

[Stem cells, time for scale-up.]

Marc Peschanski

▶ **To cite this version:**

Marc Peschanski. [Stem cells, time for scale-up.]. Médecine/Sciences, 2008, 24 (4), pp.335-338. inserm-00275296

HAL Id: inserm-00275296
https://inserm.hal.science/inserm-00275296

Submitted on 1 Sep 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Cellules souches :

l'heure venue du changement d'échelle

Marc Peschanski

INSERM/UEVE U 861, I-STEM, AFM, Campus 1 Genopole, 5 rue Henri Desbruères, 91030 Evry cedex France mpeschanski@istem.genethon.fr www.istem.eu

Nous fêtons cette année le dixième anniversaire de la publication de la première lignée de cellules souches embryonnaires (ES) humaines[1] et il n'est pas vraiment nécessaire de souligner que l'intérêt suscité dans la communauté scientifique et médicale par ce résultat pionnier est loin d'être retombé. Bien sûr, les recherches visant à élucider les mécanismes fondamentaux de l'immortalité et de la pluripotence des cellules ES avaient débuté bien plus tôt, dès leur découverte en 1981 dans le blastocyste de souris[2] récemment récompensée par le Prix Nobel décerné à Martin Evans. Cependant, le passage à la cellule humaine, avec les enjeux thérapeutiques qu'il permettait d'évoquer, a été le signal d'un épanouissement considérable de ces recherches, dont l'obstacle principal a sans doute été ensuite la levée tardive dans de nombreux pays des interdictions légales qui pesaient sur l'accès aux cellules de l'embryon humain dit « surnuméraire » voué à la destruction après fécondation *in vitro*. On se souvient qu'il a fallu attendre en France la fin 2004 pour voir enfin levée – sur un mode dérogatoire – cette interdiction qui pesait depuis 1994 et avait donc fait prendre aux équipes de notre pays 7 ans de retard…

Les exemples foisonnent de résultats majeurs issus de ces recherches fondamentales, parmi lesquels on peut souligner par exemple l'identification du rôle de nombreuses molécules dans l'orientation des cellules souches pluripotentes vers les lignages les plus divers[3] ou la description des propriétés du cycle cellulaire qui sous-tendent leur immortalité[4]. Le résultat le plus emblématique de tout cet ensemble est sans nul doute aujourd'hui, du fait notamment de l'ouverture qu'il a récemment permis vers la reprogrammation de cellules adultes, l'identification de réseaux de gènes associés au maintien de la capacité d'auto-renouvellement, impliquant notamment les facteurs de transcription OCT4, SOX2 et NANOG[5]. C'est en effet grâce à ces nombreux travaux sur les cellules souches embryonnaires, stimulés par l'accès aux cellules ES humaines, que Shinya Yamanaka a élaboré les principes de la reprogrammation qui permet à des cellules différenciées de

recouvrer une capacité d'auto-renouvellement « *ES-like* » et la pluripotence, obtenant ainsi les maintenant fameuses cellules pluripotentes induites (*Induced Pluripotent Stem cells*, IPS) chez la souris[6] puis chez l'homme[7].

Autant que cette richesse – on pourrait presque dire cette exubérance – de la recherche fondamentale, c'est toutefois la vitesse avec laquelle cette connaissance ouvre à présent sur la maîtrise et l'exploitation des propriétés cardinales des cellules souches, l'immortalité et la pluripotence, qu'a mis en évidence le « *First International Symposium on Human Embryonic Stem Cell research* » que le réseau IngeCell du Pôle de Compétitivité Medicen Paris-Région vient d'organiser à Evry[*]. En aval des découvertes mécanistiques, c'est tout un monde de chercheurs des laboratoires académiques mais aussi, dans ce cas, de l'industrie qui s'est mis en branle pour transformer en outils les cellules jusque là regardées surtout comme des objets de recherche. Un des maître-mots de ce transfert est clairement le « changement d'échelle », terme conjugué par les laboratoires de toutes les façons possibles.

