

## Greffes et cellules souches, jusqu'où ira-t-on ? Les cellules souches, l'avenir de la médecine ?

### Qu'est-ce qu'une cellule souche ?

Dans notre corps, on retrouve de nombreuses cellules, dont les cellules dites souches. Ces cellules ont la particularité de pouvoir se transformer en tous les types de cellules qui composent notre corps. Cette capacité est nommée la pluripotence (1). Pour ce faire, elles vont se différencier, c'est-à-dire qu'elles vont acquérir des propriétés spécifiques d'une lignée de cellules. Par exemple, les globules rouges seront capables de transporter l'oxygène dans notre corps (1).

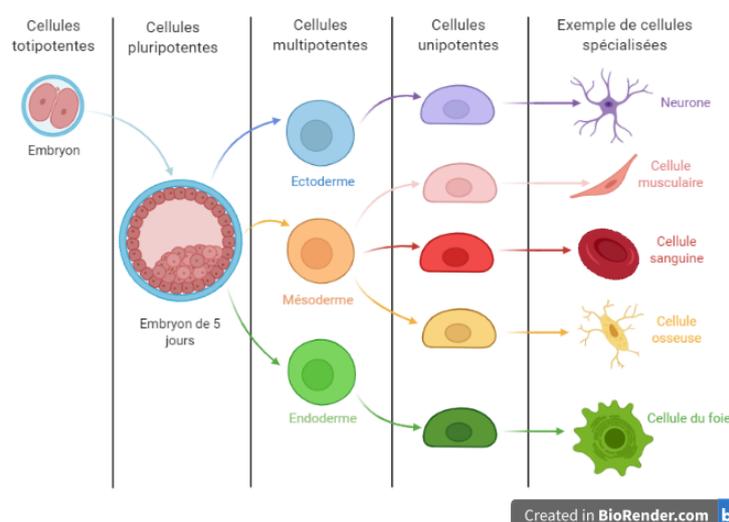
Une fois différenciée, la cellule perd sa capacité de pluripotence (naturellement, il n'y a plus de retour en arrière) (1). Il est important de savoir que la plupart des cellules peuvent se multiplier pour produire des cellules identiques à elles-mêmes, à la différence des cellules souches qui, suite au processus de différenciation, peuvent donner des types cellulaires différents (1).

### Les différents types de cellules souches

On peut classer les différents types de cellules souches suivant leur capacité à se diviser et/ou suivant leur origine.

Selon leur capacité à se diviser, on obtient le classement suivant (Figure 1) (2,3) :

- **Les cellules souches totipotentes** : elles proviennent du futur bébé, aussi appelé embryon. Elles peuvent donner tous les types de cellules de notre corps (1).
- **Les cellules souches pluripotentes** : elles proviennent d'un embryon à partir du 5<sup>ème</sup> jour après la fécondation (2). Elles sont capables de donner toutes les cellules du corps, sauf le placenta, qui est la barrière entre la maman et le bébé et qui lui permet de respirer et de se nourrir.
- **Les cellules souches multipotentes** : elles ne pourront donner qu'une famille de cellules en fonction de leur origine.
- **Les cellules souches unipotentes** : elles ne peuvent donner qu'une seule sorte de cellules (2).



**Figure 1** : Schéma de différenciation des cellules souches, de l'embryon à la cellule différenciée.

Selon leur origine, on obtient le classement suivant (2,3) :

- **Les cellules souches embryonnaires** : elles sont totipotentes au début du développement de l'embryon, et deviennent pluripotentes à partir du 5<sup>ème</sup> jour de développement (Figure 1). Elles peuvent donner des cellules de l'endoderme, du mésoderme et de l'ectoderme (Figure 1) (2) :
  - L'endoderme, donnera les cellules du tube digestif, du foie, des poumons, etc (1).
  - Le mésoderme donnera des cellules sanguines, des cellules osseuses, etc (1).
  - L'ectoderme donnera différents types cellulaires, notamment des cellules du système nerveux, comme les neurones (1).
- **Les cellules souches adultes** : elles sont présentes dans différents organes et tissus, et peuvent donner au moins un type de cellule différenciée (2). Elles sont par exemple présentes dans la moelle osseuse (4), où elles sont à l'origine des cellules du sang (1).
- **Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC)** : elles n'existent pas dans le corps. Ce sont des scientifiques qui les ont développées en laboratoire à partir de cellules adultes (3).

