



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

 www.em-consulte.com



Revue générale

Effet et applications potentielles de la culture des cellules souches mésenchymateuses de moelle osseuse en condition d'hypoxie

Biological effects and potential applications of mesenchymal stem cell culture under low oxygen pressure

C. Némos^a, L. Basciano^b, A. Dalloul^{b,*},^c

^a EA 4368, déficits cognitifs et anomalies du génome, faculté de médecine de Nancy, rue du Morvan, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France

^b EA 4369, RHEM, faculté de médecine de Nancy, 184, avenue de La-Forêt-de-Haye, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

^c Unité de thérapie cellulaire et tissulaire, faculté de médecine de Nancy, université Henry-Poincaré Nancy-1, CHU de Nancy-Brabois, 9, avenue de La-Forêt-de-Haye, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 8 juin 2010

Accepté le 5 juillet 2011

Mots clés :

Cellules souches mésenchymateuses

Hypoxie

Métabolisme

Prolifération

Différenciation

Keywords:

Mesenchymal stem cells

Hypoxia

Metabolism

Multipotency

Proliferation

Differentiation

RÉSUMÉ

Par analogie avec les cellules souches hématopoïétiques (CSH), il est postulé mais non démontré formellement que les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse (CSMMO) sont situées au sein d'une niche stromale caractérisée par une faible pression partielle en O₂ (PpO₂). En faveur de cette hypothèse, il est démontré que les CSMMO sont parfaitement cultivables dans des conditions de PpO₂ de 1 à 8 % qui augmentent leur capacité de prolifération. Sachant que le faible nombre de CSMMO est limitant en thérapeutique pour produire des cellules différenciées, leur amplification en conditions « physiologiques » d'hypoxie pourrait être utile. Cette approche se traduit cependant par des effets sur le « transcriptome », sur le métabolisme et sur le potentiel de différenciation des CSMMO. Or l'utilisation de ces cellules est préconisée en thérapeutique pour leurs fonctions anti-inflammatoires vérifiées *in vitro* et *in vivo*, et à un moindre degré en médecine régénératrice pour la substitution tissulaire. Les effets potentiels de l'hypoxie sur les fonctions et les applications thérapeutiques des CSMMO sont discutés dans cette revue.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

ABSTRACT

As for hemopoietic stem cells, it is thought although not formally demonstrated that bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSC) reside in a specific microenvironment or niche characterized by a low O₂ tension. In support of this hypothesis is the observation that MSC can be amplified *in vitro* under 1–8% O₂ while retaining multipotent capacities. Culture in hypoxic condition may therefore be useful in therapy as the low number of MSC is a major limitation to their use in regenerative medicine and to a lesser extent in the treatment of some autoimmune and overt inflammatory diseases. However hypoxia may modify MSC with significant effects on their metabolism and gene expression hence modifications in their differentiation abilities to mature in specialized cells. This review discusses the various effects of hypoxia on the fate and behavior of MSC and potential clinical applications of culture under hypoxic conditions in regenerative medicine and immune/inflammatory disorders.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

1.1. Problèmes posés par l'origine et le mode de culture des cellules souches mésenchymateuses (CSM)

Les cellules souches mésenchymateuses originaires de moelle osseuse (CSMMO) ou bien d'autres tissus commencent à être utilisées en thérapeutique essentiellement comme suppresseurs

* Auteur correspondant.