L'immortalité des cellules souches, embryonnaires ou IPS, donne bien sûr d'abord l'espoir d'un accès à une biomasse utile, quelle qu'en soit l'importance. Potentiellement, l'auto-renouvellement illimité des cellules souches embryonnaires, et celui vraisemblable des IPS dès lors qu'on l'aura démontré pleinement, sont les garants de sources inépuisables de cellules humaines non transformées. La réalisation de cette première promesse passe par la mise en œuvre de technologies appropriées, dont on a commencé d'identifier les principales contraintes. Parmi celles-ci, une des plus préoccupantes aujourd'hui est sans doute la possibilité d'une instabilité du programme génétique. Réaliser des expansions considérables à partir d'une cellule unique, au travers de repiquages successifs nécessitant des traitements agressifs de cellules adhérentes, expose à la sélection de cellules présentant des altérations génomiques procurant un avantage prolifératif[8]. A cette dérive doivent être opposées des mesures préventives et correctives appuyées sur des conditions de contrôle de la qualité des produits parfaitement adaptées. Autre contrainte, d'ordre technique celle-là, le plein bénéfice des capacités d'expansion des cellules souches embryonnaires ou IPS ne pourra être atteint qu'à condition que l'on quitte les limites étroites des flasques des laboratoires académiques pour passer aux outils industriels de la bioproduction. Des bioréacteurs rotatifs à faibles forces de cisaillement permettent déjà d'obtenir des amplifications conséquentes à partir d'agrégats de cellules peu différenciées (au stade dit des « corps embryoïdes »)[9]. Jusqu'à présent,

[*] Du 31 janvier au 2 février, réunissant plus de 400 participants des 5 continents autour de 30 orateurs parmi les meilleurs spécialistes mondiaux, grâce au soutien de Genopole, du Conseil Régional d'Ile de France, de l'Association Française contre les Myopathies, du PRES Universud, de l'INSERM et de l'institut I-STEM

toutefois, l'amplification en bioréacteur des cellules souches humaines à un stade d'indifférenciation complet – ce qui est nécessaire pour expandre les populations cellulaires lorsqu'elles sont encore immortelles – s'est heurtée à la difficulté de les maintenir en suspension. Cela n'est sans doute pas un obstacle rédhibitoire puisque la même difficulté a été surmontée récemment pour les cellules ES de souris[10].

La pluripotence est l'autre propriété cardinale des cellules souches embryonnaires et des IPS, qui ouvre potentiellement la voie à la production à volonté de n'importe quel phénotype cellulaire, dans n'importe quel lignage et à n'importe quel stade de différenciation. Les premiers protocoles solides de différenciation des cellules ES humaines ont été publiés il y a moins de 5 ans. Ils permettent aujourd'hui d'atteindre plus d'une vingtaine de phénotypes cellulaires aussi précis que celui, par exemple, des neurones dopaminergiques du mésencéphale[11]. Cependant, en dehors de quelques populations de précurseurs (cellules souches mésenchymateuses ou neurales notamment), il s'agit encore dans la plupart des cas d'un enrichissement des cultures et pas de l'obtention d'une population homogène. Il est possible pour certains phénotypes de réaliser secondairement des tris de populations minoritaires, mais le rendement final peut être faible.