### Les iPSC et leurs avantages

Les iPSC ont les mêmes capacités que les cellules souches embryonnaires, qui peuvent donner toutes les cellules du corps (5). Les avantages d'avoir de telles cellules pourraient être par exemple, les traitements de différentes maladies (appelés thérapies cellulaires), par exemple de traiter des personnes atteintes de maladies génétiques, en corrigeant dans un certain organe/tissu des mutations dans l'ADN (qui est la carte d'identité de la cellule) (6). L'utilisation de cellules souches adultes en thérapie cellulaire existe déjà depuis plusieurs années, par exemple dans le cas de greffes de cellules souches prélevées dans la moelle osseuse, pour traiter des cancers ou des maladies liées au sang (7). Mais les applications sont limitées en raison du problème de rejet de greffe, ce qui arrive quand le corps du patient qui reçoit la greffe, détruit ce qui lui a été greffé (exemple, un organe, des cellules). Ces applications sont également limitées en raison de la quantité et de l'origine des cellules souches disponibles. Grâce aux iPSC, on pourrait obtenir un plus grand nombre de cellules et de types cellulaires différents (8). Il serait également possible de constituer des banques d'iPSC, par exemple pour soigner des patients ayant besoin d'une greffe. Lors d'une greffe, les cellules doivent être le plus compatible possible avec le receveur sous peine d'être rejetées. Les banques permettraient donc de choisir des cellules compatibles (9).

