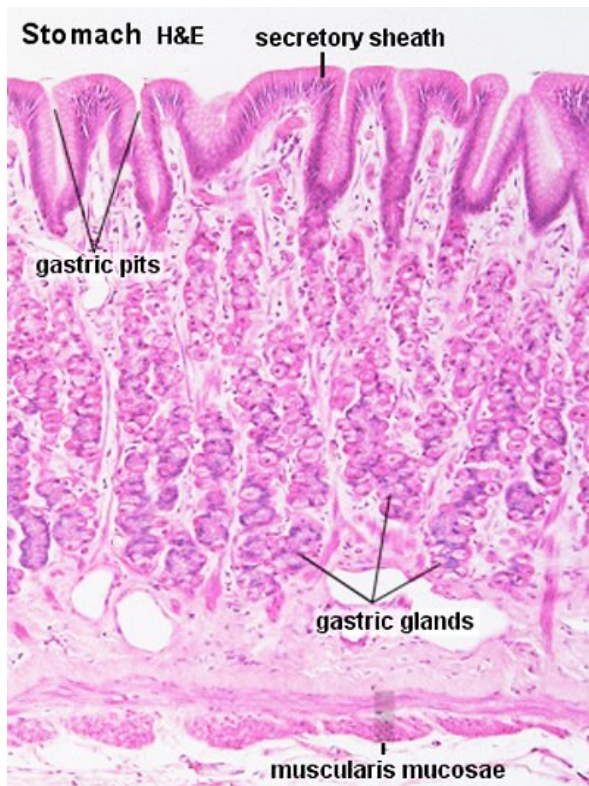
Certaines conditions pathologiques = **métaplasie**
→ Différenciation d'un type de cellule en un autre



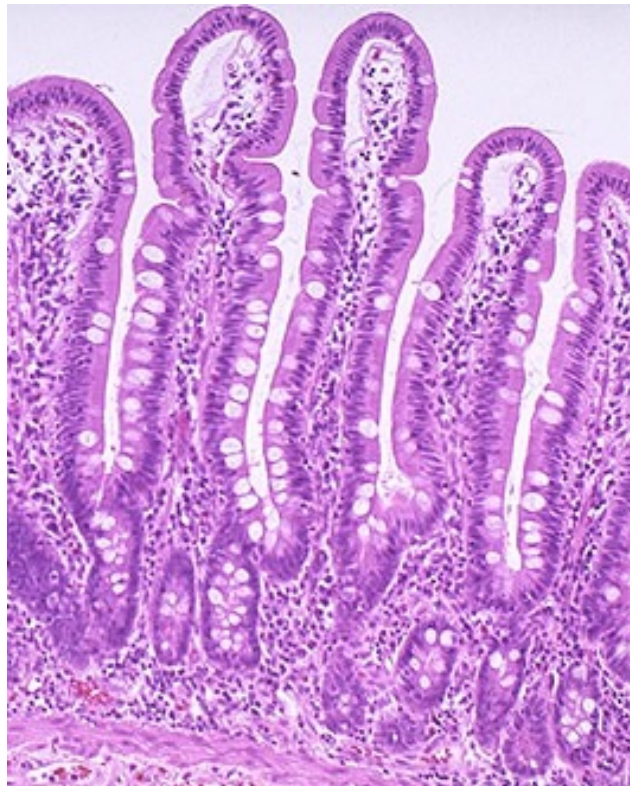
Exemple: métaplasie intestinale

- En cas d'inflammation chronique de l'estomac, des cellules gastriques se transforment en cellules intestinales
- Médié par une augmentation de l'expression du facteur de transcription **Cdx2**

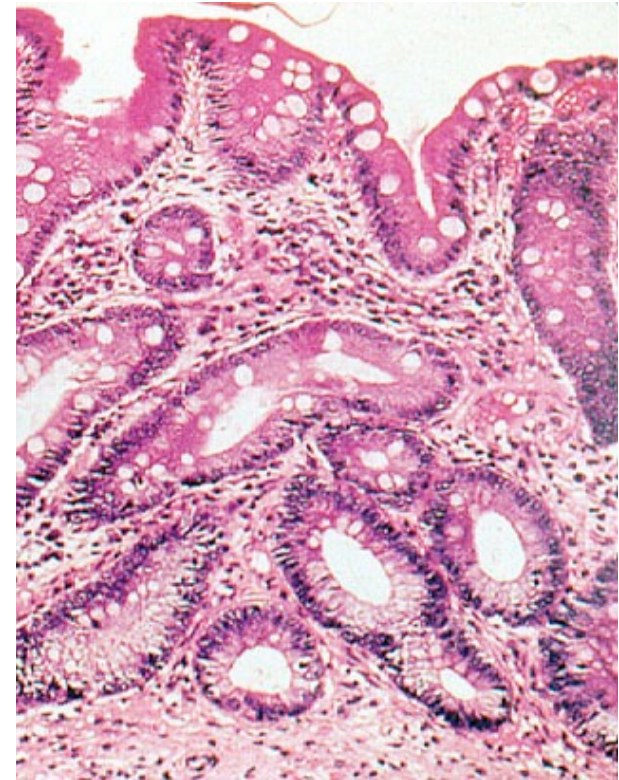
Estomac normal



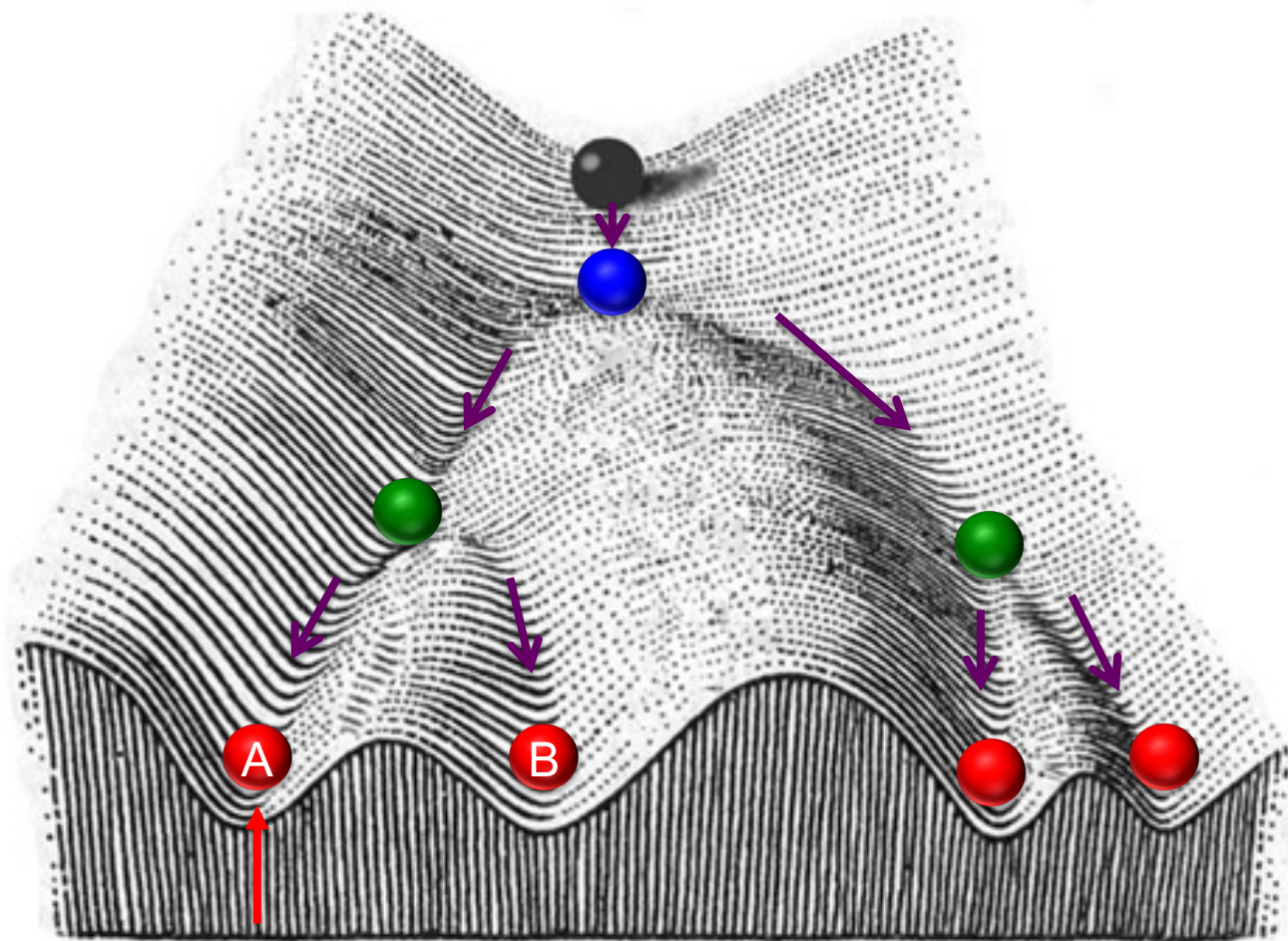
Intestin normal



Metaplasie intestinale



Que se passe-t'il si on exprime tous les FT maîtres de l'identité B dans la cellule A ?



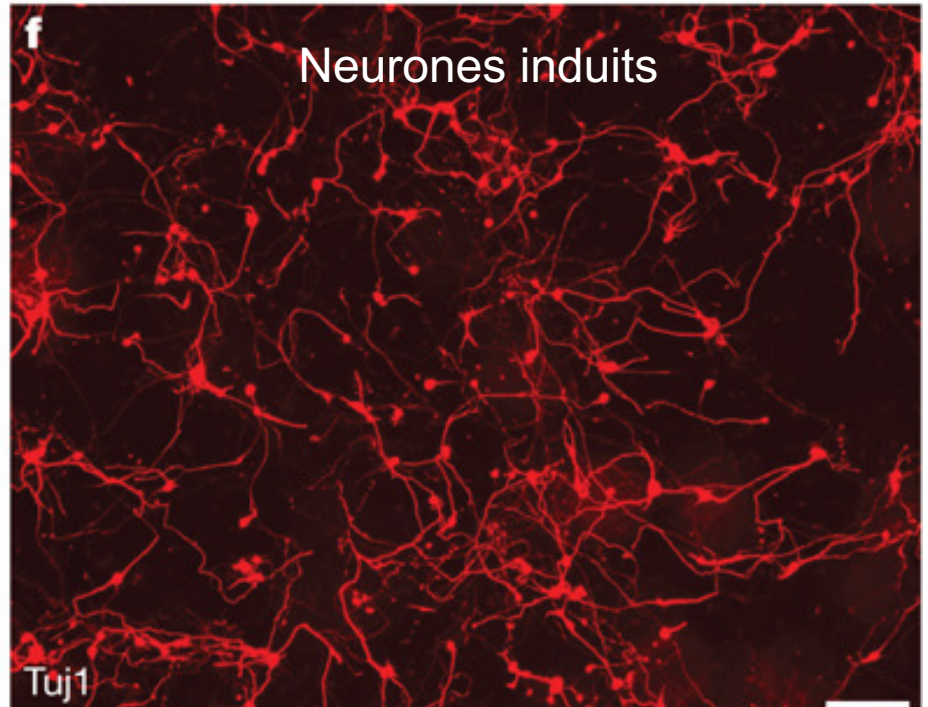
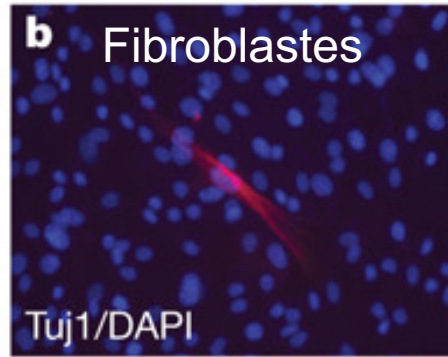
+ FTs maîtres de B ?

En général: une fraction des cellules A vont se transformer en cellules B, après un laps de temps qui varie beaucoup d'une cellule à l'autre

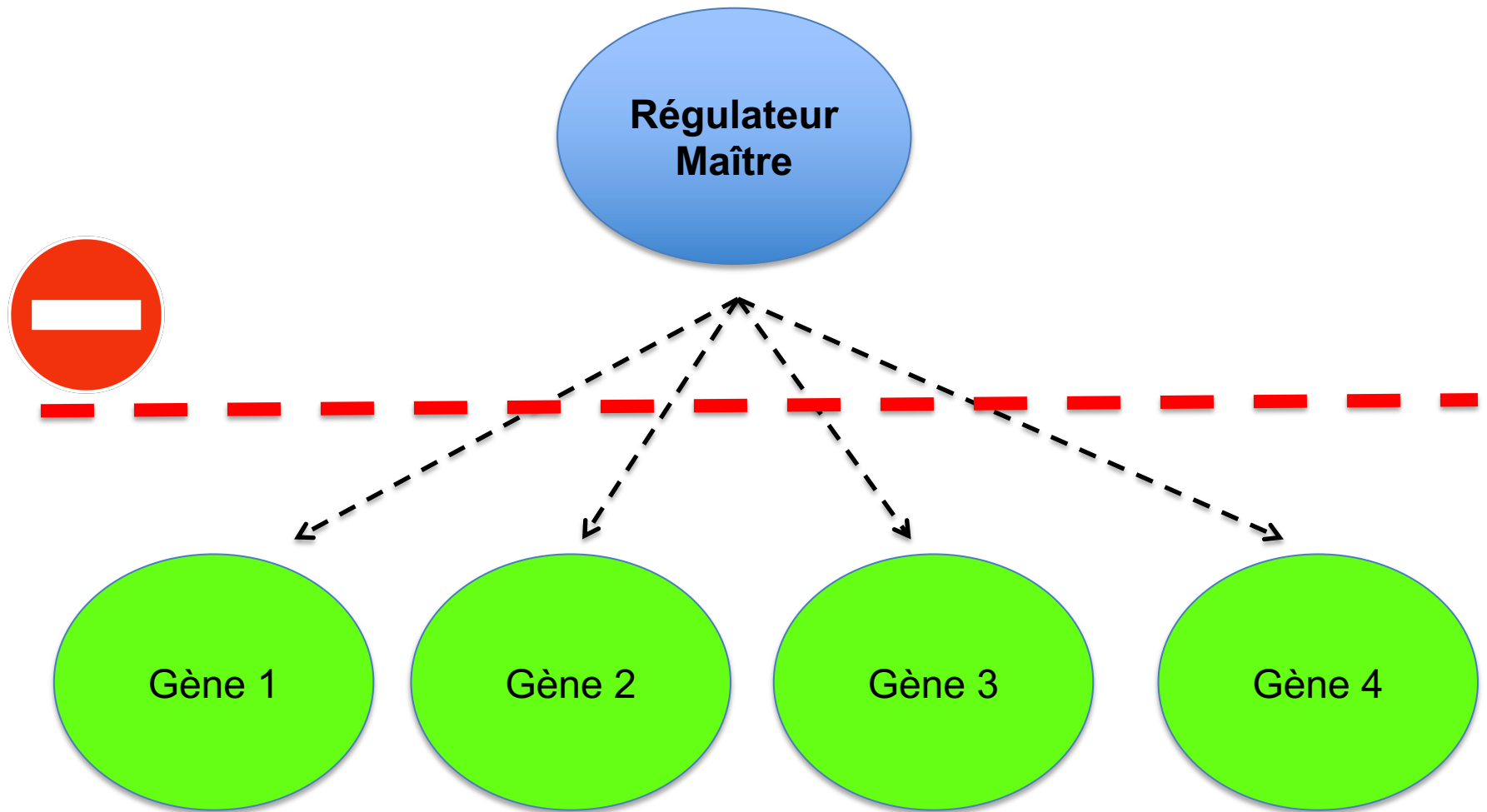
Exemple: neurones induits

L'expression de 5 facteurs de transcription dans des fibroblastes peut les convertir en neurones !

