



ELSEVIER  
MASSON

Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
 EM|consulte  
www.em-consulte.com

---

---

TRANSFUSION  
CLINIQUE ET BIOLOGIQUE

---

---

Transfusion Clinique et Biologique 16 (2009) 489–500

Revue générale  
Expansion ex vivo des cellules hématopoïétiques :  
concept et utilité clinique

*Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells: Concept and clinical benefit*

Z. Ivanovic<sup>a</sup>, J.-M. Boiron<sup>a,\*</sup>,<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Établissement français du Sang–Aquitaine-limousin, place Amélie-Raba-Léon, BP24, 33035 Bordeaux cedex, France

<sup>b</sup>Université de Bordeaux, 166, cours de l'Argonne, 33000 Bordeaux, France

---

## Résumé

Les quatre dernières décennies du xx<sup>e</sup> siècle ont permis la naissance et le développement de l'hématologie expérimentale. Cette discipline n'a pas seulement « mis à jour » le concept de *Stemness* (terme difficile à traduire en français car prenant en compte les potentialités simultanées de différenciation et d'autorenouvellement), un paradigme appliqué ensuite en dehors de l'hématopoïèse, mais elle a également donné des résultats qui ont permis un développement préclinique et une exploitation thérapeutique. Le concept d'expansion ex vivo des cellules hématopoïétiques en vue d'une greffe est directement basé sur ces enseignements. Il nous amène à comprendre qu'un greffon doit contenir les différentes sous-populations des cellules souches et des progéniteurs en nombre suffisant pour assurer une prise de greffe rapide et de longue durée. Transféré sur les cellules humaines de moelle osseuse, celles mobilisées dans le sang périphérique et dans le sang placentaire, ce concept a exigé des innovations technologiques importantes (création de milieux de culture appropriés, production de cytokines recombinantes...) pour permettre, dans le cas des cellules mobilisées dans le sang périphérique, après plusieurs tentatives infructueuses, les premiers essais cliniques efficaces. Le même objectif reste à être réalisé pour le sang placentaire. Le développement et l'état actuel de ce sujet sont élaborés dans cette revue.

© 2009 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

*Mots clés* : Progéniteurs hématopoïétiques ; Greffe ; Cellules souches ; Amplification

## Abstract

A new discipline was born and grew up over the last 4 decades of 20th century: *Experimental Hematology*. In addition to yield the concept of *Stemness*, a paradigm later applied for the other tissues than hematopoietic one, it provided the results allowing a preclinical development and a therapeutic exploitation. The concept of ex vivo expansion of hematopoietic cells for transplantation is directly issued from this knowledge. It enabled us to realize that a critical quantity of different sub-populations of stem and progenitor cells are necessary to obtain a rapid and sustained hematopoietic reconstitution. These principles, transposed to human cells (originating from: bone marrow, peripheral blood, cord blood) required some important technological innovations (conception of the specific media, recombinant technology of cytokine production...), to achieve, after several attempts, the first efficient clinical trials (at the moment for cells mobilized in peripheral blood). This goal remains to be achieved for cord blood cells too. The developments in this field as well as its actual state are the subjects of this review.

© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

*Keywords*: Hematopoietic progenitors; Transplantation; Stem cell; Expansion

---

Il y a 15 ans à peine, on se posait la question « peut-on cultiver les cellules souches hématopoïétiques ex vivo ? » [1]. Depuis, des progrès non négligeables ont été réalisés dans la

compréhension des principes fondamentaux de la physiologie des cellules souches et progénitrices ainsi que dans le développement technologique de leur manipulation ex vivo. Ces progrès sont en train d'être transférés au niveau de la thérapie cellulaire. Ainsi, depuis quelques années, on greffe les patients avec les cellules hématopoïétiques amplifiées ex vivo sans greffe conjointe des cellules non manipulées [2], ce qui

---

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : jean-michel.boiron@efs.sante.fr (J.M. Boiron).

permet une réduction importante de la période de granulopénie post-greffe, voire sa disparition totale. Cela témoigne d'un dynamisme exceptionnel de ce sujet qui fera l'objet de cette revue.

## 1. Le concept de base

Le concept d'expansion *ex vivo* des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques est basé sur la réflexion fondamentale appuyée à l'origine par des résultats d'hématologie expérimentale effectués sur le modèle animal et surtout sur la souris. Depuis la première preuve expérimentale de l'existence d'une cellule capable de produire des cellules matures des trois lignées hématopoïétiques [3] jusqu'à ce jour, cette progression a permis de comprendre l'hétérogénéité de la population des cellules souches et celle des progéniteurs hématopoïétiques. Cette hétérogénéité fonctionnelle est le facteur principal qui nous amène vers une complexité qui ne permet pas facilement de simplifier la matière sans en perdre l'essentiel.