Adresses e-mail : ali.dalloul@medecine.uhp-nancy.fr, a.dalloul@chu-nancy.fr (A. Dalloul).

d'une réaction immune ou inflammatoire excessive. Leur utilisation en médecine régénératrice est également envisageable, mais reste complexe à mettre en œuvre. En effet le mode de sélection et de culture de ces cellules affecte obligatoirement leur potentiel à se différencier en un lignage donné. La majorité des techniques de culture des CSMMO fait appel à une sélection progressive de ces cellules par adhérence sur plastique. Ces cellules forment alors des *colony forming unit-fibroblasts* (CFU-F) qui sont alors amplifiées jusqu'à confluence. Les CSMMO ainsi obtenues sont trypsinées et repiquées sur flasques pour un premier voire un deuxième ou troisième passage (P1–P3) et enfin conduites à maturation en un lignage donné au moyen de milieux sélectifs. À quel stade de culture doit-on transférer ces cellules dans un milieu sélectif ? En général ce choix est dicté par le nombre de cellules différenciées (ostéocytes, chondrocytes, adipocytes ou autres) que l'on souhaite obtenir. Sachant que le pourcentage de différenciation des CSMMO en l'un de ces lignages n'est pas – loin s'en faut – de 100 % [1], on a intérêt à amplifier ces CSMMO le plus possible au préalable. Cela suppose que les cellules subissent au moins deux passages successifs, soit une primoculture de trois semaines (P0) suivie d'une trypsinisation et d'une ou de deux nouvelles cultures (P1 et P2) de deux semaines chacune. Au bout de cinq à sept semaines, les CSMMO sont utilisables telles qu'elles en thérapeutique dans une optique anti-inflammatoire/immunosuppressive [2,3]. L'alternative est de les transformer en une monocouche de cellules spécialisées dans un but de médecine régénératrice. Elles sont alors cultivées dans un milieu spécifique d'un lignage donné pendant quatre à six semaines. On obtient alors une monocouche de cellules plus ou moins enrichies en cellules du lignage attendu. L'utilisation de ces cellules en médecine régénératrice pose alors les problèmes classiques de leur insertion au sein d'un tissu autologue : quelle technique chirurgicale ? Cellules isolées ou bien insérées dans une matrice tridimensionnelle ? Et les soucis inhérents à cette approche (matrice naturelle, artificielle). Autres problèmes et non des moindres : (1) la viabilité des cellules implantées, leur durée de vie écourtée in vivo due notamment au raccourcissement de leurs télomères par plusieurs cycles de multiplication en culture d'où un risque de sénescence, en effet les CSMMO auraient une activité télomérasique faible [4,5]. (2) Les anomalies caryotypiques éventuelles induites par la culture à long terme et potentiellement oncogéniques. Concernant ce dernier point, les anomalies caryotypiques observées in vitro aboutiraient à une sénescence plutôt qu'à une transformation, écartant ainsi le risque d'une transformation tumorale après injection ou transplantation dans un but thérapeutique [6]. (3) Enfin, la capacité fonctionnelle des cellules issues de CSMMO à mimer le tissu physiologique dans un but de médecine régénératrice. Ce dernier point est sans doute le plus complexe car il dépend de l'origine des cellules, du mode et de la durée de la culture et de l'âge du donneur.

À l'heure actuelle, les CSMMO peuvent être utilisées par voie injectable en perfusion à des fins immunosuppressives après trois à six semaines de culture [7]. Là aussi, la durée de culture est dictée par le nombre de cellules à injecter, soit 10^6 /kg de poids au minimum. Bien que les CSMMO aient montré leur caractère immunosuppresseur in vitro [8,9] et in vivo [7,10], on ne connaît pas l'effet de la durée de la culture sur cette efficacité. Dans un cas récent, il a été possible de reconstituer une bronche souche (allogénique) déplétée au préalable de ces cellules avec des CSMMO cultivées à partir de moelle osseuse de la patiente. La greffe de cette bronche reconstituée pour remplacer une bronche pulmonaire obturée atélectasique a été cliniquement efficace [11]. Dans ce cas, les CSMMO ont pu agir simplement par « remplissage fonctionnel », leur action anti-inflammatoire et leur capacité à se différencier n'étant pas nécessaires. La différenciation en particulier de ces CSMMO en chondrocytes in vivo n'a pas été démontrée dans le travail de cette équipe.