Tuj1 = marqueur neuronal

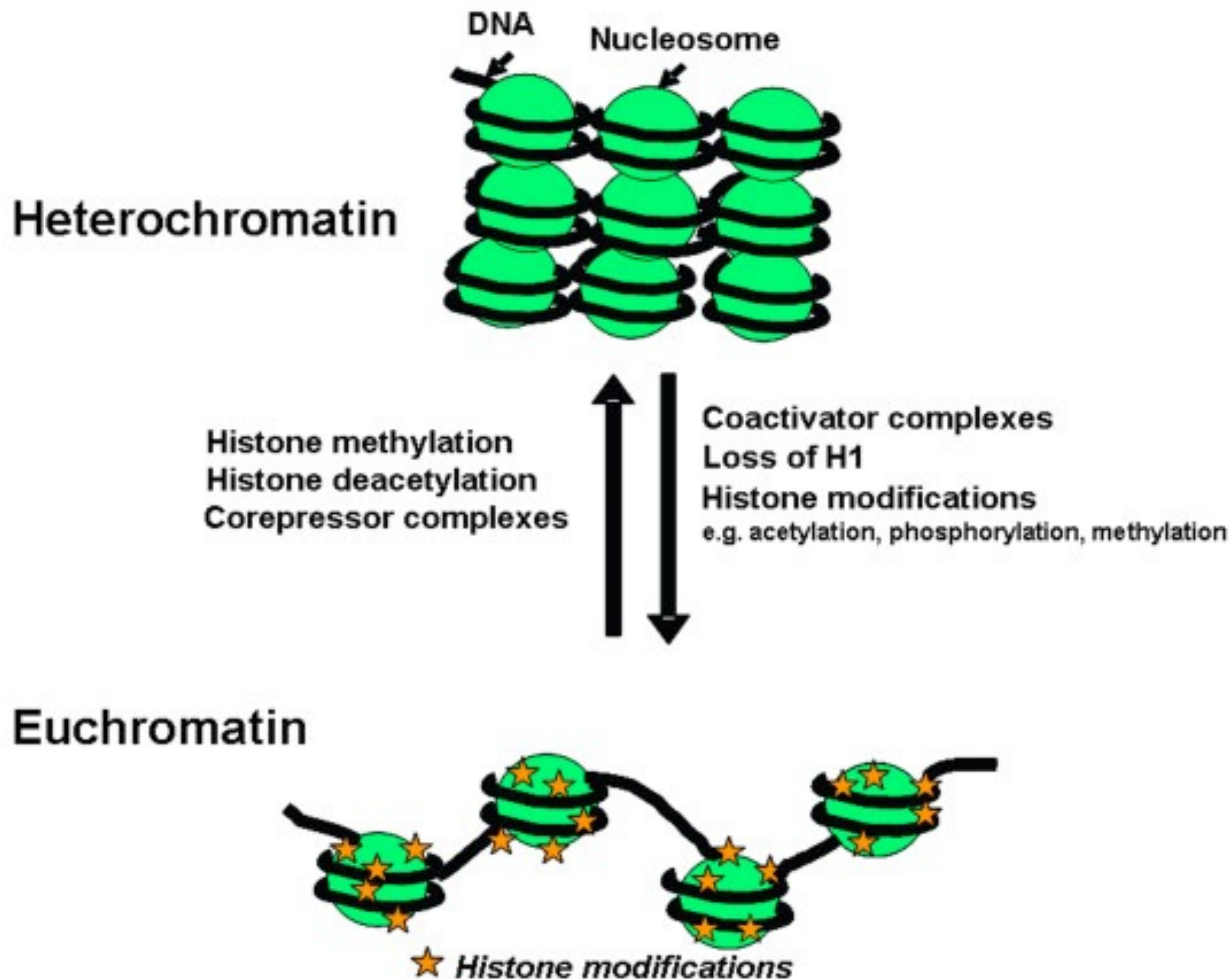


Barrière au changement d'identité



→ Quelque chose rend l'action des facteurs de transcription maîtres difficile pour changer l'identité de cellules différenciées

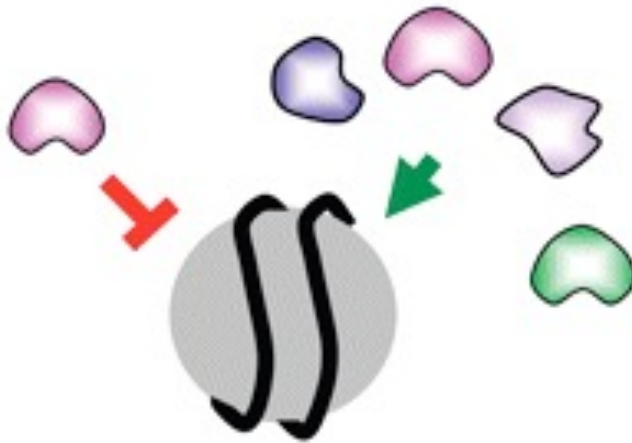
Organisation de la chromatine



→ Si les gènes cibles sont sous forme d'hétérochromatine, ils sont difficiles d'accès pour les facteurs de transcription !

Facteurs de transcription pionniers

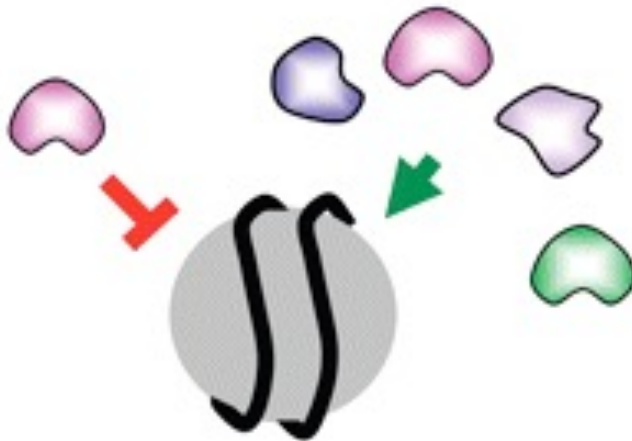
Majorité des FT



Peuvent se lier au nucléosome
seulement en coopérant avec
d'autres FT

Facteurs de transcription pionniers

Majorité des FT



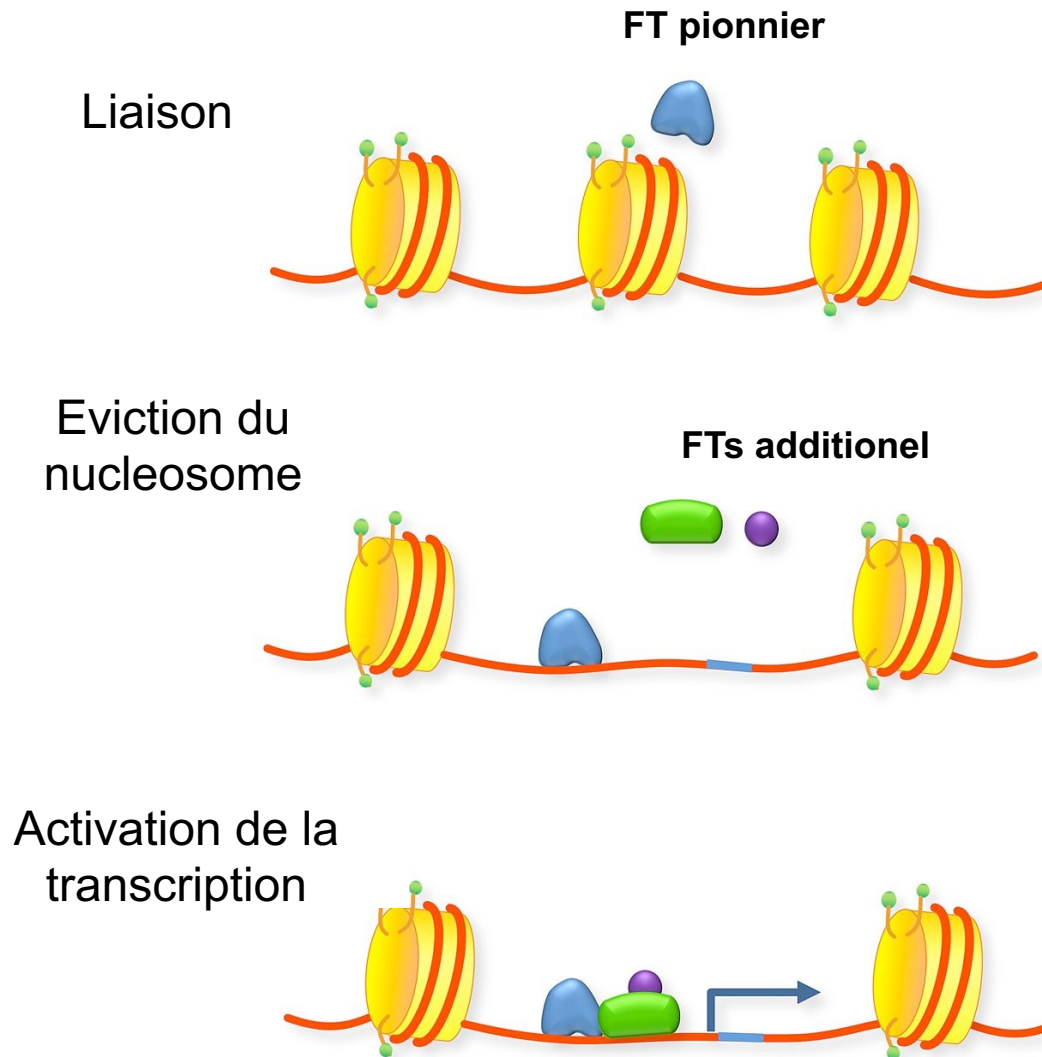
Peuvent se lier au nucléosome
seulement en coopérant avec
d'autres FT

FT pionniers



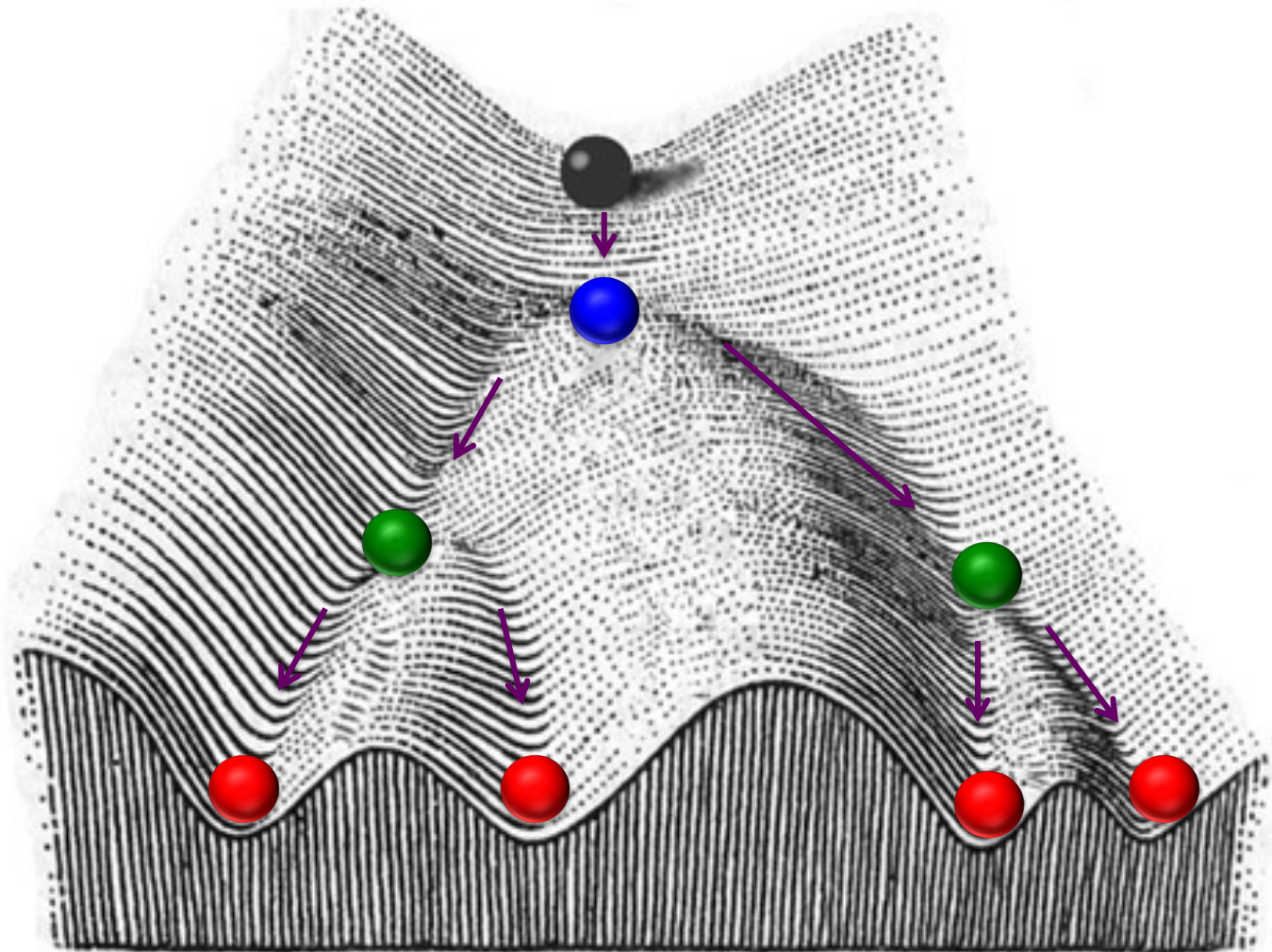
1. Se lient seuls au nucléosome
2. Se lient avant d'autres FT

Action des FT pionniers



Role de la chromatine

→ Définit la hauteur des collines et la pente du paysage de Waddington



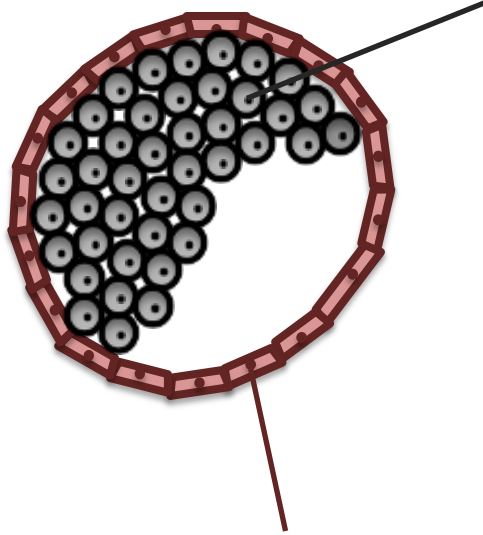
Types de cellules souches

1) Cellules souches embryonnaires

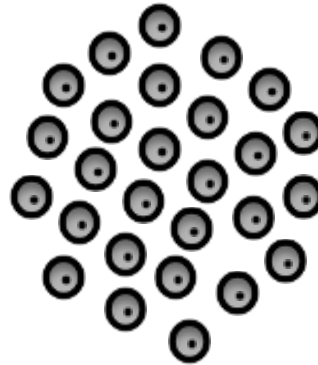
Origine des cellules souches embryonnaires (CSE)

Blastocyste

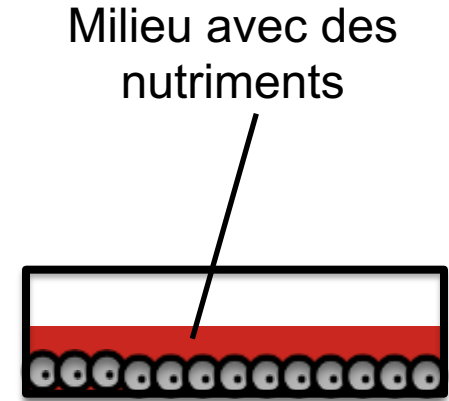
Cellules à l'intérieur
= masse cellulaire interne



Couche externe de cellules
= trophoctoderme



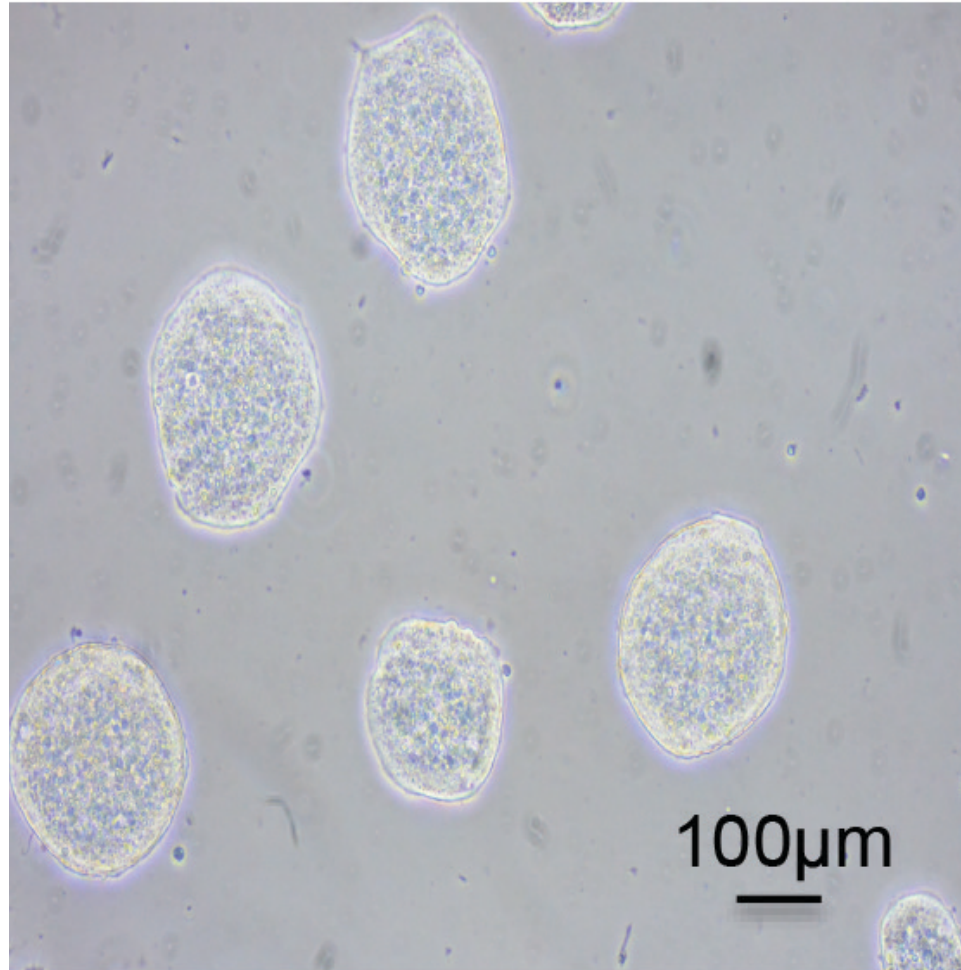
CSE: proviennent de
la masse cellulaire interne