La première période « classique » de l'hématologie expérimentale a permis de comprendre la cinétique de la reconstitution rapide de la lignée érythrocytaire (*Erythrocyte Repopulating Ability* [ERA]) et granulocytaire (*Granulocyte Repopulating Ability* [GRA]) post-greffe qui reflète, en effet, l'activité des progéniteurs érythrocytaires (BFU-E) et granulocyte-monocytaires (CFU-GM) [4] ; revue : [5]). D'autres travaux ont démontré qu'une autre population de progéniteurs un peu plus primitifs – CFU-S (à l'époque appelés « cellules souches ») est responsable de la « capacité protectrice de l'irradiation » (« Lethal Radioprotective Ability »), mais incapable de maintenir la greffe à long terme [6]. En revanche, une autre population, encore plus primitive que les CFU-S, appelée dans un premier temps « pré-CFU-S » puis *Marrow Repopulating Ability*, engendre ensuite des cellules fonctionnelles [7]. C'est la première population que l'on peut appeler « cellules souches ». Des recherches encore plus poussées ont permis de déduire que les cellules souches hématopoïétiques sont « hiérarchisées » selon leur capacité proliférative décroissante. Elles sont donc arbitrairement « divisées » selon le critère de temps d'apparition de cellules matures fonctionnelles dans le sang périphérique et selon la durée de vie des clones qu'elles génèrent, en trois sous-populations : celles qui greffent à court terme, moyen terme et à long terme [8–10]. Ce phénomène de relargage dans le sang périphérique des cellules de la lignée granulo-monocytaire est souvent appelé « prise de greffe » dans le vocabulaire clinique. Pourtant, ce « tableau » n'est pas si clair car une partie des résultats publiés semble être contradictoire. Une analyse plus approfondie révèle que ces contradictions viennent probablement de deux raisons principales :

- la confusion provoquée par l'idée « empruntée » à l'immunologie de « superposer » les sous-populations cellulaires définies phénotypiquement (et physiquement isolées sur ce critère) avec celles définies par leur capacité fonctionnelle ;

- le fait que la repopulation hématopoïétique à moyen terme ainsi que le maintien de l'hématopoïèse à long terme résultent de deux processus parallèles :
  - l'activation et la persistance des clones à longue durée de vie,
  - l'activation séquentielle des clones de durée de vie limitée [11].

Tous les travaux d'hématologie expérimentale considérés dans leur ensemble suggèrent donc, que si l'on veut obtenir une repopulation rapide et durable, le greffon doit contenir un nombre suffisant de cellules souches et de progéniteurs hématopoïétiques de toutes les catégories mentionnées ci-dessus. Grâce au développement des technologies de mise en évidence des progéniteurs humains (cultures semi-solides) et des cellules souches (les modèles de greffe xénogénique, cultures à long-terme), les résultats de ces travaux sur le modèle animal ont rapidement été confirmés pour les cellules humaines de trois « sources » « privilégiées » : moelle osseuse, sang périphérique et SP [12] ; revue : [13] (voir la remarque importante sur la terminologie en fin d'article).

Donc, dans le cas idéal, une expansion *ex vivo* devrait permettre d'amplifier toutes ces sous-populations de cellules souches et de progéniteurs. Pourtant, le travail expérimental s'est heurté au fait que les cellules souches primitives perdent leur capacité proliférative à cause de leur différenciation en culture, c'est-à-dire, leur épuisement. Donc, une culture *ex vivo* à partir des cellules souches plus ou moins enrichies par une sélection basée sur leur immuno-phénotype produit typiquement un grand nombre de progéniteurs et de précurseurs hématopoïétiques mais finit par la perte partielle ou totale des cellules souches. À première vue, cela devrait convenir car l'objectif principal est de raccourcir la granulocytopenie post-greffe ou, plus précisément, la neutropénie post-greffe, période à grand risque pour le patient dépourvu de son immunité non spécifique et exigeant donc des soins particuliers et coûteux. La question de la thrombopénie post-greffe n'est pas moins importante, mais cet état est bien pallié par la transfusion des plaquettes. Mais, il faut rappeler que l'ensemble des travaux expérimentaux « classiques » dans ce domaine, dont une partie est citée ci-dessus, a été concluant sur un point : s'il n'y a que des progéniteurs dans le greffon (et pas de cellules souches), cette « prise de greffe » est transitoire et de courte durée.

À première vue, il semble impossible d'obtenir une amplification simultanée des cellules souches et des progéniteurs. Pourtant, l'expérimentation fondamentale a permis d'élaborer des concepts selon lesquels ce phénomène est tout à fait possible. Il s'agit de bien comprendre la situation physiologique et physiopathologique. L'analyse de l'hématopoïèse à l'état d'équilibre physiologique et de régénération nous démontre que le stock des cellules souches *in vivo* assure la production des cellules matures par différenciation de certaines cellules souches et son propre maintien par le phénomène d'auto-renouvellement [14,15]. Il fallait donc comprendre la physiologie pour découvrir les conditions *ex vivo* qui auraient permis d'obtenir simultanément ces deux phénomènes. À vrai dire, la complexité du micro-environne-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/1105722>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/1105722>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)