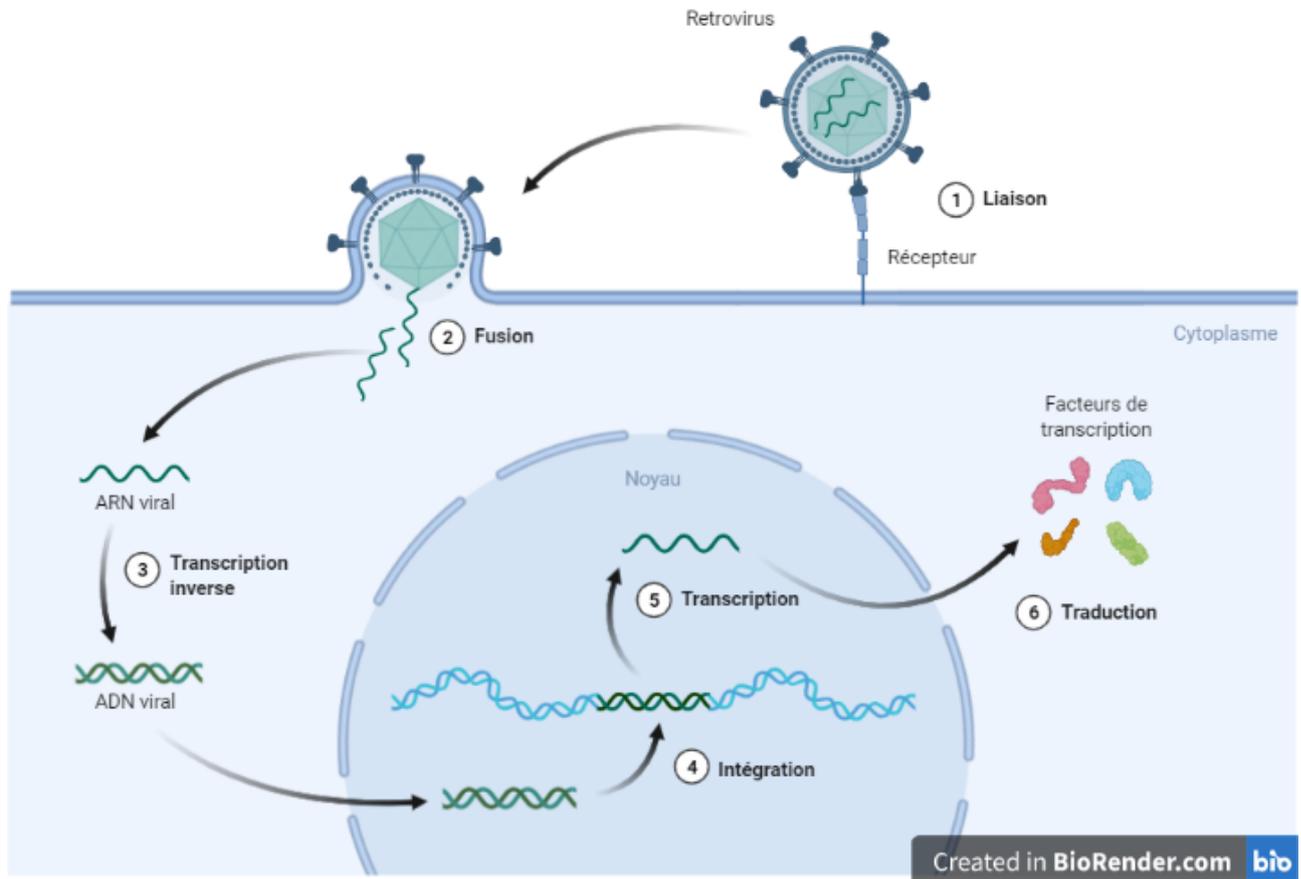
On utilise aussi les iPSC pour «mimer» des maladies en laboratoire, afin de mieux les comprendre. Pour se faire, on prélève des cellules chez une personne malade et on les reprogramme en iPSC. Cela permet d'obtenir un grand nombre de cellules pour étudier le fonctionnement de la maladie et les traitements possibles (10). Même si une cellule ne peut remplacer une personne, les tests sur ces iPSC sont une étape importante dans l'avancée de la recherche. C'est le cas pour certaines maladies encore mal comprise, comme la maladie d'Alzheimer (11) ou certains cancers (12).

### Comment obtenir des iPSC ?

La première étape pour obtenir des iPSC consiste à prélever des cellules adultes différenciées d'une personne, et les cultiver en laboratoire (Figure 3). Les fibroblastes, qui constituent le tissu de soutien de la peau, ont été les premières cellules choisies pour cette procédure (13).

La deuxième étape consiste à reprogrammer ces cellules (Figure 3), en réactivant les capacités de pluripotence qu'elles possédaient. Pour y arriver, il faut forcer la cellule à produire des protéines (qui sont des molécules qui font fonctionner les cellules) spécifiques. Cette production est réalisée grâce à des virus modifiés, qui font pénétrer des gènes codant pour ces protéines (Figure 2). Dans le cas des iPSC, ces dernières sont appelées facteurs de

transcription. Ils vont s'intégrer à l'ADN des cellules et les « diriger » pour produire une série de protéines qui vont rendre aux cellules leur capacité de pluripotence en activant certaines caractéristiques (14).