Milieu avec des
nutriments

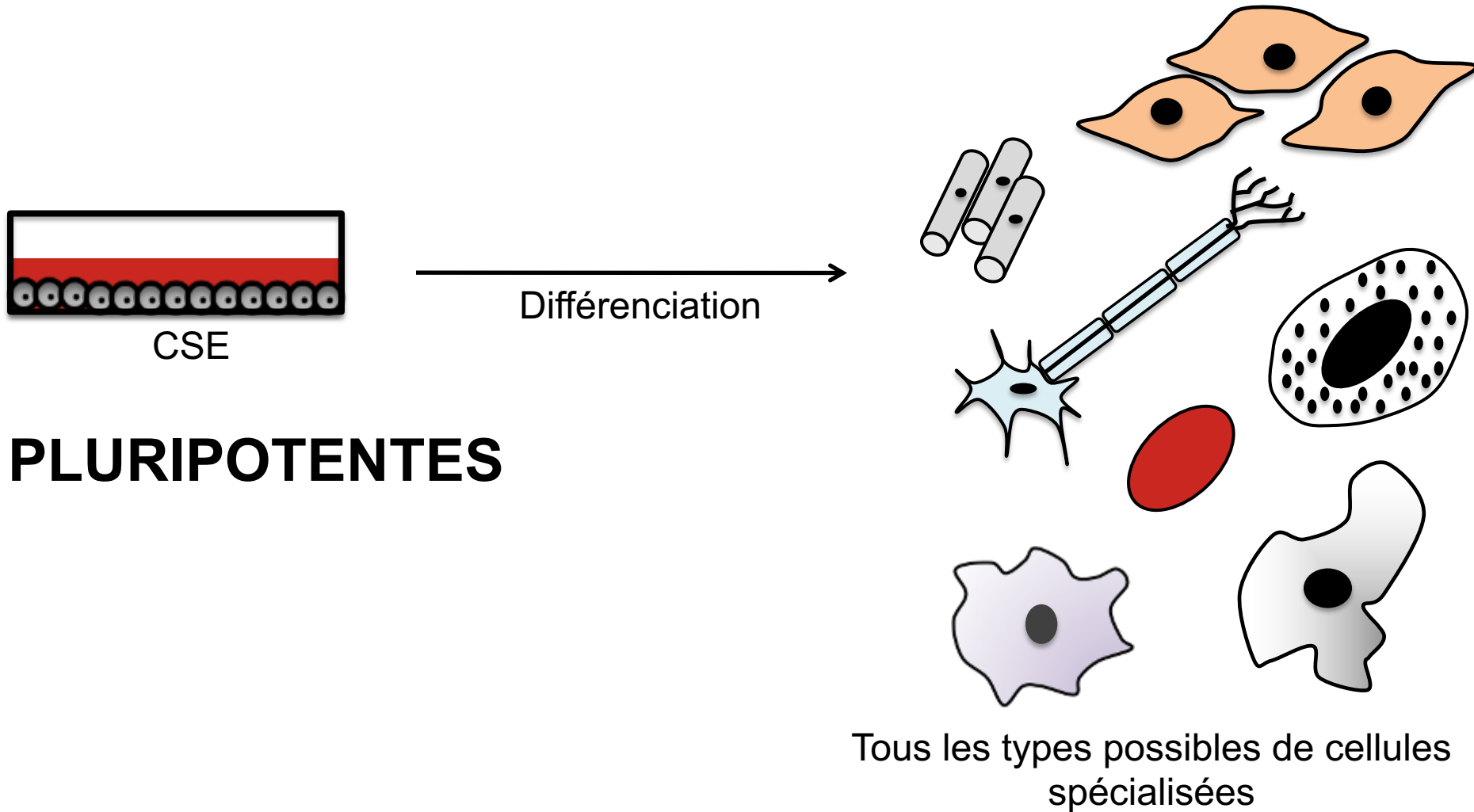
Culture en
laboratoire pour
que les cellules se
multiplient

Les CSE forment des colonies en culture



www.bioprotocol.com

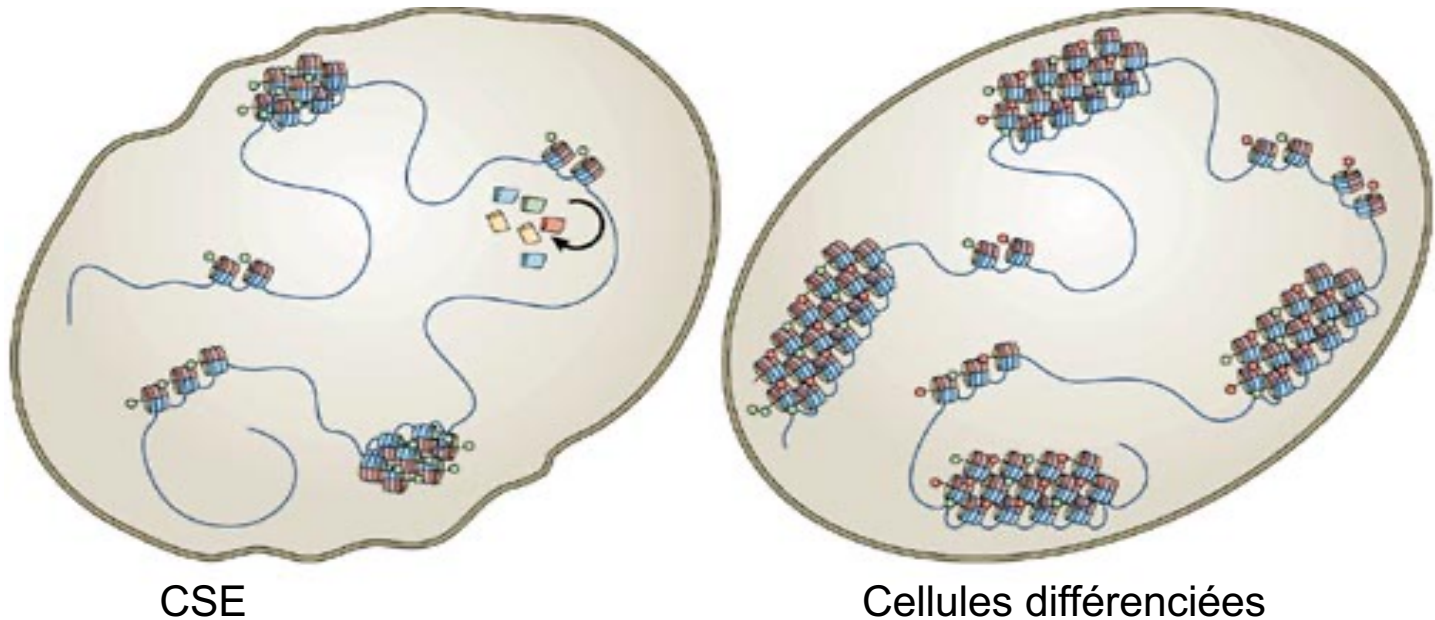
Potentiel des CSE



Les CSE ont donc une plasticité très élevée

Pourquoi ?

Organisation de la chromatine dans les CSE



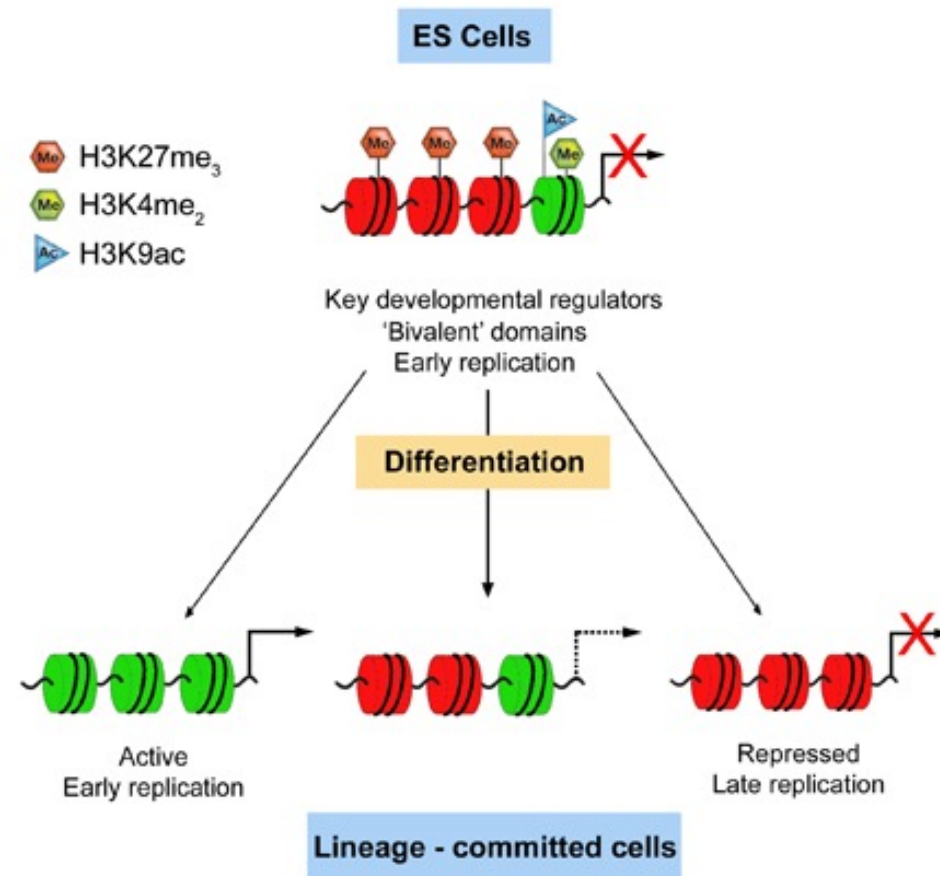
*Modifié à partir de Meshorer and Mistelli, Nat Rev Mol Cell Biol
2006*

Cellules pluripotentes:

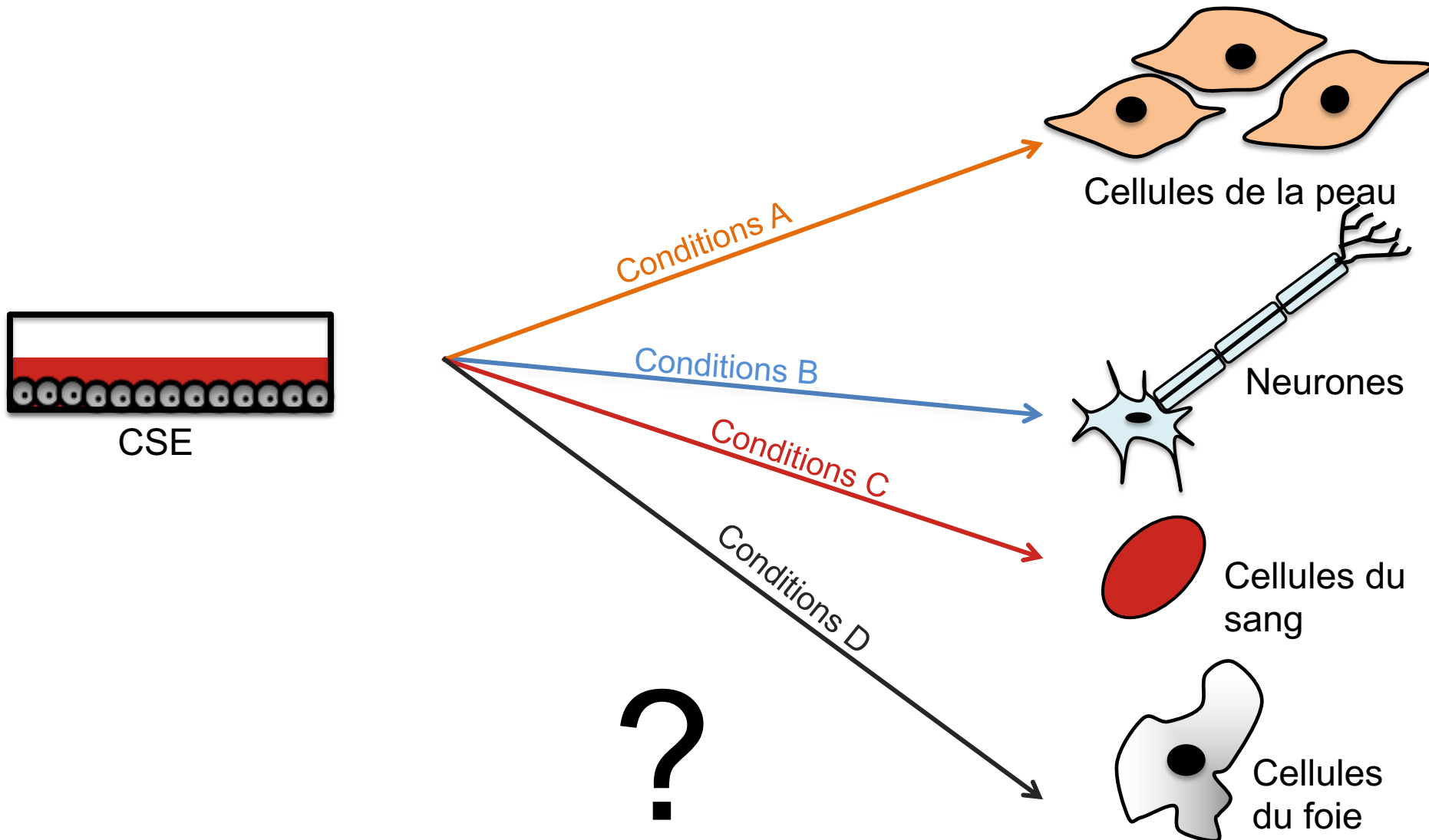
- Grande proportion de chromatine ouverte
- Hautes concentrations d'enzymes qui remodelent la chromatine

Domaines bivalents de la chromatine des CSE

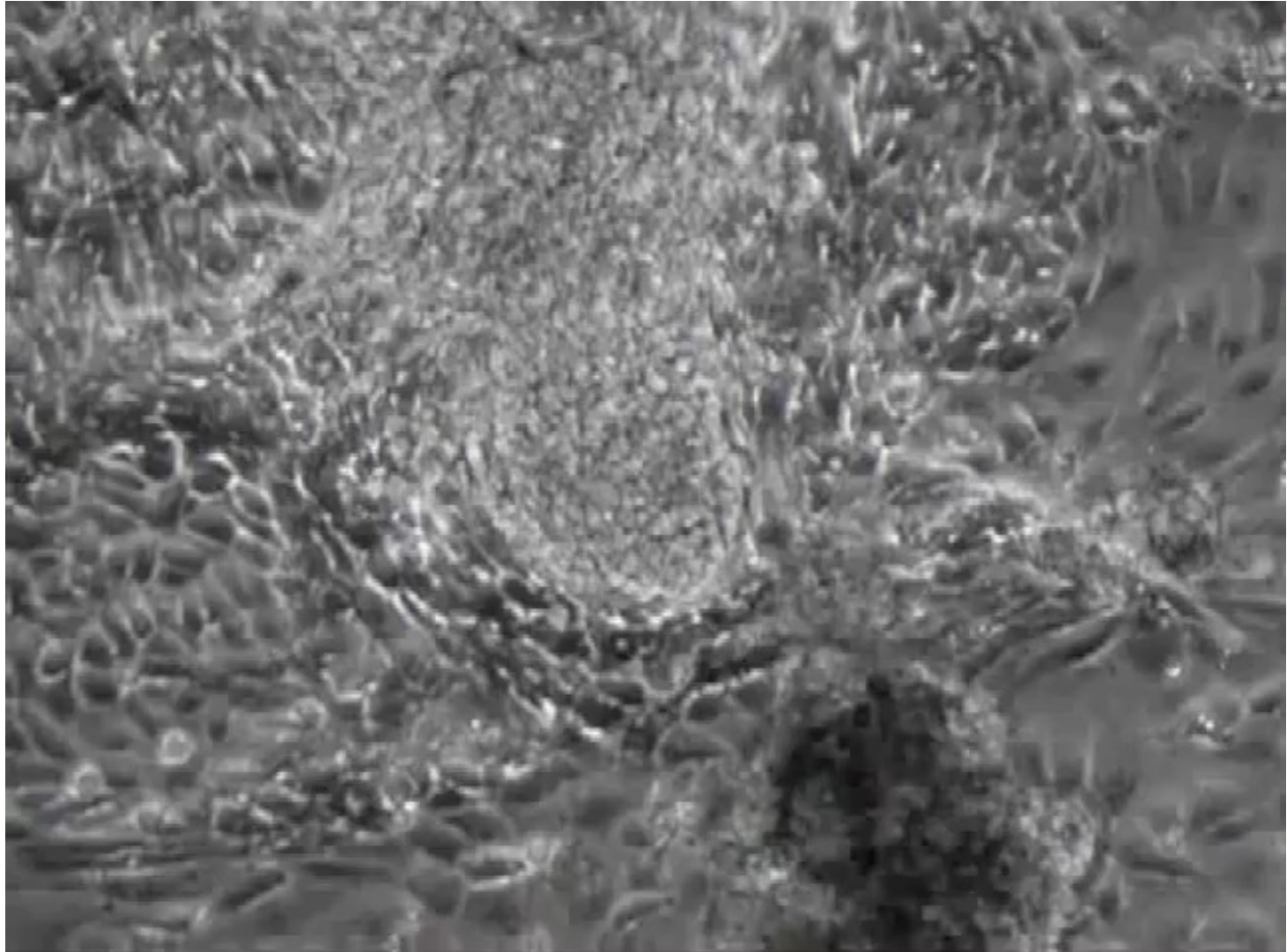
Les CSE sont caractérisées par des domaines bivalents de chromatine qui ont à la fois des marques d'histones actives et inactives sur les gènes de développement précoce



