



Prométhée

Jeudi 3 octobre 2013

Muséum : 18 h

Les cellules souches
pour la médecine personnalisée de demain
espoirs ou illusions ?

Michel Monsigny

Membre titulaire de l'académie
Professeur des Universités émérite

1

Plan de l'exposé

1° Données fondamentales

Fécondation et développement embryonnaire

Cellule, Génome, Embryon, Différenciation cellulaire, cellules souches

2° Les cellules souches

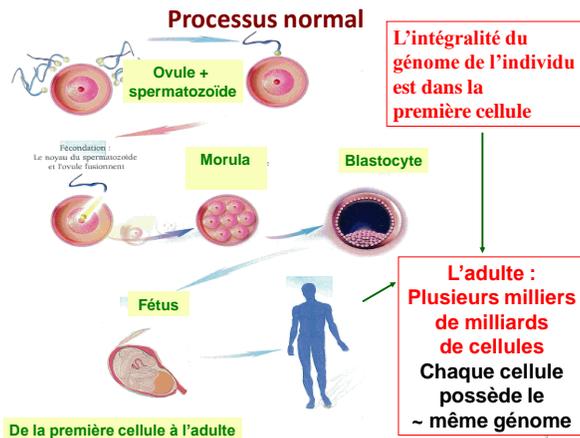
a) Embryonnaires b) adultes c) adultes induites : CSPi :
Une alternative ?

3° Aspects légal, réglementaire, éthique, religieux, sociétal.

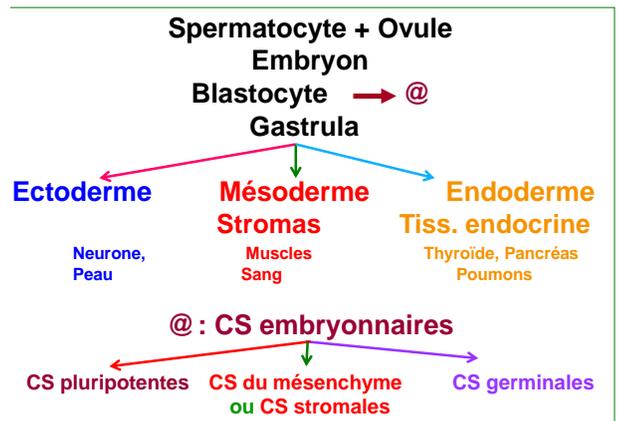
Avis du CCNE

Questionnement général

2



3



4

Espoir ou illusion ?

**Des cellules souches :
quelles cellules souches ?**

- 1° CSE : **Cellules souches embryonnaires**
 - 2° CSM : **Cellules souches adultes (mésenchyme)**
 - 3° iPSC : **Cellules souches adultes induites**
in vitro par - facteurs nucléaires - petites molécules
In vivo par des facteurs nucléaires
 - 4° CTD : **Cellules souches par transdifférenciation**
-
- 5° CSgm : **Cellules souches génétiquement modifiées**
 - 6° CSnt : **Cellules souches par transfert nucléaire**
(clonage thérapeutique)
 - 6° CSnr **Cellules souches par transfert nucléaire**
(clonage reproductif)

5

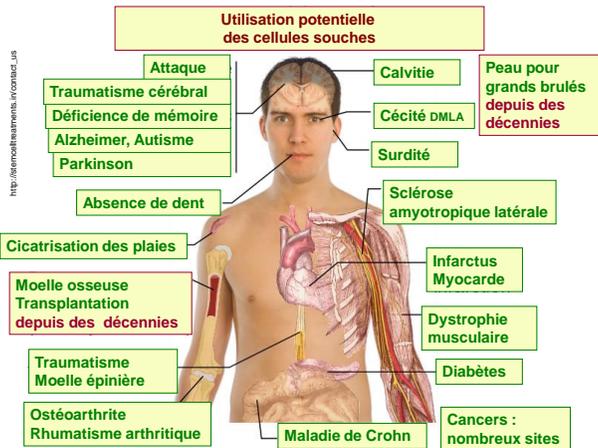
Espoir ou illusion ?