La mise au point des protocoles de différenciation demeure donc un des principaux objectifs des laboratoires, mais les moyens utilisés pour les atteindre évoluent. On se fondait surtout, jusqu'à récemment, sur les données acquises par les biologistes du développement dans l'identification des molécules impliquées dans l'émergence des lignages cellulaires, ou celles mises en œuvre pour obtenir la différenciation des cellules ES de souris dont, au début des années 2000, on avait déjà obtenu plus d'une cinquantaine de phénotypes cellulaires différents[12]. Cependant, les « recettes de cuisine » que la nature utilise pour guider une cellule pluripotente vers un phénotype totalement spécifié parmi des centaines de possibilités sont loin d'être toutes connues. Elles ne sont par ailleurs pas forcément toutes reproductibles en laboratoire. Dans cette quête, l'imagination des chercheurs trouve aujourd'hui un appui de poids dans l'accès à des systèmes de dépôt robotisés et à des automates de culture. Ces technologies permettent en effet d'envisager la question non plus à partir d'études mécanistiques très pointues (« *hypothesis-driven* ») mais d'une façon beaucoup plus ouverte (« *resource-driven* ») en étudiant systématiquement les effets de cocktails de cytokines appliqués selon des matrices et des séquences aléatoires sur les cellules. La combinaison de ces moyens avec ceux que la chimie met à disposition, qu'il s'agisse des énormes banques de composés réunis par l'industrie pharmaceutique ou des polymères bio-compatibles utilisables comme substrats pour la croissance de cellules adhérentes, ouvre un catalogue de possibilités

encore bien plus considérable dont l'exploitation ne fait que débuter. Une fois acquis les nouveaux protocoles, encore faudra-t-il pouvoir les mettre en œuvre dans des conditions qui n'obligent pas à baisser l'échelle de la production en-dessous du niveau atteint grâce aux bioréacteurs. Une certaine industrialisation des *process*, utilisant notamment des plateformes robotisées, est là encore à l'ordre du jour.

Des cellules humaines produites en quantité illimitée, dans n'importe quel phénotype… mais pour faire quoi ? Paradoxalement, l'espoir thérapeutique qu'évoquent au premier chef les cellules souches – celui de la thérapie cellulaire que certains appellent, de façon ~~sans doute~~ inappropriée, de la médecine « régénérative » – est sans doute parmi les moins dépendants de ces bouleversements, si l'on met de côté l'utilité que présenterait une banque de lignées haplotypées couvrant l'essentiel des besoins de l'humanité[13]. Certes, ces thérapeutiques demandent une certaine quantité de cellules de phénotypes particuliers mais il y a sans doute plus besoin d'un gain en qualité (réalisation de lots cliniques, raffinement des protocoles de différenciation, tri cellulaire des populations d'intérêt) que d'un changement d'échelle, en tout cas lorsque l'on parle d'autre chose que de cellules sanguines. Les indications de la thérapie cellulaire fondée sur les cellules souches sont également relativement peu nombreuses, en tout cas telles qu'on les envisage – et même qu'on les rêve – aujourd'hui.

Le changement d'échelle dans la production de cellules souches humaines indifférenciées et dans leurs modes de différenciation a pour l'essentiel un tout autre objectif, celui de donner simplement à tous ceux qui en ont besoin des cellules humaines non pathologiques dans la quantité et le phénotype souhaité. On peut ajouter que l'on peut envisager de fournir des cellules humaines qui présentent même des caractéristiques génétiques choisies, grâce aux IPS et à certaines lignées ES, dérivées des embryons du diagnostic pré-implantatoire par exemple. Qui a besoin de telles cellules humaines non pathologiques, au patrimoine génétique en partie choisi ? eh bien tous ceux qui, faute de les avoir, doivent aujourd'hui travailler sur des modèles moins adaptés à leurs questions, cellules animales – voire animaux entiers lorsque des cellules ne sont pas accessibles –, cellules humaines transformées, ou cellules primaires provenant de prélèvements humains non reproductibles et difficiles à caractériser pleinement. Les cellules souches et leurs dérivées différenciées devraient ouvrir la voie, demain, à des analyses multi-paramétriques tout génome/tout protéome (métabolome, interactome, physiome…), à des banques de lignées présentant des expressions géniques spécifiques, modifiées de façon aléatoire par des transposons, à de la modélisation des pathologies associées à des maladies génétiques, monogéniques ou multifactorielles, mais aussi dans le cadre industriel à du criblage de