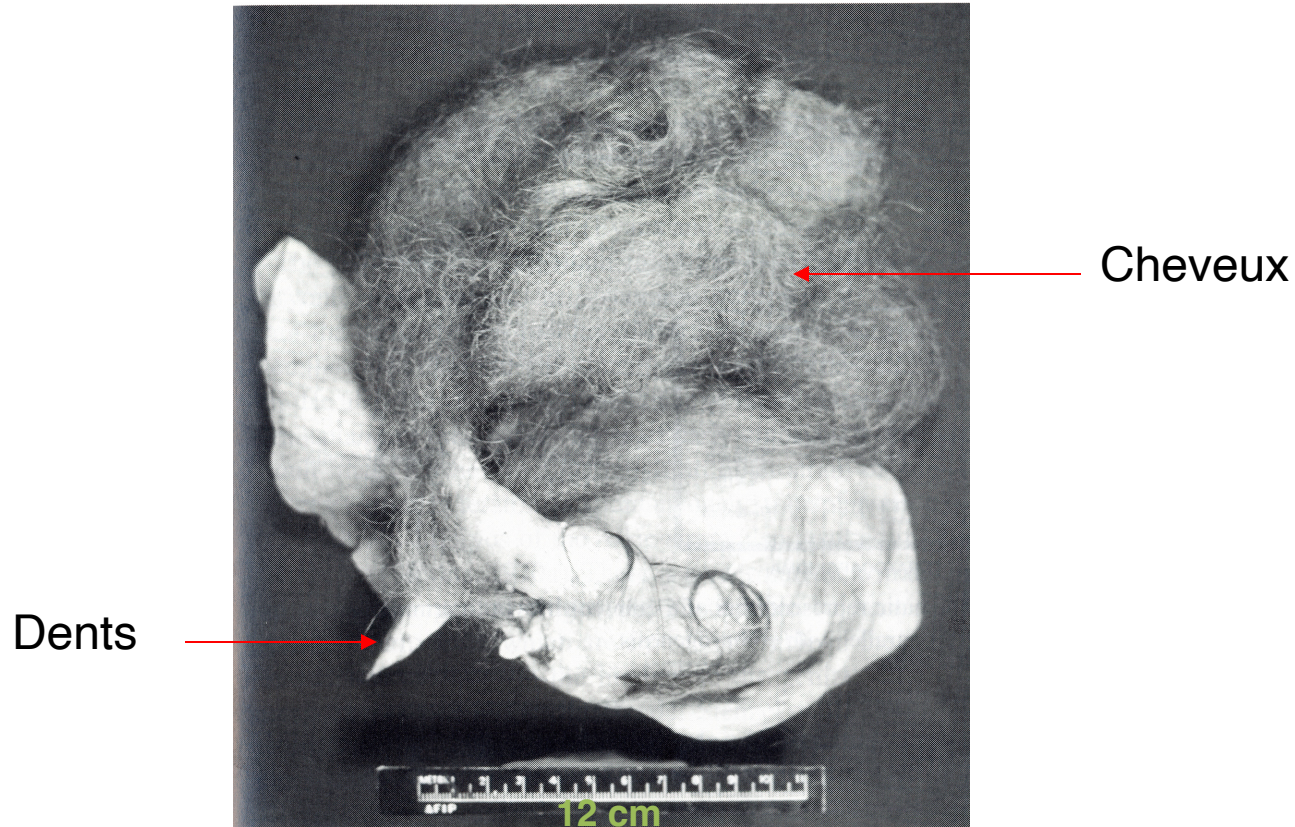
Défis de la différenciation dirigée des CSE



Différenciation des CSE en cardiomyocytes



Les CSE forment des tératocarcinomes lorsqu'elles sont injectées à des souris adultes



Tératome humain

Applications des CSE

Applications actuelles:

- Modèles de souris knock-out et transgéniques comme modèle pour la recherche biomédicale
- Modèle pour étudier les mécanismes de développement et différentes maladies, l'auto-renouvellement et la différenciation des cellules souches
- Toxicité et criblage de médicaments à l'aide de modèles in vitro physiologiquement pertinents dérivés de CSE

Applications plus lointaines:

- Thérapie (maladies génétiques et neurodégénératives, réparation de plaies)

Génération de souris génétiquement modifiées



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007

"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"



Photo: Tim Roberts/PR Newswire, © HHMI

Mario R. Capecchi

🕒 1/3 of the prize

USA

University of Utah
Salt Lake City, UT, USA;
Howard Hughes Medical
Institute

b. 1937
(in Italy)



Photo: The Press Association Limited

Sir Martin J. Evans

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

Cardiff University
Cardiff, United Kingdom

b. 1941



Photo: Scanpix/Dan Sears

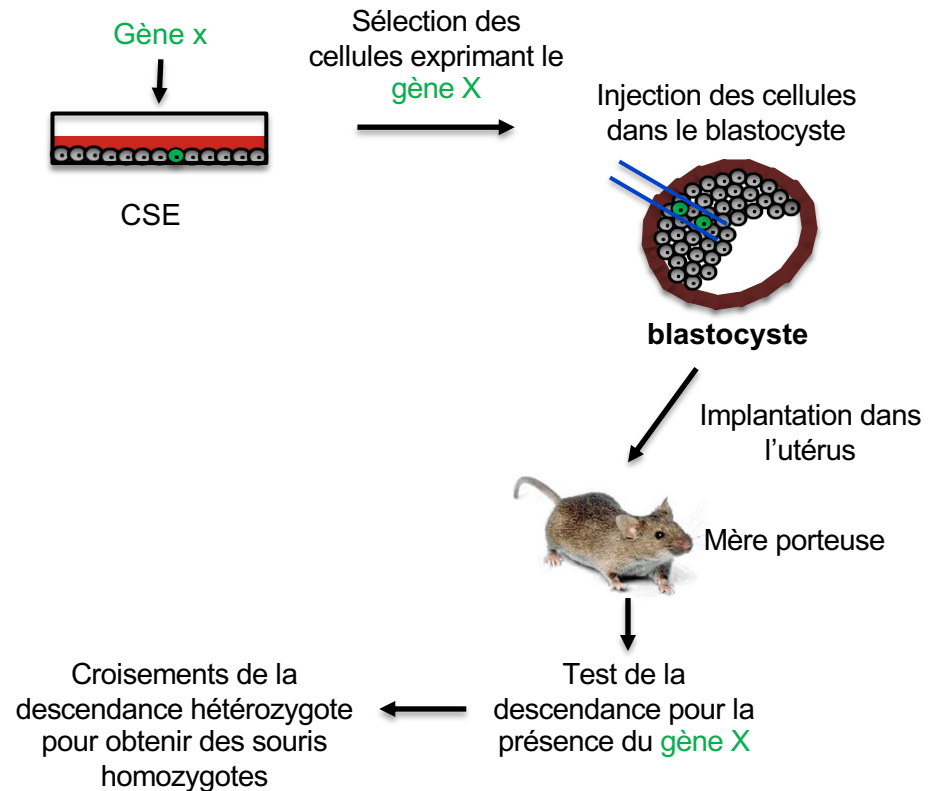
Oliver Smithies

🕒 1/3 of the prize

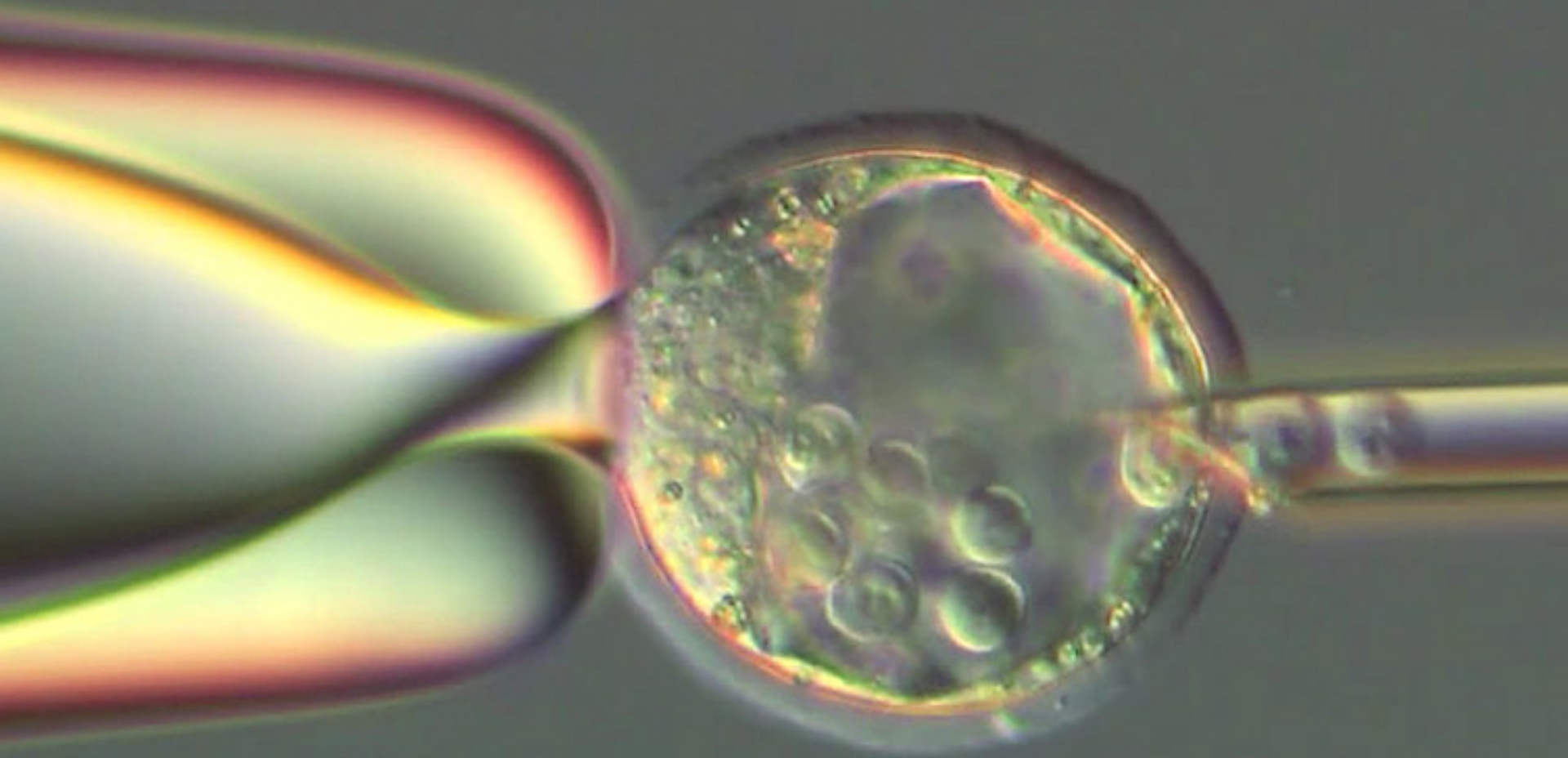
USA

University of North
Carolina at Chapel Hill
Chapel Hill, NC, USA

b. 1925
(in United Kingdom)

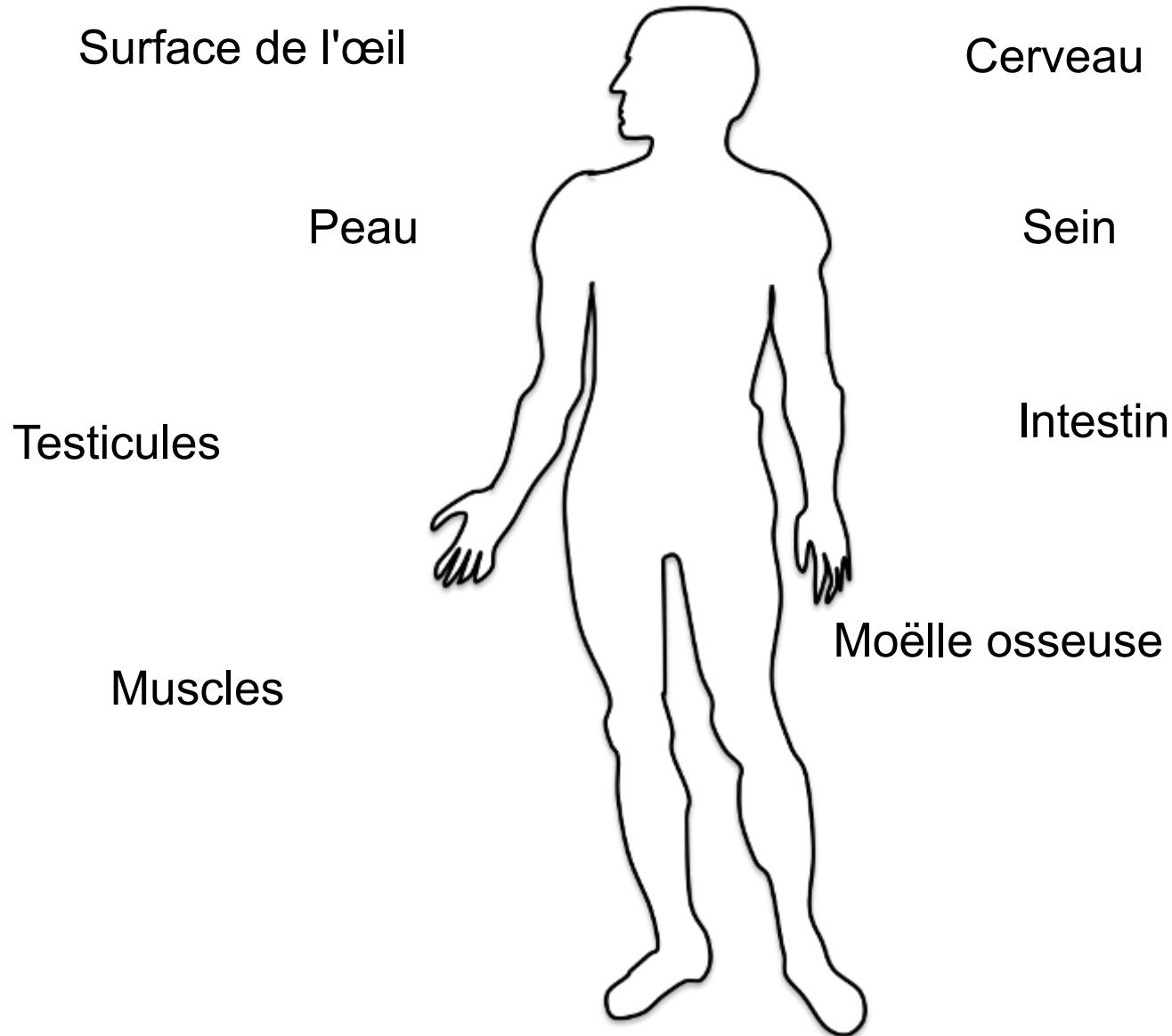


Injection de CSE dans un blastocyste

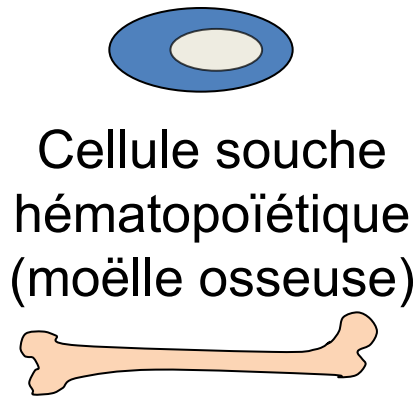


2) Cellules souches adultes

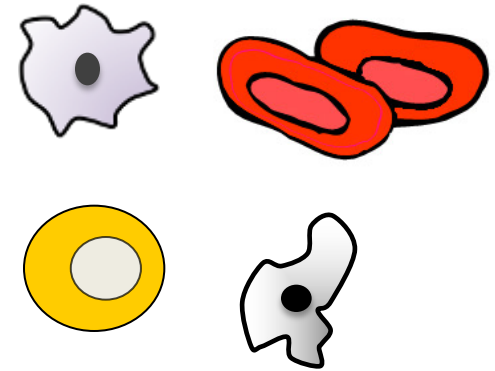
Où se trouvent les cellules souches adultes ?