**Des cellules souches :
pour quoi faire ?**

Thérapie personnalisée réparatrice ou régénératrice

- ** Etude fondamentale des pathologies
- ** Mise au point de médicaments adaptés
- ** Thérapie cellulaire
- ** Thérapie génique cellulaire
- ** Thérapie par transfert de tissu
- ** Thérapie par transfert d'organe
- ** Jouvence
- ** *Mises en conserve*
- ** *Gamétogénèse in vitro*

6



Espoir ou illusion ?

1° Données fondamentales
Fécondation et développement embryonnaire
Cellule, Génome, Embryon, Différenciation cellulaire, cellules souches

2° Les cellules souches
 a) Embryonnaires b) adultes c) adultes induites : CSPI :
 Une alternative ?

3° Aspects légal, réglementaire, éthique, religieux, sociétal. Avis du CCNE

Questionnement général

8

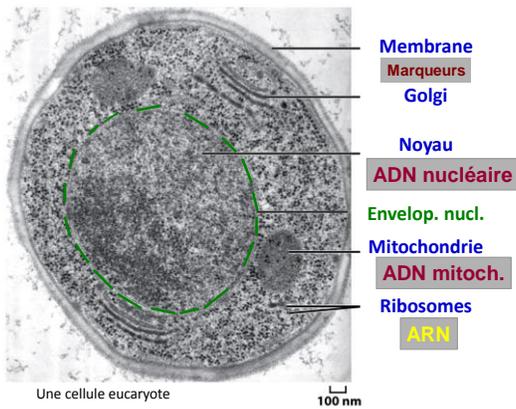


Figure 9-45 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

9

Le génome humain

Les acides nucléiques

22 paires de chromosomes + XX ou XY

4 nucléotides : A, T, C ou G

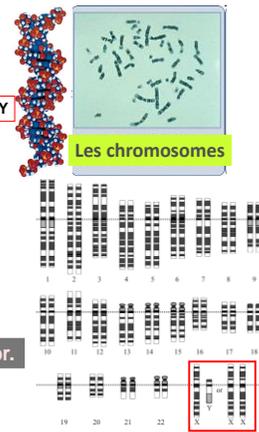
Paires AT et CG

Double hélice

Nombre de gènes : ~ 23 000

ADN → ARN → Protéines Hétéopr.

Protéines N : 100 000



10

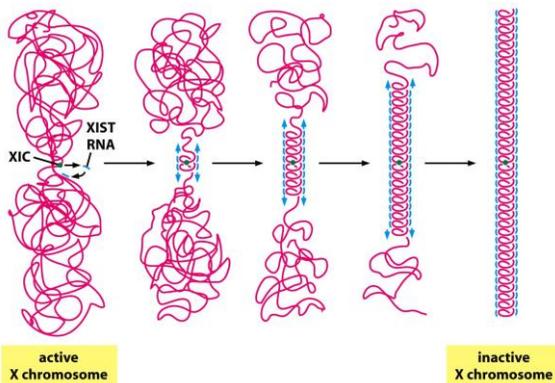
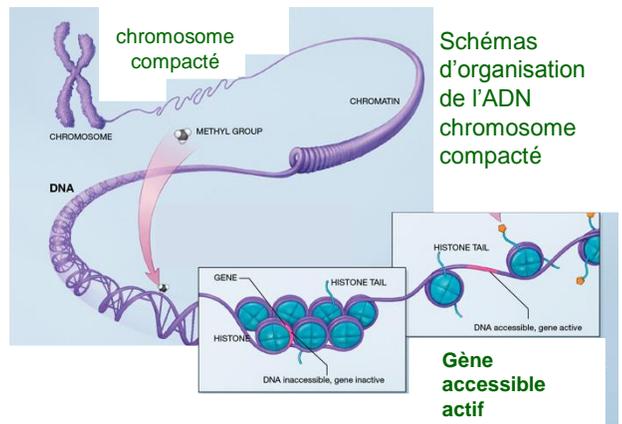
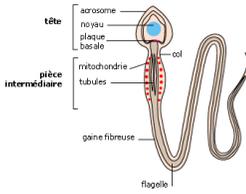