composés potentiellement thérapeutiques à haut débit, à de la bioproduction de protéines humaines, à la production de vaccins contre des virus spécifiques de l'espèce humaine… Les cellules souches embryonnaires et les IPS humaines apparaissent ainsi potentiellement, aujourd'hui, comme l'un des outils privilégiés de l'ère du post-génome. Etablir la liste de tout ce que cela recouvre serait difficile, et d'ailleurs une telle liste aurait toutes les chances d'être rapidement obsolète car – et le congrès d'Evry en était une illustration frappante – « l'imagination est au pouvoir » dans les laboratoires. Il est cependant intéressant de remarquer que ce changement d'échelle débouche inéluctablement sur un bouleversement dans le type d'acteurs engagés dans cette recherche, avec l'entrée en force de l'industrie, non pas celle des biotechs depuis toujours associées au domaine, mais bien des grands de l'industrie pharmaceutique et, derrière eux bientôt sans doute, de l'industrie cosmétique. Le *SC4SM* (*Stem Cells for Safer Medicines*) en est une des premières concrétisations. Récemment formé autour de l'Association Britannique de l'Industrie Pharmaceutique par Astra-Zeneca, Roche et Glaxo Smith-Kline, avec un ensemble de laboratoires académiques et de biotechs, ce consortium de recherche vise à créer les conditions d'une utilisation de cellules différenciées à partir de lignées ES humaines dans des études de toxicologie prédictive. A l'heure de la directive européenne REACH sur la responsabilité des industriels quant à la toxicité de leurs produits, et de l'arrêt des expérimentations animales dans l'industrie cosmétique, on peut sans doute parier que le succès d'un tel programme sonnerait l'heure d'un changement d'échelle encore plus déterminant pour la recherche sur les cellules souches humaines et leur exploitation que celui, pourtant déjà frappant, auquel nous assistons aujourd'hui.

[1] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998 ; 282 : 1145-7.

[2] Evans MJ, Kaufman MH.Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature 1981 ; 292 : 154-6.

[3] Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA.Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. Stem Cells 2001 ; 19 : 193-204.

[4] Burdon T, Smith A, Savatier P.Signalling, cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. Trends Cell Biol. 2002 ; 12 : 432-8.

[5] Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, Guenther MG, Kumar RM, Murray HL, Jenner RG, Gifford DK, Melton DA, Jaenisch R, Young RA.Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. Cell 2005 ; 122 : 947-56.

[6] Takahashi K, Yamanaka S.Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell. 2006 ; 126 : 663-76.

[7] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007 ; 131 : 861-72.

[8] Draper JS, Smith K, Gokhale P, Moore HD, Maltby E, Johnson J, Meisner L, Zwaka TP, Thomson JA, Andrews PW.Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells. Nat Biotechnol. 2004 ; 22 : 53-4.

[9] Gerecht-Nir S, Cohen S, Itskovitz-Eldor J. Bioreactor cultivation enhances the efficiency of human embryoid body (hEB) formation and differentiation. Biotechnol Bioeng. 2004 ; 86 : 493-502.

[10] Cormier JT, zur Nieden NI, Rancourt DE, Kallos MS. Expansion of undifferentiated murine embryonic stem cells as aggregates in suspension culture bioreactors. Tissue Eng. 2006 ; 12 : 3233-45.

[11] Perrier AL, Tabar V, Barberi T, Rubio ME, Bruses J, Topf N, Harrison NL, Studer L. Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 ; 101 : 12543-8.

[12] Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. Annu Rev Cell Dev Biol. 2001 ; 17 : 435-62.

[13] Taylor CJ, Bolton EM, Pocock S, Sharples LD, Pedersen RA, Bradley JA. Banking on human embryonic stem cells: estimating the number of donor cell lines needed for HLA matching. Lancet. 2005 ; 366 : 2019-25.