Potentiel des cellules souches adultes



Différenciation



MULTIPOTENTE

Uniquement des types spécialisés
de cellules sanguines:
globules rouges, globules blancs,
plaquettes

Fin de la 2^{ème} partie

3) Cellules souches pluripotentes induites (iPS)

Cellules souches pluripotentes induites (cellules iPS)

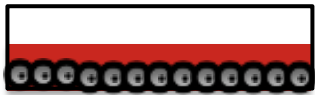


«Reprogramming génétique»
= Expression exogène de certains gènes dans les cellules


Cellule adulte

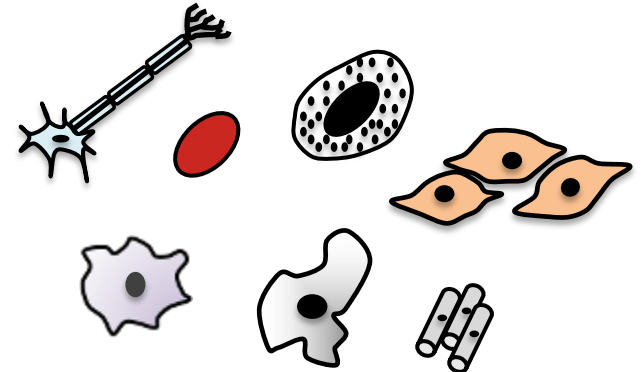

Cellule iPS

Se comporte comme une CSE



Culture de cellules iPS en laboratoire

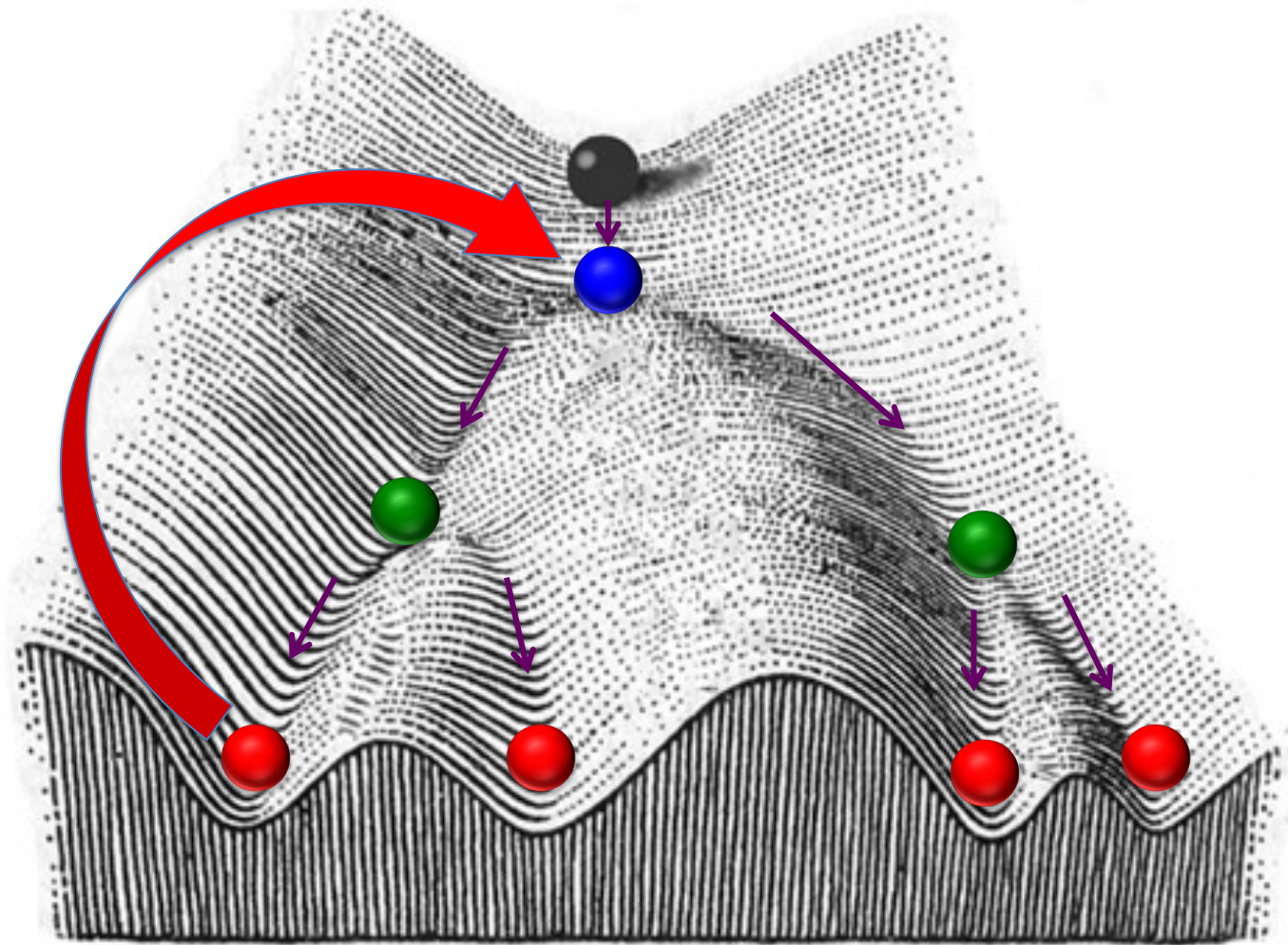
Différenciation



Tous les types possibles de
cellules spécialisées

Avantage: pas besoin d'embryons!

Reprogramming: à contre-courant de Waddington



Reprogramming en cellules iPS: comment ça marche ?

Prix Nobel de Physiologie ou Médecine 2012

Expression de 3 (4) facteurs de transcription → transforme n'importe quel type de cellule en cellule iPS

OCT4

KLF4

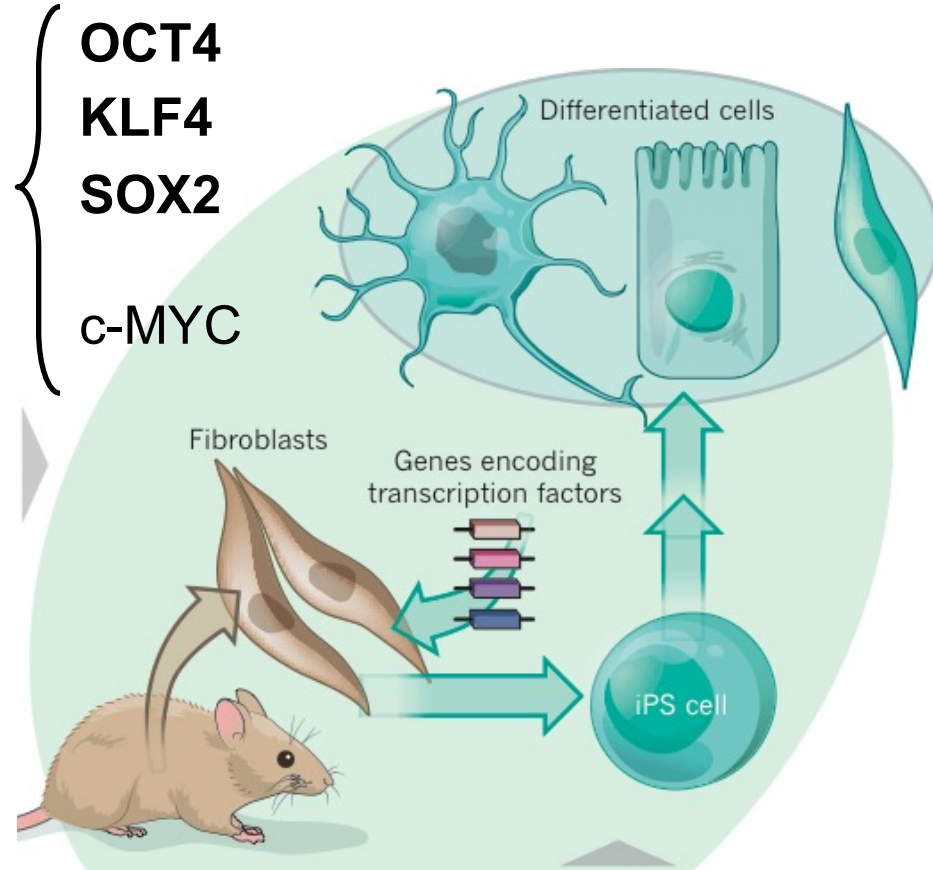
SOX2

c-MYC

Indispensable pour le reprogramming:

- OCT4 (POU domain factor)
- SOX2 (sex determining region Y-box 2)
- KLF4

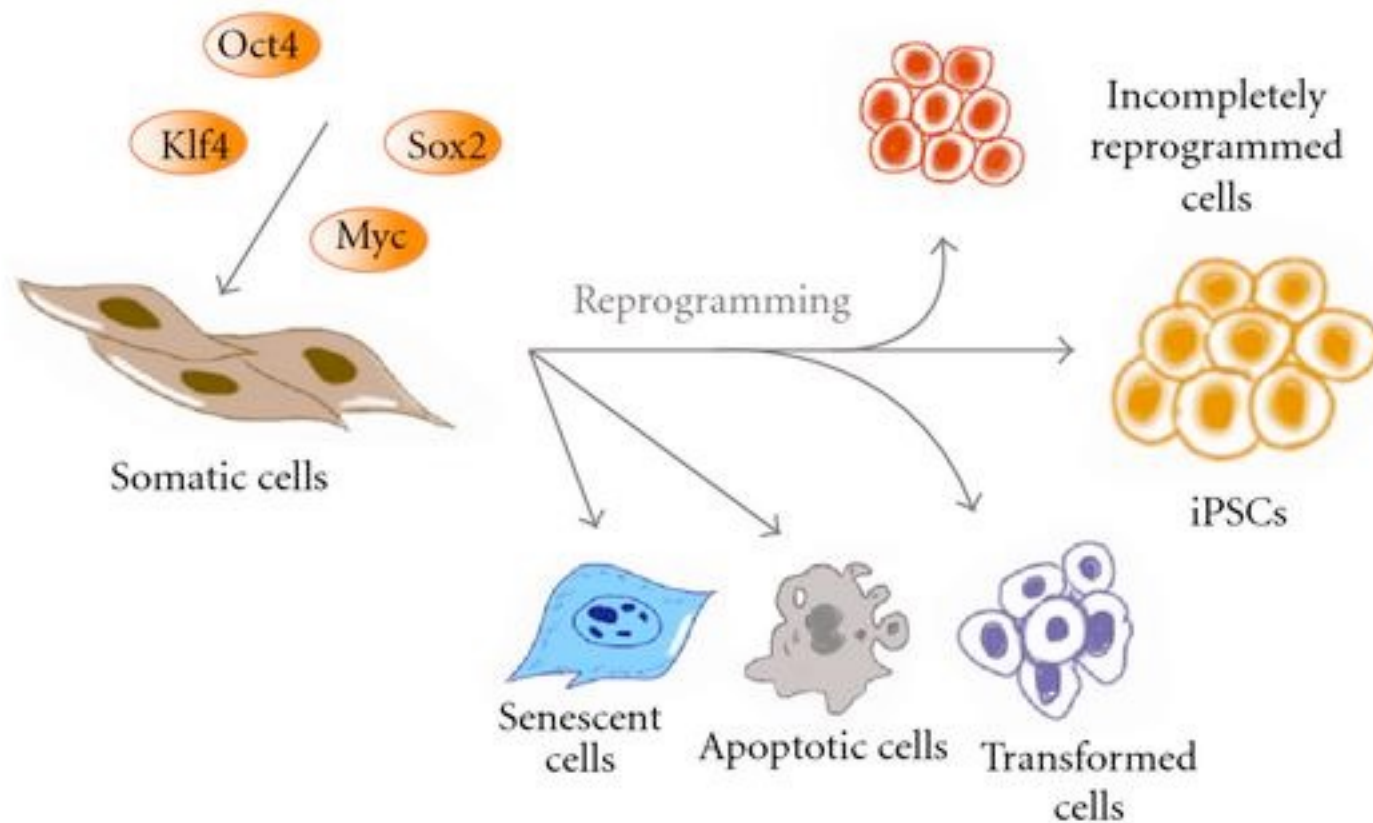
c-Myc: augmente beaucoup l'efficacité du reprogramming, mais pas indispensable et potentiellement oncogénique



2006: YAMANAKA'S DISCOVERY

Introduction of genes encoding just four transcription factors into an intact, differentiated fibroblast can reprogram it into an induced pluripotent stem (iPS) cell that can differentiate into various cell types of the body.

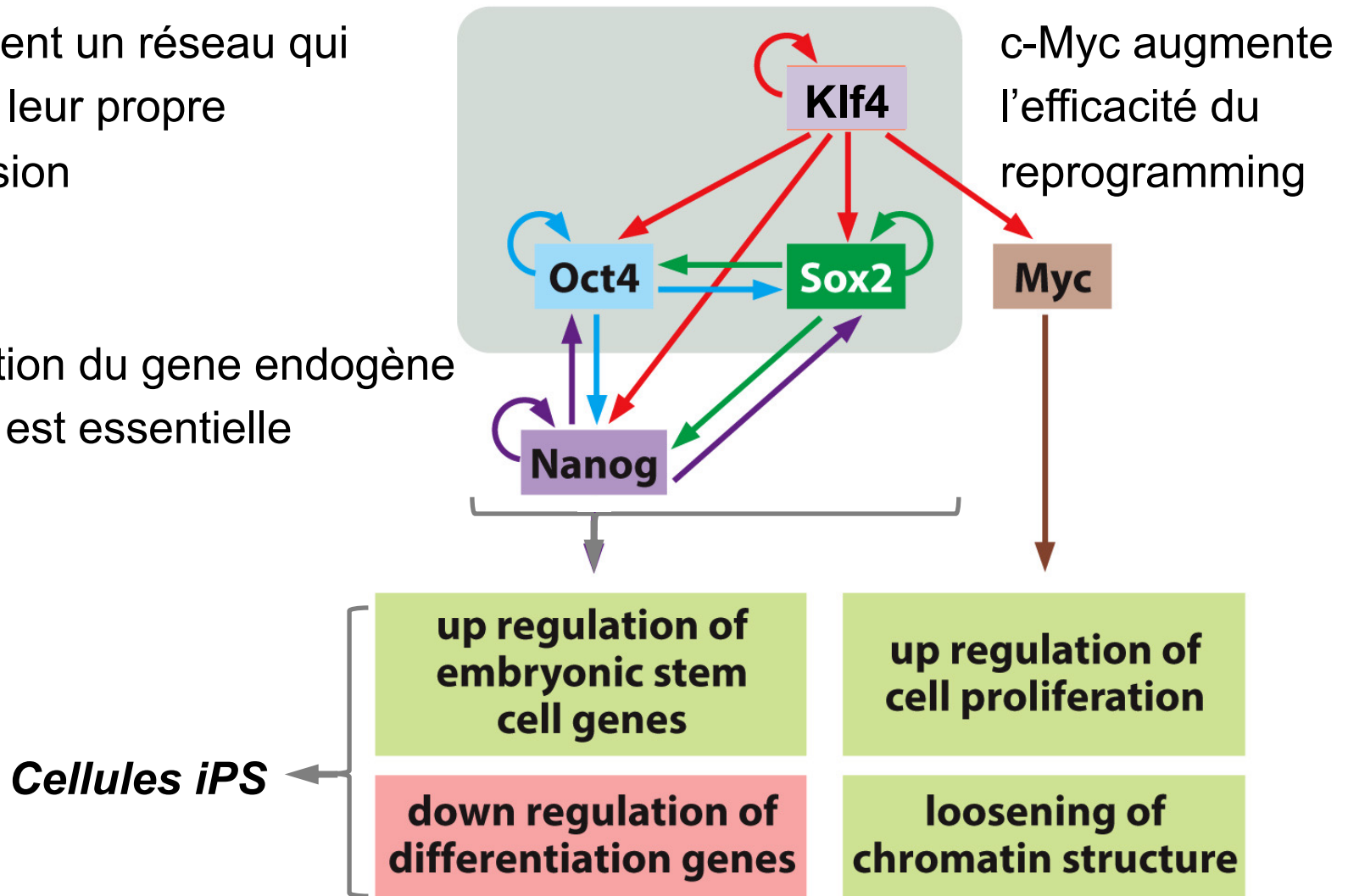
Le reprogramming ne fonctionne que dans une petite fraction des cellules