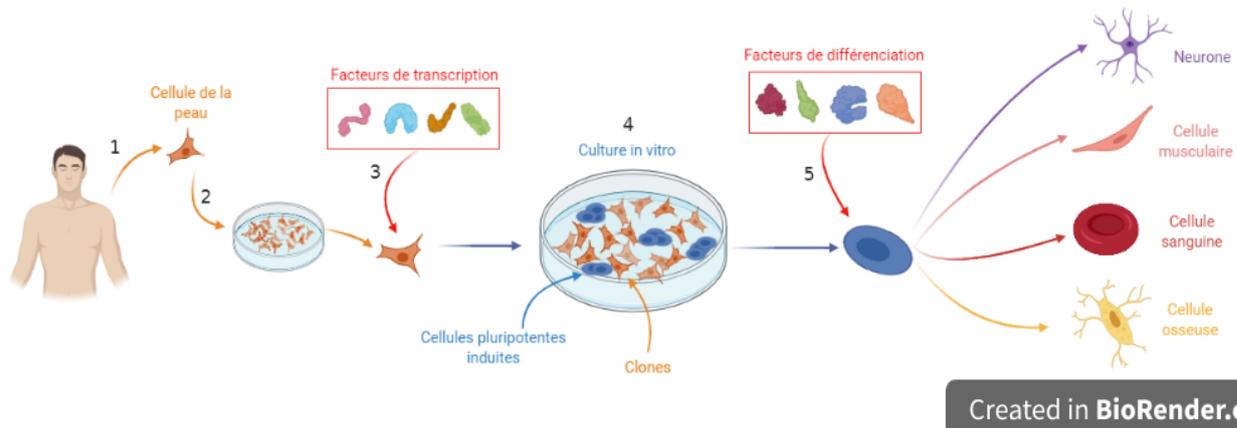


**Figure 2** : Fonctionnement d'un rétrovirus. 1 Liaison du rétrovirus à la cellule. 2 Fusion du rétrovirus avec la cellule. 3 Transcription inverse de l'ARN viral en ADN viral. 4 Intégration de l'ADN viral à l'ADN de la cellule. 5 Transcription de l'ADN de la cellule en ARN viral. 6 Traduction pour obtenir les facteurs de transcription

Les expériences menées par Takahashi et Yamanaka (15) ont permis d'identifier 4 facteurs de transcription essentiels à la reprogrammation cellulaire:

- Oct4 : il est capable de reprogrammer les cellules qui possèdent déjà les facteurs qui suivent (16).
- Sox2 : son implication n'est pas encore bien connue. Cependant, on sait qu'il permet d'obtenir des iPSC à partir de cellules adultes. (17).
- Klf-4 : il facilite l'activité de Oct4 et permet de déclencher la pluripotence (18).
- c-Myc : il joue un rôle dans la multiplication, la différenciation et la croissance des cellules (1).

Ces quatre facteurs sont donc capables de donner la capacité de pluripotence à des cellules.



**Figure 3** : Comment obtenir des iPSC : 1 Prélèvement des cellules ; 2 Mises en culture des cellules et amplification ; 3 Addition des facteurs de transcription par un vecteur viral ; 4 Culture in vitro ; 5 Ajout de différents facteurs de différenciation.

### L'obtention des différents types cellulaires

L'étape de différenciation des iPSC (Figure 3) est réalisée en laboratoire par l'utilisation de diverses techniques (19). Il est maintenant possible d'obtenir plusieurs types cellulaires : des neurones, des cellules musculaires, des cellules sanguines, des cellules osseuses, etc. Cependant, ces cellules ne sont pas encore matures et les chercheurs continuent d'améliorer leurs protocoles pour arriver à des cellules complètement matures et différenciées.

À l'heure actuelle, aucune cellule reproductrice humaine (spermatozoïdes et ovules) n'a pu être obtenue à partir d'iPSC humaines (20,21). Cette production est pourtant théoriquement possible et a été réalisée chez la souris (22). En effet, on a pu obtenir des cellules reproductrices, qui ont donné naissance à des animaux normaux et capables de se reproduire. À plus long terme, l'utilisation d'iPSC différenciées en cellules reproductrices, pourrait ouvrir de nouvelles perspectives pour les personnes non fertiles (23,24).

### Les défis que représentent les iPSC et les problèmes rencontrés

L'efficacité de la reprogrammation cellulaire est assez faible (15). De plus, parmi les iPSC obtenues, certaines comportent des mutations dans leur ADN (25). Ces mutations peuvent être causées par les virus transporteurs, utilisés pour permettre aux facteurs de transcription de rentrer dans la cellule. Lorsqu'ils rentrent dans la cellule, leur ARN est rétrotranscrit en ADN qui s'intègre à celui de la cellule à reprogrammer (Figure 2) (26).