De même que la durée optimale de culture des CSMMO pour obtenir un effet biologique donné n'est pas claire, leur source optimale ne l'est pas davantage. Pour des raisons pratiques, les CSMMO les plus utilisées proviennent de la MO adulte, mais celles issues de sang de cordon placentaire (CSMC) sont de plus en plus étudiées [12]. Là aussi, on met en avant la plus grande capacité de prolifération de ces dernières, ainsi que leur plus grande multipotence, en comparaison des CSMMO.

En bref, le verrou actuel de l'utilisation de ces cellules est leur faible nombre de départ d'où un besoin d'amplification dont on ne connaît pas exactement les conséquences. Il est clair que l'adjonction d'un facteur de croissance (FGF, par exemple) a des effets sur la prolifération mais aussi sur la différenciation des CSMMO. Bien que le FGF-2 semble augmenter la prolifération des progéniteurs les plus pluripotents parmi les CSMMO en les maintenant indifférenciés pendant 50 doublings [13,14], il affecte certainement les différenciations ostéogénique et chondrogénique voire adipogénique physiologiques [13–15]. Contrairement au système hématopoïétique qui supplée rapidement à une déficience, que ce soit en globules rouges, en plaquettes ou en leucocytes par mise en jeu de cellules sanguines multipotentes ou oligopotentes, rien de tel n'est observé dans les tissus. Il est certes possible que les CSMMO suppléent à certains microtraumatismes au sein du muscle ou du cartilage mais cela n'est pas démontré in vivo. Il est également possible que les CSMMO gardent une certaine plasticité et une fois engagées dans un lignage donné, puissent se dédifférencier à nouveau en CSMMO, à condition que cet engagement ne soit pas trop avancé vers une différenciation terminale. Ainsi les CSMMO feraient preuve d'une plasticité génique contrastant radicalement sur ce point avec les CSH [1,16,17]. Ainsi le maintien du nombre de CSH peut s'expliquer par une division asymétrique (une CSH donnant son identique en même temps qu'une seconde cellule qui avance vers la maturation) ou bien par un mécanisme homéostatique par lequel le même nombre de CSH se diviseraient en deux cellules pluripotentes identiques ou bien en deux cellules engagées vers la voie de la maturation. En revanche, il est clair que les CSMMO peuvent proliférer en gardant leur caractère multipotent [1,16,17]. Un moyen de le vérifier est d'analyser la capacité de différenciation de ces cellules à différents temps de culture. De même, on peut vérifier que le transcriptome de ces cellules est stable et en particulier en ce qui concerne les transcrits des gènes de multipotence [1]. Cela implique que contrairement à la CSH qui est en phase G0 du cycle cellulaire, ce qui permet de la trier par sélection négative [18], la CSMMO puisse être en cycle.

1.2. La CSMMO est-elle en hypoxie in vivo ?

Il est maintenant établi que la cellule souche hématopoïétique (CSH) est localisée dans une niche histologique dans la cavité médullaire de l'os [19,20] près de l'endoste bordé par des ostéoblastes [21] et donc à distance du lit vasculaire. En réalité il existe probablement plusieurs niches contenant des cellules plus ou moins multipotentes, les plus différenciées étant au contact de l'endothélium vasculaire [22] et donc en pression partielle en O₂ (PpO₂) plus élevée, avec un gradient de PpO₂ allant de 1 % pour les CSH les plus primitives à 6 % pour les CS plus différenciées [23]. Le rôle de l'hypoxie dans le maintien du caractère multipotent des CSH est donc probable bien que non formellement démontré in vivo. L'hypoxie maintient à la fois les CSH en survie en les protégeant contre le stress oxydant [23,24] et permet leur multiplication à bas bruit et le maintien de leur multipotence [23–26]. En ce qui concerne la CSMMO, les hypothèses étaient le fruit d'extrapolations à partir de données obtenues avec les CSH, la récente démonstration d'une colocalisation entre CSH et CSM [27] implique que les CSMMO soient en condition d'hypoxie in vivo.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4136144>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4136144>

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