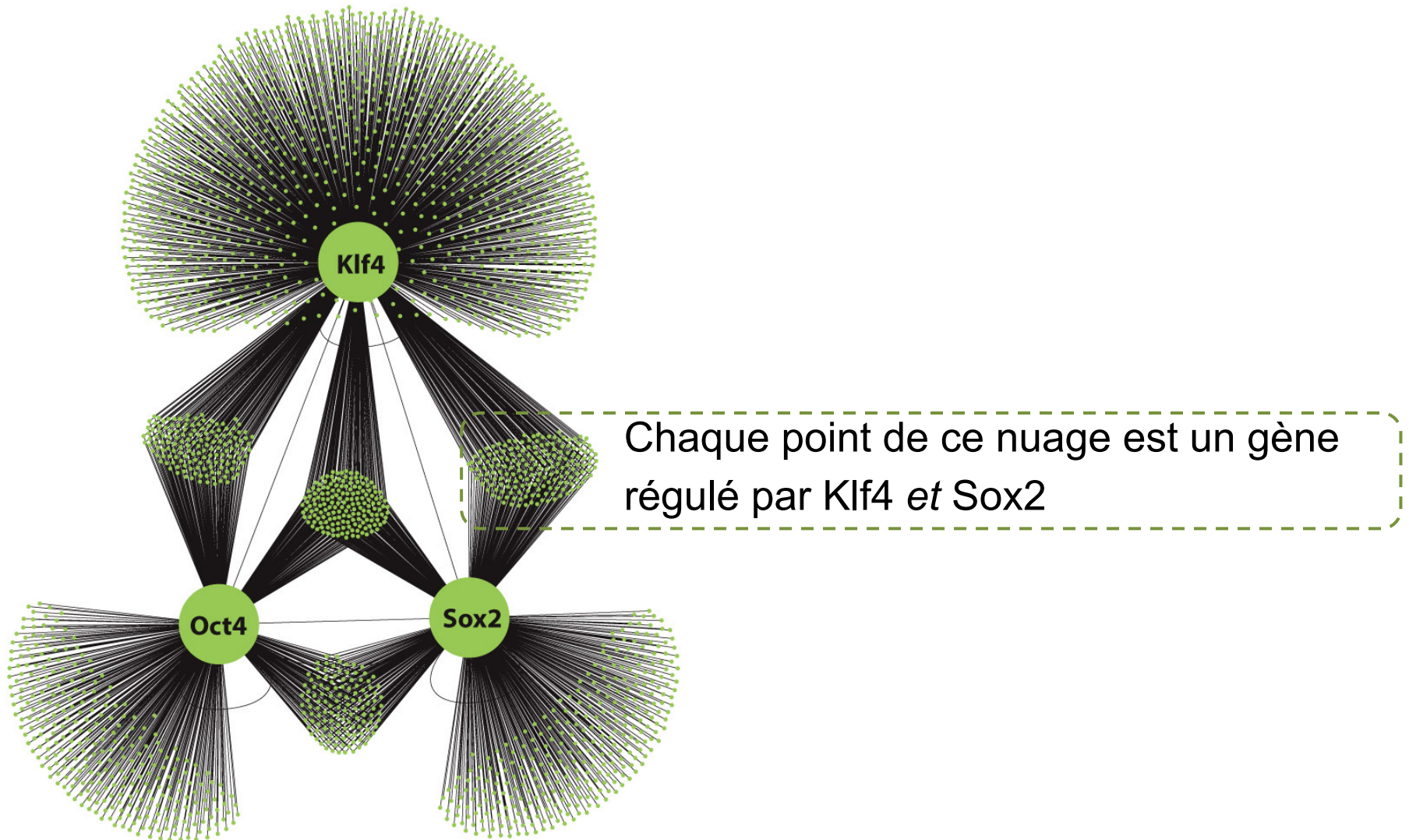
Comment Klf4, Sox2 et Oct4 induisent le reprogramming

Ils forment un réseau qui stimule leur propre expression

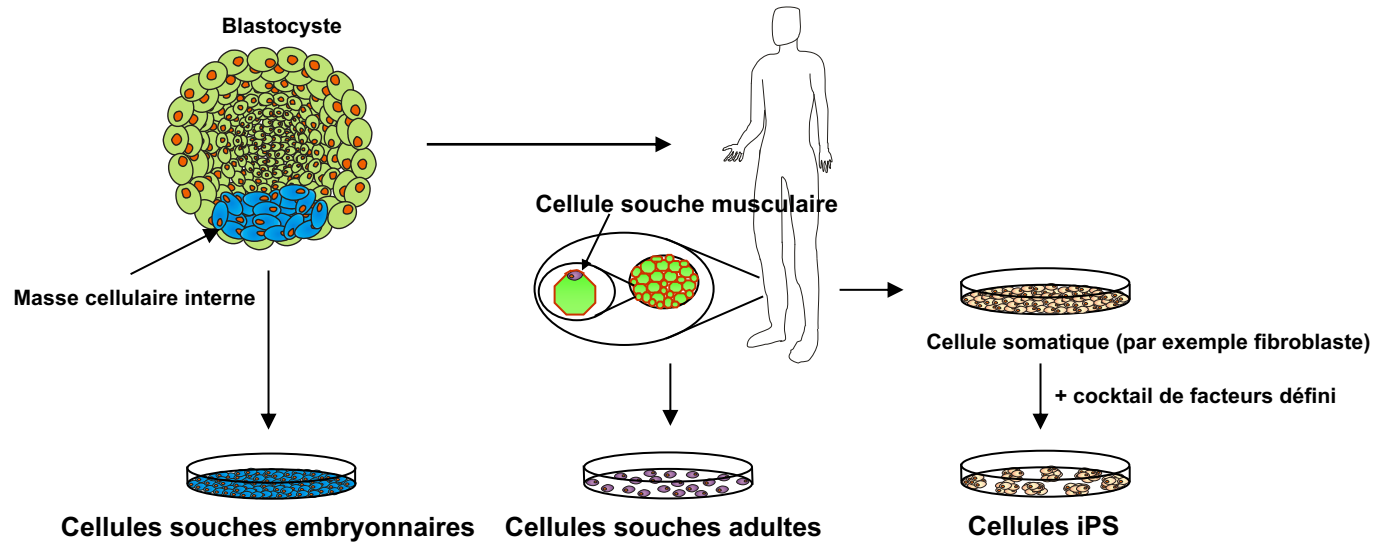
L'induction du gene endogène **Nanog** est essentielle



Ces facteurs de transcription régulent l'expression de centaines d'autres gènes



Récapitulatif des origines et propriétés des différents types de cellules souches



	CSE	Cellules souches adultes	Cellules iPS
Système artificiel	OUI	NON	OUI
Pluripotence	OUI	NON	OUI
Différenciation efficace	NON	OUI	NON
Expansion en culture	OUI	NON	OUI
Difficulté à obtenir beaucoup de cellules	NON	OUI	OUI
Immuno-compatible	NON	NON	OUI
Risque de Tératome	OUI	NON	OUI

Qu'est-ce qui rend les cellules
souches si intéressantes ?

Les cellules souches jouent un rôle crucial:

- Pendant l'embryogenèse
- Pour l'homéostasie des tissus régénératifs tels que la peau, l'intestin et le système hématopoïétique
- Pour réparer les tissus après une blessure (peau, muscle, intestin,...)
- Dans le développement du cancer (cellules souches cancéreuses)
- Les cellules souches ont de nombreuses applications cliniques potentielles

Les cellules souches sont confrontées à de nombreux obstacles:

- Les cellules souches adultes sont rares (dispersées et « invisibles »)
- Des marqueurs spécifiques ne sont pas toujours disponibles
- Des systèmes pour étudier leur activité *in vivo* et *in vitro* ne sont pas toujours disponibles ou fiables
- Difficulté à cultiver les cellules souches adultes et à contrôler la différenciation des cellules souches pluripotentes (CSE, iPS) *in vitro*
- De nombreux mécanismes ne sont pas encore élucidés
- Utilisation *in vivo* à des fins thérapeutiques: problèmes de survie, rejet, formation de tumeurs, qualité de l'intégration fonctionnelle dans le tissu hôte

Comment les cellules souches devraient-elles faire progresser la médecine?

Thérapie cellulaire

De nombreux problèmes médicaux résultent de dommages aux cellules différenciées, par exemple:

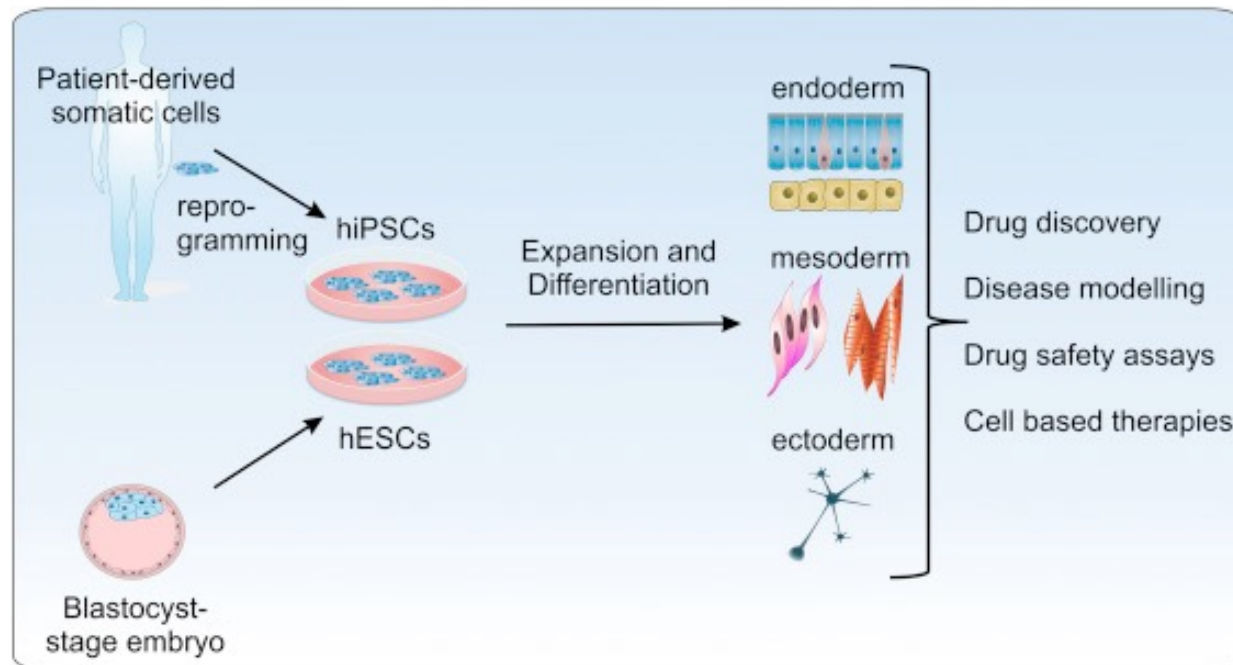
- Diabète de type I: cellules β du pancréas
 - Maladie de Parkinson: cellules sécrétant de la dopamine
 - Lésions de la moelle épinière: paralysie des muscles squelettiques
 - Accident vasculaire cérébral ischémique: mort neuronale provoquée par un caillot dans un vaisseau sanguin cérébral
 - Sclérose en plaques: perte de la gaine de myéline autour des axones
 - Cécité: dommages à la cornée
-
- Utiliser des cellules souches pour remplacer les cellules perdues
 - Surmonter la pénurie d'organes pour la transplantation

Screening in vitro de médicaments, modélisation des maladies

Découverte de nouveaux médicaments / modélisation de maladies classiquement étudiées sur:

- Lignées cellulaires tumorales
- Modèles animaux

→ Utiliser des cellules dérivées de cellules souches humaines pour étudier la toxicité des médicaments

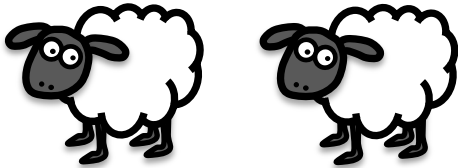


Clonage

Clonage

Il existe deux types de clonage TRÈS différents:

Clonage reproductif

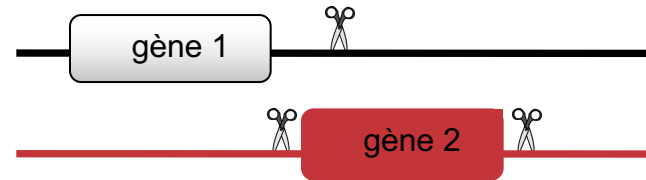


Utilisé pour faire deux individus identiques

Très difficile à faire

Interdit chez les humains

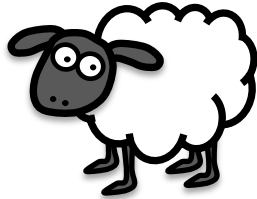
Clonage moléculaire



Utilisé pour étudier ce que fait un gène

Routine dans les laboratoires de biologie

Clonage reproductif



Cellule adulte



Ovocyte

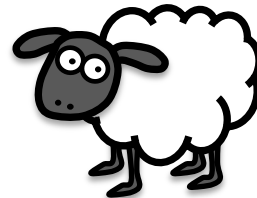
Extraction du noyau



**Enlever le noyau
et prendre le
reste de la cellule**



Clone
identique à l'individu
qui a donné le noyau

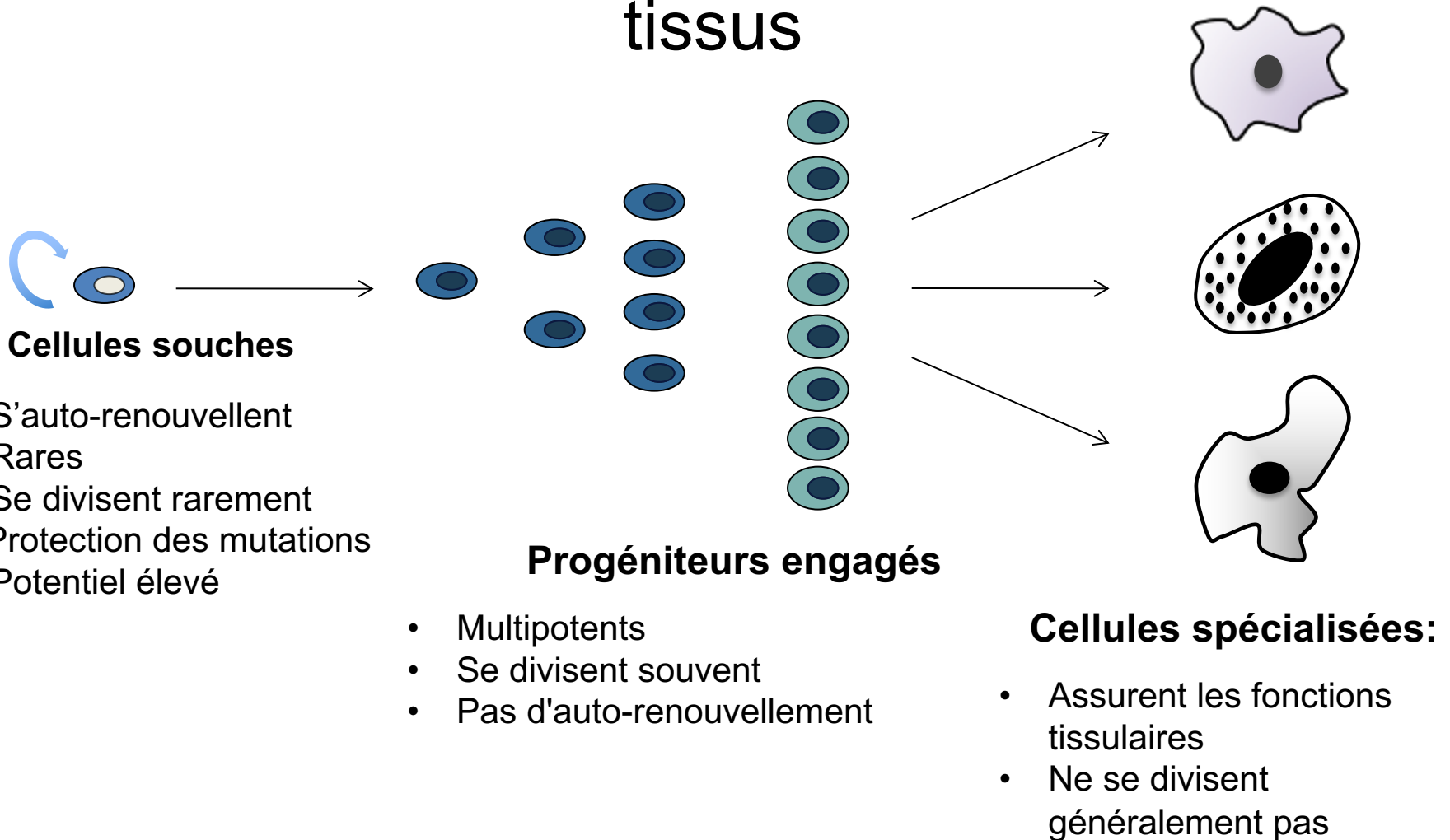


Dolly le mouton



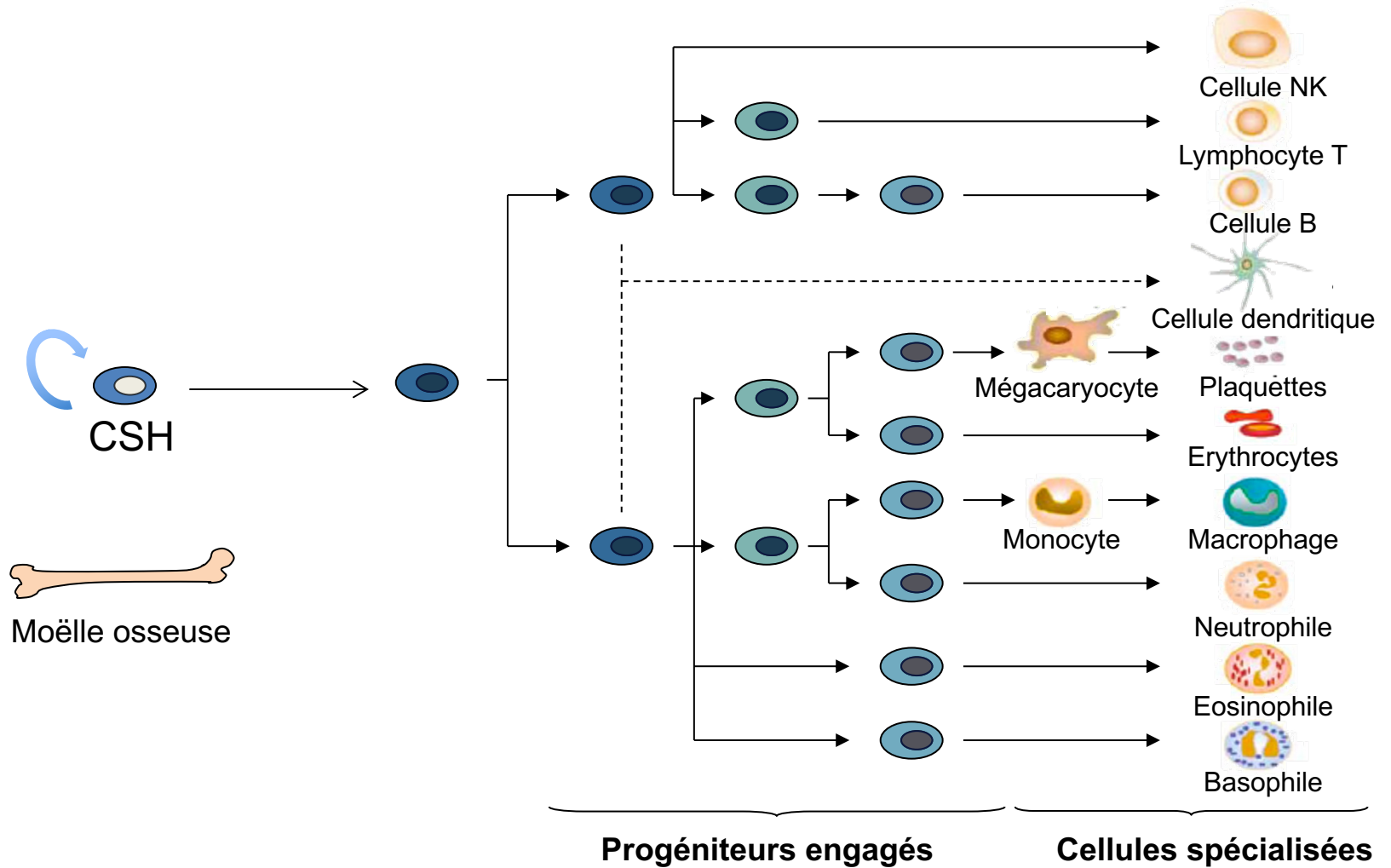
Types de cellules souches adultes et hiérarchies

Cellules souches adultes et renouvellement des tissus

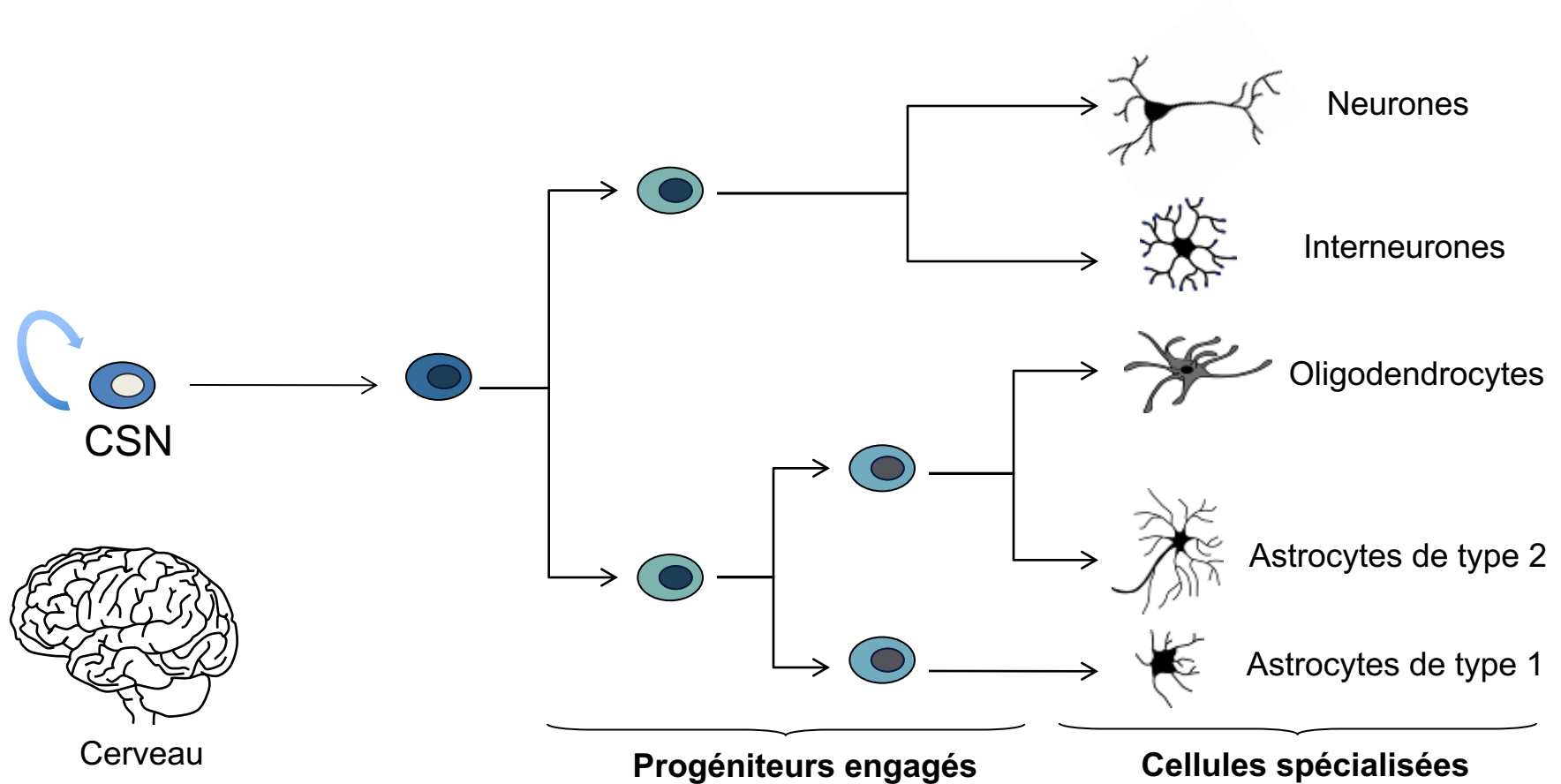


Nous verrons que cette vision “classique” de la hiérarchie des cellules souches n’est pas toujours 100% correcte

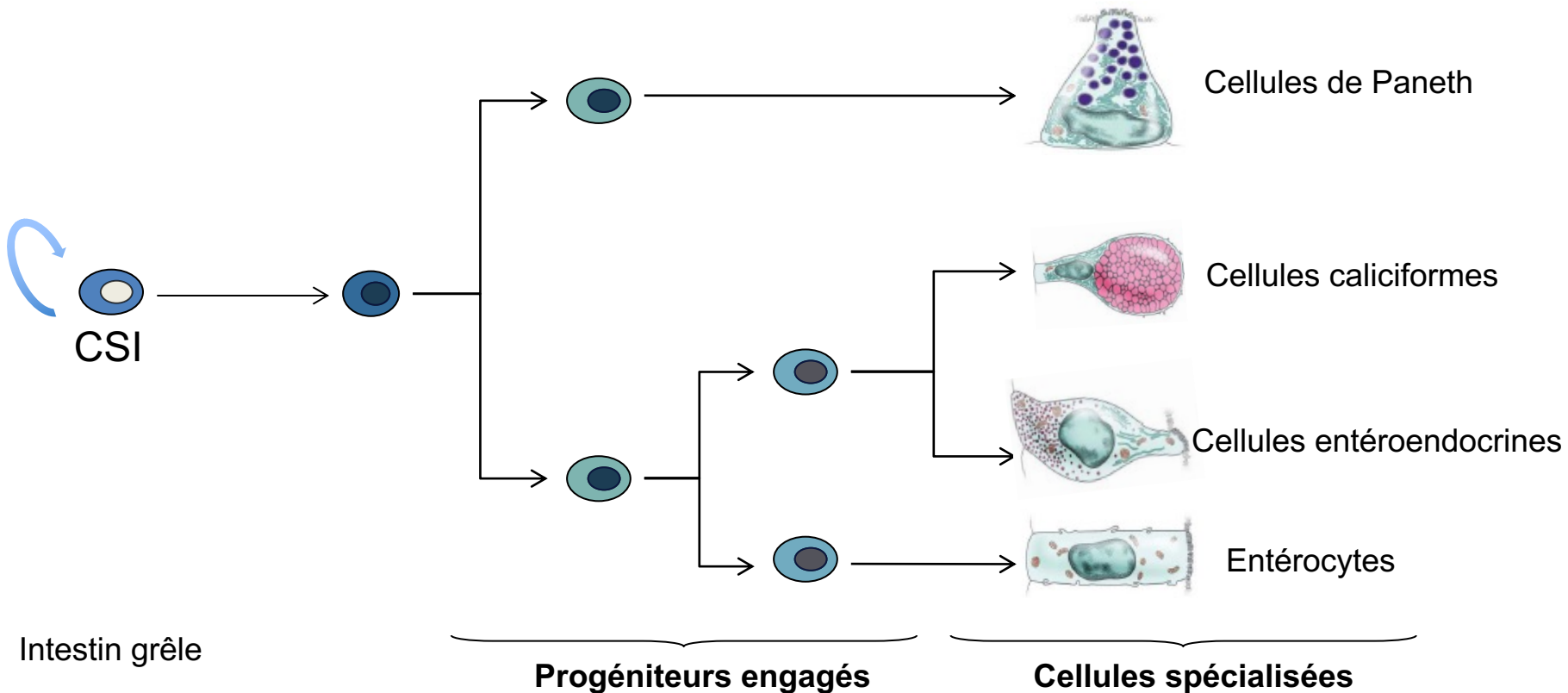
Cellules souches hématopoïétiques (CSH)



Cellules souches neurales (CSN)



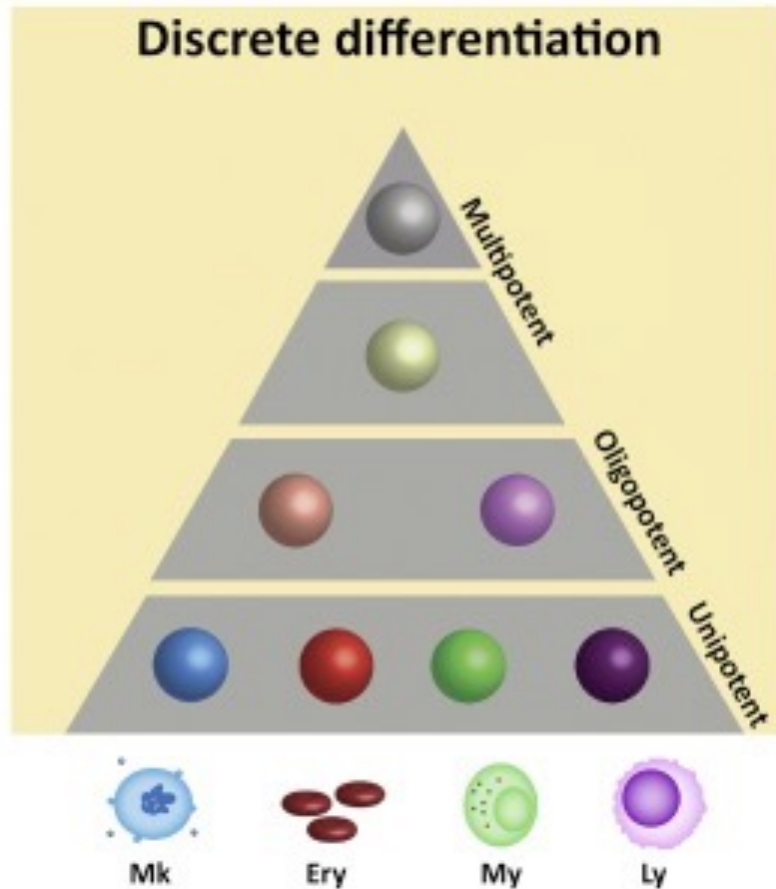
Cellules souches intestinales (CSI)



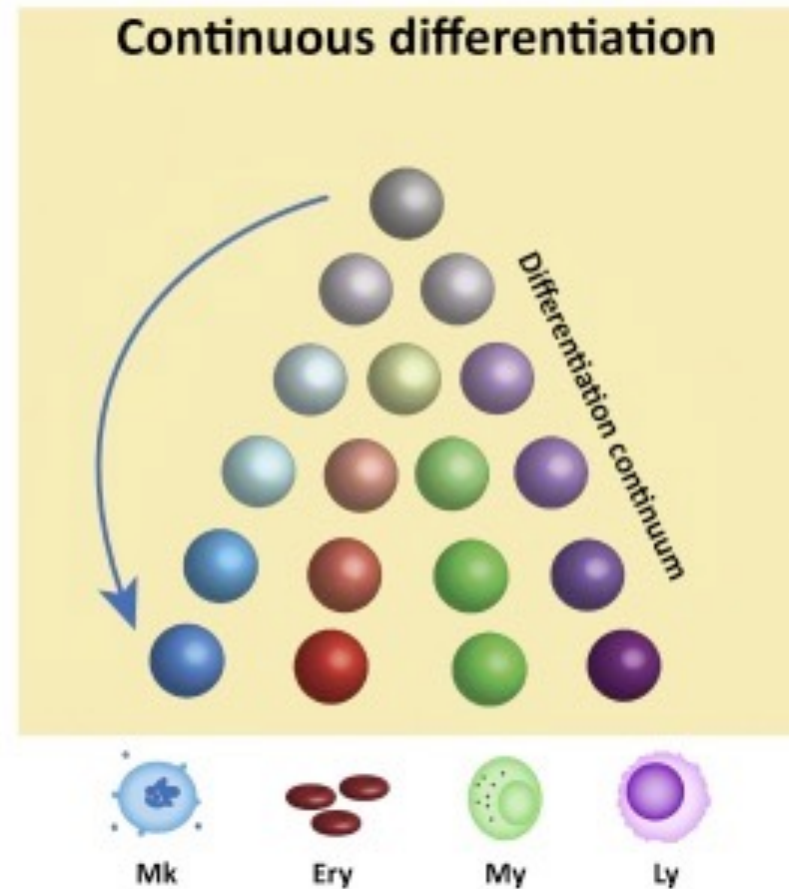
La hiérarchie des cellules souches adultes est débattue