Plusieurs chercheurs ont essayé d'améliorer les procédures de production des iPSC, en testant d'autres facteurs de transcription (26,27) et d'autres méthodes pour les faire entrer dans la cellule (28,29,30). Un exemple d'amélioration, est l'utilisation de virus non-intégratifs qui transfèrent les facteurs de transcription sans s'intégrer à l'ADN des cellules (31,32). Un autre exemple d'amélioration, est la reprogrammation chimique, grâce à des petites molécules qui vont remplacer les facteurs de transcription (33). Malgré les nombreux progrès, il y a encore beaucoup d'améliorations à apporter (34).

Les iPSC obtenues doivent après être différenciées, en laboratoire, pour obtenir le type de cellule souhaité. Cette étape est essentielle afin d'éviter que les cellules ne se développent de manière incontrôlable. Cela pourrait être à l'origine de cancers une fois greffées dans le corps du patient (35,36). L'utilisation d'iPSC nécessite donc beaucoup de contrôles. Il faut vérifier qu'il n'y a pas de mutations dans leur ADN après la reprogrammation. De nombreuses études sont encore en cours pour améliorer ces techniques (37). Il est aussi possible que les iPSC n'arrivent pas au bout du processus de différenciation. Elles ne peuvent alors pas remplir leurs fonctions (38).

Un autre défi dans l'utilisation des cellules souches, est qu'un organe est composé de plusieurs types de cellules. On ne peut donc pas reproduire un organe entier avec une seule sorte de cellule différenciée (39).

### Et demain ?

Les cellules souches, et plus particulièrement les cellules souches pluripotentes induites (iPSC), font l'objet de nombreuses recherches scientifiques. Elles représentent un grand espoir pour le futur. Malgré qu'il reste encore du chemin à parcourir, leur utilisation pour la thérapie cellulaire et pour la compréhension de maladies mal connues, permettrait à la recherche médicale de faire un bond en avant !