Figure 7-90 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

11



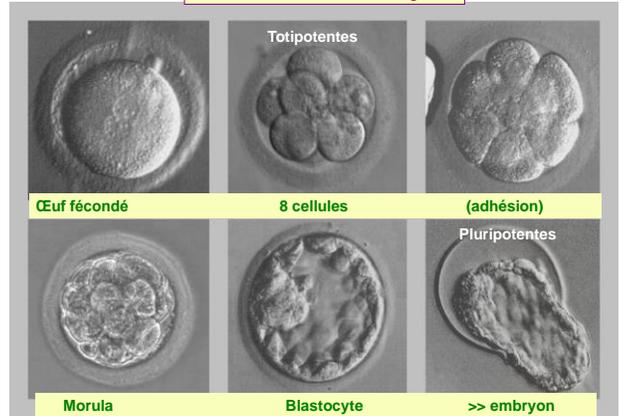
En amont
Les gamètes :
Spermatozoïdes
Ovocytes



ovocyte et spermatozoïdes humains

13

De l'œuf à l'embryon



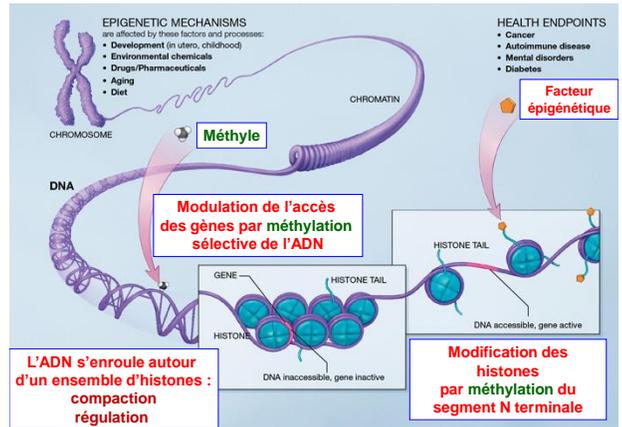
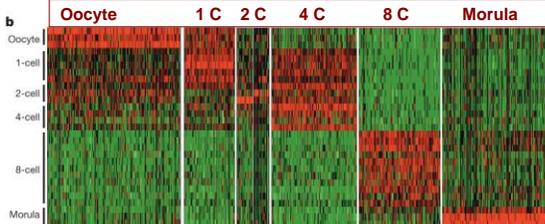
Espoir ou illusion ?

L'œuf primitif : 1 cellule à 2 n chromosomes
 → 220 types cellulaires ayant (presque) le même génome ?

Épigenèse

→ Modulation de l'expression des gènes

Exemple d'embryons humains



Mécanismes épigénétiques

16

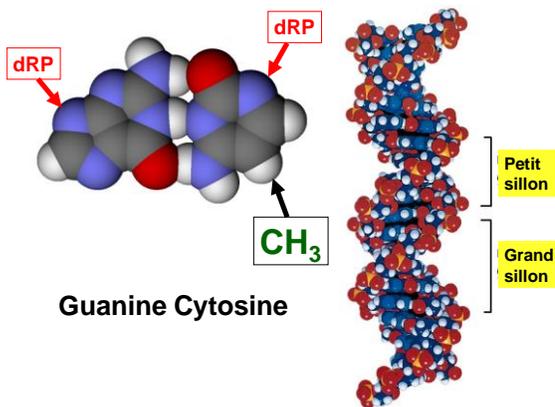


Figure 7-6 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

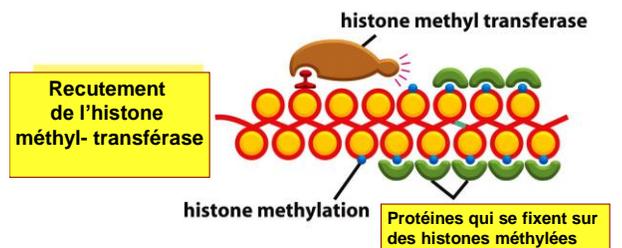


Figure 7-50f Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

18

Espoir ou illusion ?

1° Données fondamentales
 2° Les cellules souches

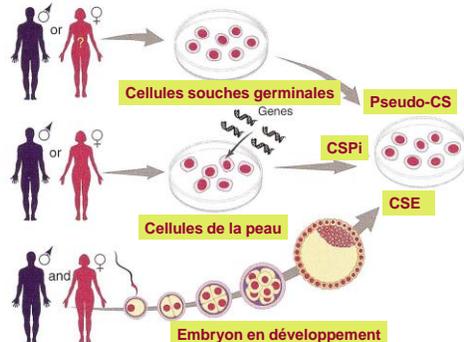
a) embryonnaires

- b) adultes
- c) adultes induites : CSPi :
 Une alternative ?
 Médecine régénérative

3° Aspects légal, réglementaire, éthique, religieux, sociétal.