→ Nouvelles perspectives de l'analyse monocellulaire

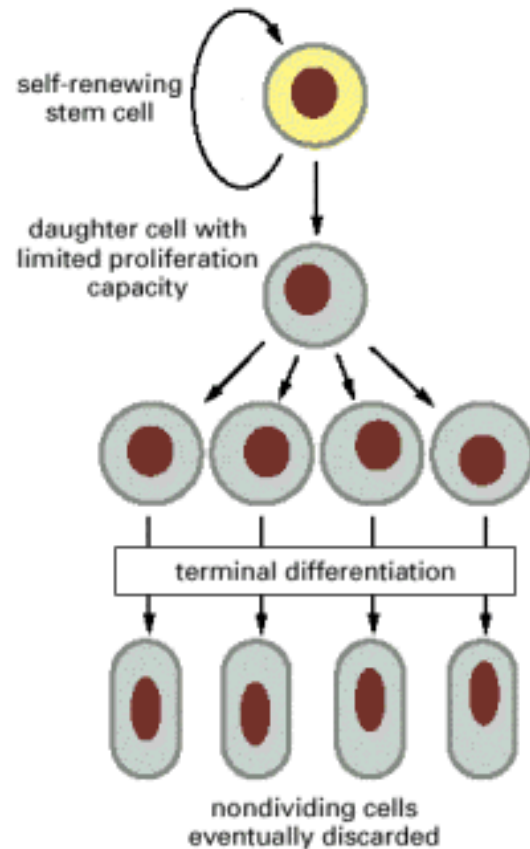
(A)



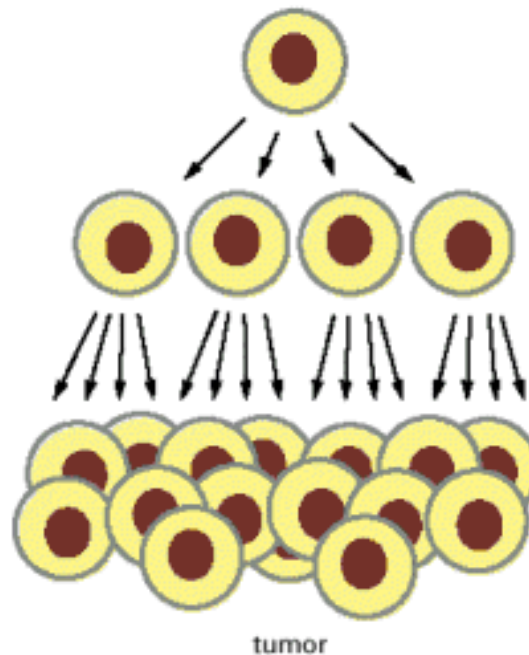
(B)



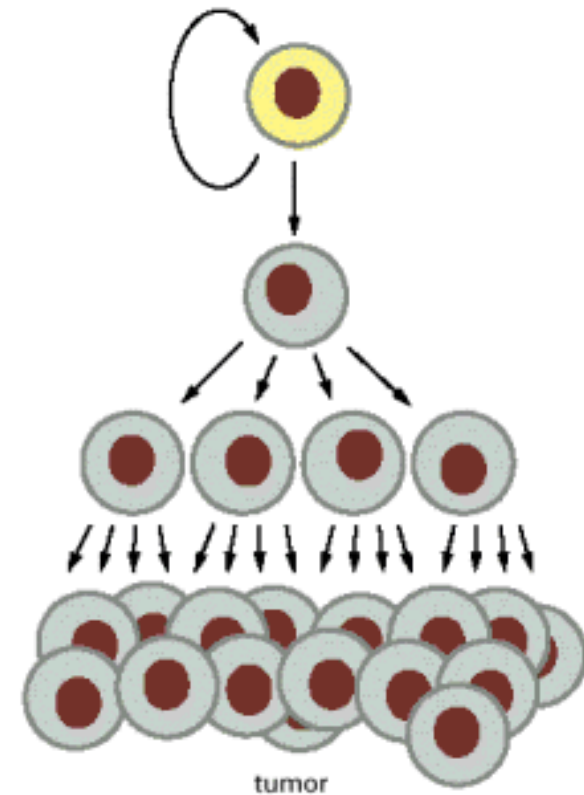
L'équilibre entre auto-renouvellement et différenciation est crucial



(A) NORMAL PATHWAY



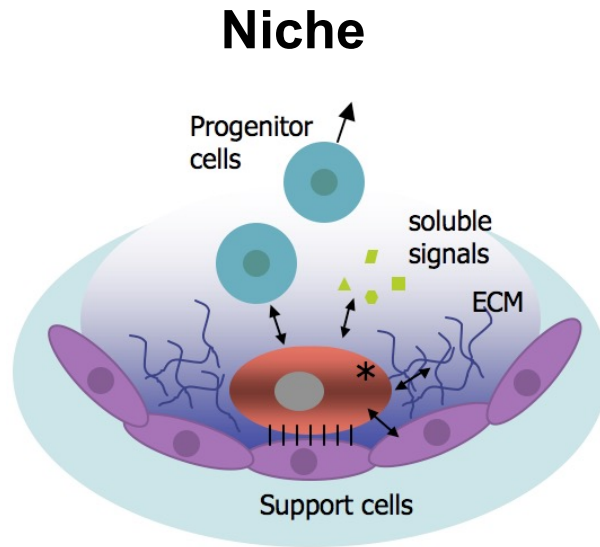
(B) STEM CELL FAILS TO PRODUCE ONE NON-STEM-CELL DAUGHTER IN EACH DIVISION AND THEREBY PROLIFERATES TO FORM A TUMOR



(C) DAUGHTER CELLS FAIL TO DIFFERENTIATE NORMALLY AND INSTEAD PROLIFERATE TO FORM A TUMOR

Comment cet équilibre est-il régulé?

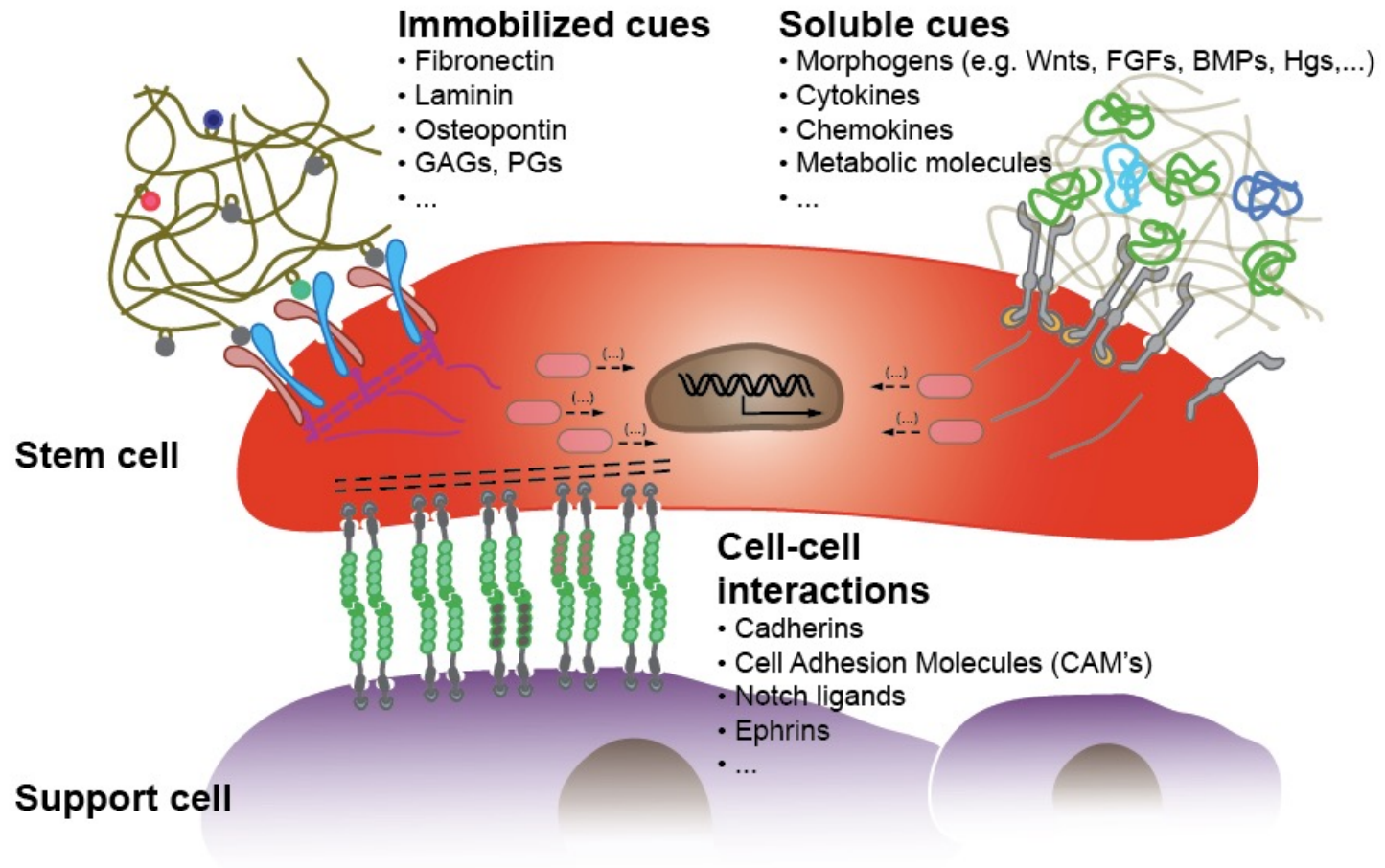
Les cellules souches adultes résident dans une niche



- Emplacement et architecture définis
- Interactions biochimiques de cellules souches-niche
- Interactions physiques avec les cellules de soutien
- Protège les cellules souches de la différenciation
- Régule leur renouvellement

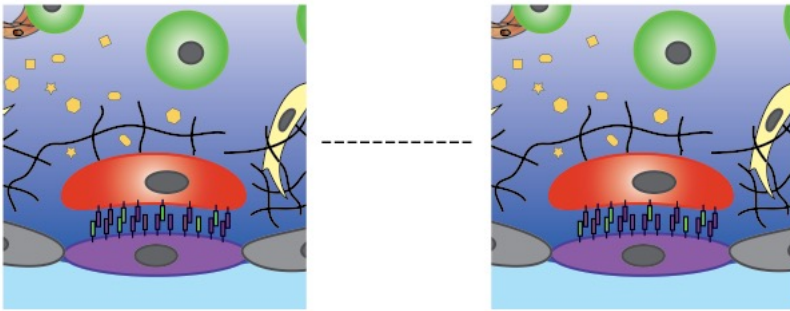
➤ La perte de contact avec la niche entrave la fonction des cellules souches

Constituants moléculaires de la niche

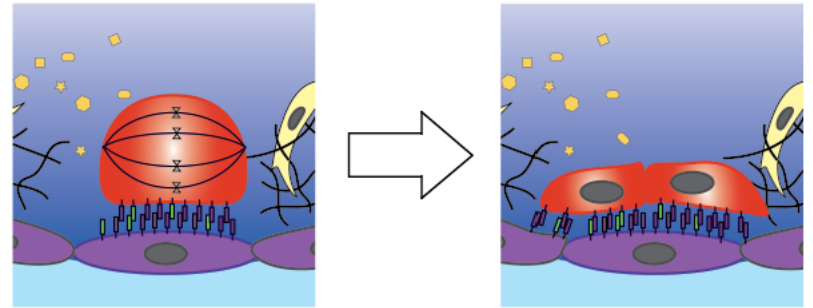


Possible destin des cellules souches individuelles dans la niche

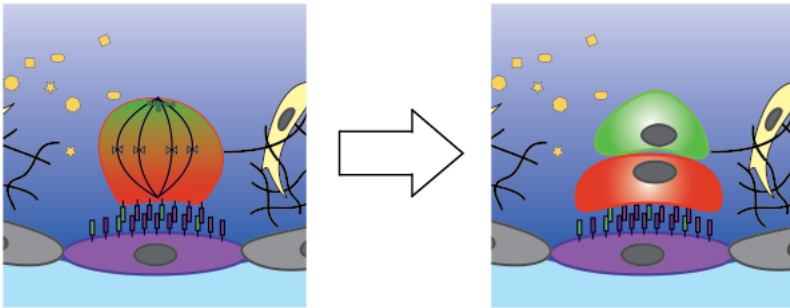
Quiescence



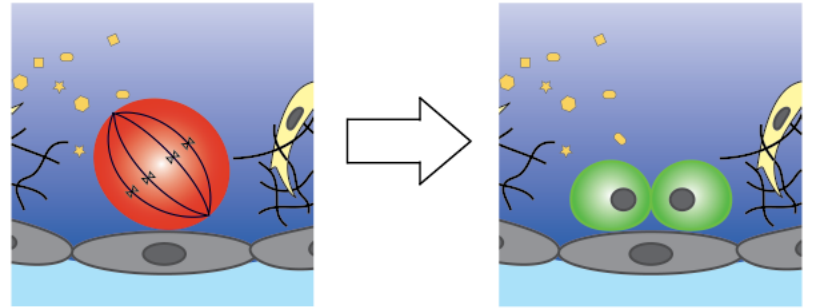
Division d'auto-renouvellement symétrique



Division d'auto-renouvellement asymétrique

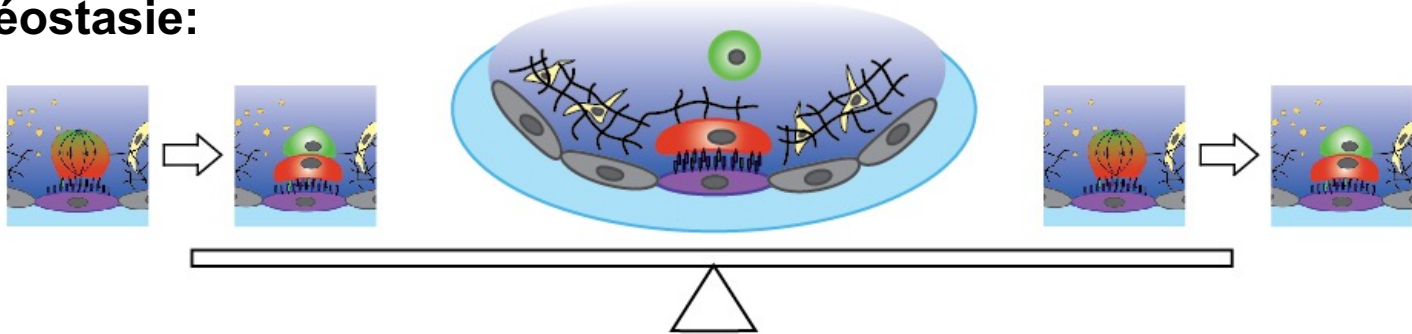


Division de différenciation

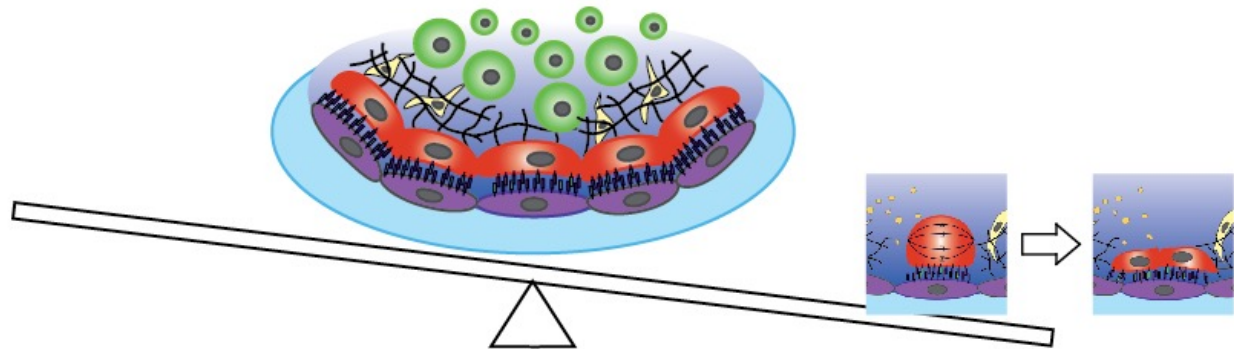


Contrôle de la taille du pool de cellules souches dans la niche

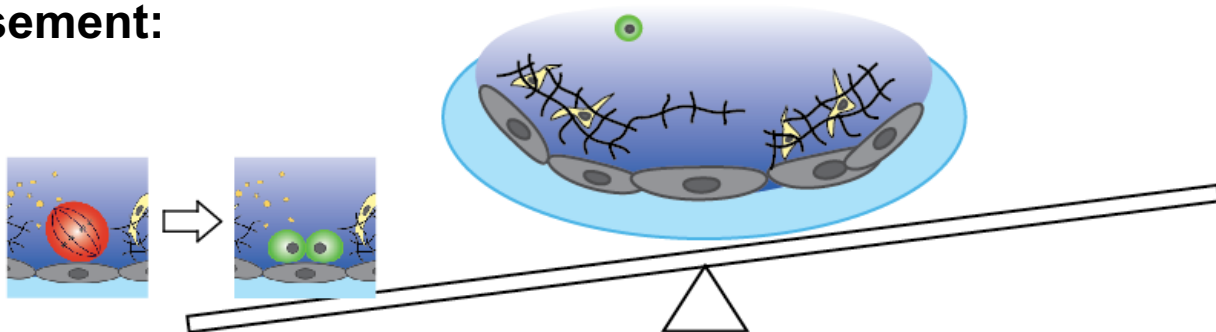
Homéostasie:



Expansion:



Épuisement:



Une histoire de cellules souches

https://www.youtube.com/regarder?v=2-3J6JGN-_Y