### Bibliographie :

- (1) Forêt Romaric. DICO de BIO. 3e éd. Louvain-la-Neuve : De Boeck; 2012
- (2) Sobhani A, Khanlarkhani N, Baazm M, Mohammadzadeh F, Najafi A, Mehdinejadani S, et al. Multipotent Stem Cell and Current Application. *Acta Med Iran.* 2017;55(1):623. PMID: 28188938
- (3) Khanlarkhani N, Baazm M, Mohammadzadeh F, Najafi A, Mehdinejadani S, Sobhani A. Multipotent Stem Cell and Reproduction. *J Stem Cells.* 2016;11(4):21929. PMID: 28296874
- (4) Gaddam S, Periasamy R, Gangaraju R. Adult Stem Cell Therapeutics in Diabetic Retinopathy. *Int J Mol Sci.* 2019;20(19). DOI: 10.3390/ijms20194876
- (5) Lee WH, Chen W-Y, Shao N-Y, Xiao D, Qin X, Baker N, et al. Comparison of Non-Coding RNAs in Exosomes and Functional Efficacy of Human Embryonic Stem Cell- versus Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *Stem Cells.* 2017;35(10):213849. DOI: 10.1002/stem.2669
- (6) Li Y, Chan L, Nguyen HV, Tsang SH. Personalized Medicine: Cell and Gene Therapy Based on Patient-Specific iPSC-Derived Retinal Pigment Epithelium Cells. *Adv Exp Med Biol.* 2016;854:54955. DOI: 10.1007/978-3-319-17121-0\_73
- (7) Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(6):78692. DOI: 10.1038/bmt.2016.20
- (8) Ye L, Swingen C, Zhang J. Induced pluripotent stem cells and their potential for basic and clinical sciences. *Curr Cardiol Rev.* 2013;9(1):63-72. DOI: 10.2174/157340313805076278
- (9) Steeg R, Neubauer JC, Müller SC, Ebnet A, Zimmermann H. The EBiSC iPSC bank for disease studies. *Stem Cell Res.* 2020;49:102034. DOI: 10.1016/j.scr.2020.102034
- (10) Volpato V, Webber C. Addressing variability in iPSC-derived models of human disease: guidelines to promote reproducibility. *Dis Model Mech.* 2020;13(1). DOI: 10.1242/dmm.042317
- (11) Mungenast AE, Siegert S, Tsai L-H. Modeling Alzheimer's disease with human induced pluripotent stem (iPS) cells. *Mol Cell Neurosci.* 2016;73:1331. DOI: 10.1016/j.mcn.2015.11.010
- (12) Marin Navarro A, Susanto E, Falk A, Wilhelm M. Modeling cancer using patient-derived induced pluripotent stem cells to understand development of childhood malignancies. *Cell Death Discov.* 2018;4:7. DOI: 10.1038/s41420-017-0009-2
- (13) Malik N, Rao MS. A review of the methods for human iPSC derivation. *Methods Mol Biol.* 2013;997:23-33. DOI: 10.1007/978-1-62703-348-0\_3
- (14) Pluripotent Stem Cells, iPSCs cells | Learn Science at Scitable [Internet]. [cité 20 déc 2020]. Disponible sur: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/turning-somatic-cells-into-pluripotent-stem-cells-14431451/>
- (15) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006;126(4):66376. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024
- (16) Velychko S, Adachi K, Kim K-P, Hou Y, MacCarthy CM, Wu G, et al. Excluding Oct4 from Yamanaka Cocktail Unleashes the Developmental Potential of iPSCs. *Cell Stem Cell.* 2019;25(6):737-753.e4. DOI: 10.1016/j.stem.2019.10.002
- (17) Schaefer T, Lengerke C. SOX2 protein biochemistry in stemness, reprogramming, and cancer: the PI3K/AKT/SOX2 axis and beyond. *Oncogene.* 2020;39(2):27892. DOI: 10.1038/s41388-019-0997-x

- (18) Wei Z, Gao F, Kim S, Yang H, Lyu J, An W, et al. Klf4 organizes long-range chromosomal interactions with the oct4 locus in reprogramming and pluripotency. *Cell Stem Cell*. 2013;13(1):3647. DOI: 10.1016/j.stem.2013.05.010
- (19) Lewandowski J, Kolanowski TJ, Kurpisz M. Techniques for the induction of human pluripotent stem cell differentiation towards cardiomyocytes. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017;11(5):1658-74. DOI: 10.1002/term.2117
- (20) Fang F, Li Z, Zhao Q, Li H, Xiong C. Human induced pluripotent stem cells and male infertility: an overview of current progress and perspectives. *Human Reproduction*. 2018;33(2):188-95. DOI: 10.1093/humrep/dex369
- (21) Gauthier-Fisher A, Kauffman A, Librach CL. Potential use of stem cells for fertility preservation. *Andrology*. 2020;8(4):862-78. DOI: <https://doi.org/10.1111/andr.12713>
- (22) Li Y, Wang X, Feng X, Liao S, Zhang D, Cui X, et al. Generation of male germ cells from mouse induced pluripotent stem cells in vitro. *Stem Cell Res*. 2014;12(2):51730. DOI: 10.1016/j.scr.2013.12.007
- (23) Cai H, Xia X, Wang L, Liu Y, He Z, Guo Q, et al. In vitro and in vivo differentiation of induced pluripotent stem cells into male germ cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;433(3):28691. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.02.107
- (24) Wang S-Y, Cui Y-G, Qin L-J. [Differentiation of pluripotent stem cells into male germ cells: An update]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2017;23(5):46872. PMID: 29717842
- (25) Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007;448(7151):313-7. DOI: 10.1038/nature05934
- (26) Bang JS, Choi NY, Lee M, Ko K, Lee HJ, Park YS, et al. Optimization of episomal reprogramming for generation of human induced pluripotent stem cells from fibroblasts. *Anim Cells Syst (Seoul)*. 2018;22(2):132-9. DOI: 10.1080/19768354.2018.1451367
- (27) Xiao X, Li N, Zhang D, Yang B, Guo H, Li Y. Generation of Induced Pluripotent Stem Cells with Substitutes for Yamanaka's Four Transcription Factors. *Cell Reprogram*. 2016;18(5):281-97. DOI: 10.1089/cell.2016.0020
- (28) Hu K. All Roads Lead to Induced Pluripotent Stem Cells: The Technologies of iPSC Generation. *Stem Cells and Development*. 2014;23(12):1285-300. DOI: 10.1089/scd.2013.0620
- (29) Loh Y-H, Yang JC, Angeles ADL, Guo C, Cherry A, Rossi DJ, et al. Excision of a Viral Reprogramming Cassette by Delivery of Synthetic Cre mRNA. *Current Protocols in Stem Cell Biology*. 2012;21(1):4A.5.1-4A.5.16. DOI: 10.1002/9780470151808.sc04a05s21
- (30) Park HY, Noh EH, Chung H-M, Kang M-J, Kim EY, Park SP. Efficient Generation of Virus-Free iPSC Cells Using Liposomal Magnetofection. *PLOS ONE*. 2012;7(9):e45812. DOI: 10.1371/journal.pone.0045812
- (31) Lieu PT, Fontes A, Vemuri MC, Macarthur CC. Generation of induced pluripotent stem cells with CytoTune, a non-integrating Sendai virus. *Methods Mol Biol*. 2013;997:4556. DOI: 10.1007/978-1-62703-348-0\_5
- (32) Fusaki N, Ban H, Nishiyama A, Saeki K, Hasegawa M. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2009;85(8):348-62. DOI: 10.2183/pjab.85.348
- (33) Lin T, Wu S. Reprogramming with Small Molecules instead of Exogenous Transcription Factors. *Stem Cells Int*. 2015;2015:794632. DOI: 10.1155/2015/794632
- (34) Haridhasapavalan KK, Raina K, Dey C, Adhikari P, Thummer RP. An Insight into Reprogramming Barriers to iPSC Generation. *Stem Cell Rev Rep*. 2020;16(1):56-81. DOI: 10.1007/s12015-019-09931-1
- (35) Zhang G, Shang B, Yang P, Cao Z, Pan Y, Zhou Q. Induced Pluripotent Stem Cell Consensus Genes: Implication for the Risk of Tumorigenesis and Cancers in Induced Pluripotent Stem Cell Therapy. *Stem Cells and Development*. 2012;21(6):955-64. DOI: 10.1089/scd.2011.0649
- (36) Gutierrez-Aranda I, Ramos-Mejia V, Bueno C, Munoz-Lopez M, Real PJ, Mácia A, et al. Human Induced Pluripotent Stem Cells Develop Teratoma More Efficiently and Faster Than Human

- Embryonic Stem Cells Regardless the Site of Injection. *STEM CELLS*. 2010;28(9):1568-70. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.471>
- (37) Sürün D, Schneider A, Mircetic J, Neumann K, Lansing F, Paszkowski-Rogacz M, et al. Efficient Generation and Correction of Mutations in Human iPSC Cells Utilizing mRNAs of CRISPR Base Editors and Prime Editors. *Genes (Basel)*. 2020;11(5). DOI: 10.3390/genes11050511
- (38) Horton C, Davies TJ, Lahiri P, Sachamitr P, Fairchild PJ. Induced pluripotent stem cells reprogrammed from primary dendritic cells provide an abundant source of immunostimulatory dendritic cells for use in immunotherapy. *Stem Cells*. 2020;38(1):6779. DOI: 10.1002/stem.3095
- (39) Olgasi C, Cucci A, Follenzi A. iPSC-Derived Liver Organoids: A Journey from Drug Screening, to Disease Modeling, Arriving to Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17). DOI: 10.3390/ijms21176215