19

Trois voies d'obtention de cellules embryonnaires



- 1 • Les cellules souches totipotentes
 œuf fécondé >> individu complet : tous les tissus humains
 (+ lignée germinale)
- 2 • Les cellules souches pluripotentes
 blastocyte : >> toutes cellules des 3 feuilletts embryonnaires
 ectoderme, mésoderme et endoderme
- 3 • Les cellules souches multipotentes
 auto-renouvellement
 >> plusieurs types de cellules différenciées
 Ex. : cellules hématopoïétiques
- 4 • Les cellules souches unipotentes
 >> 1 seul type cellulaire
 Ex : hépatocyte, neurone, ...

21

Espoir ou illusion ?

La différenciation cellulaire dépend

- * de la nature de la cellule (cellules engagées)
- * de l'état épigénétique
- * de l'environnement
- * de facteurs protéiques de différenciation

In situ (in vivo)

- * Cellules du sang, cellules immunes
- * Peau (derme)
- * Foie
- * Intestin
- * Vaisseaux sanguins : angiogénèse, régénération après coupure, etc. développement tumoral
- * etc.

In vitro (culture cellulaire)

Cellules souches adultes >> diverses cellules spécialisées²²

Cellules souches embryonnaires
 Facteurs de différenciation naturels

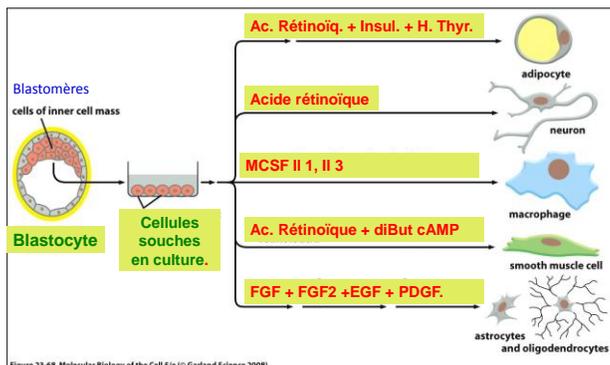
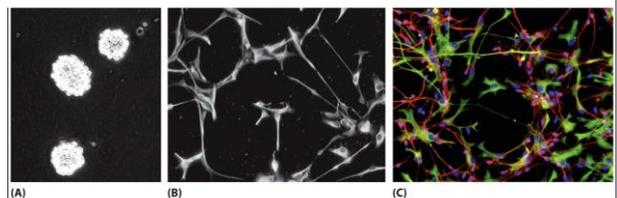


Figure 23-48 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Espoir ou illusion ?

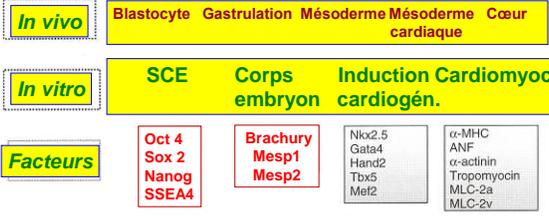
Des cellules souches embryonnaires aux cellules du cerveau
 >>> Neurones et cellules gliales (noyau)



SC → neurosphères → cellules souches neurales → Neurones et cellules gliales.

24

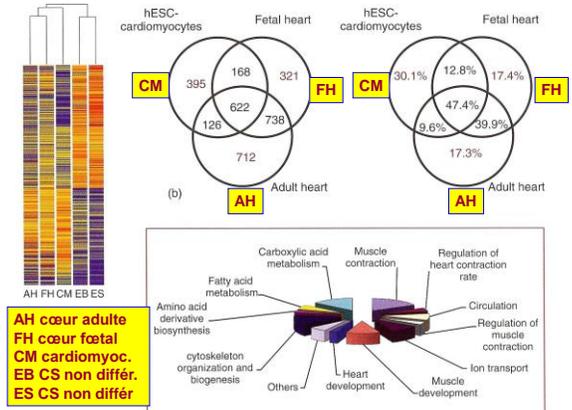
Les facteurs intrac. : ESC → Cœur



Facteurs utilisés aussi pour caractériser l'état de différenciation des cellules : marqueurs

25

Transcriptomes de cardiomyocytes



Espoir ou illusion ?

Cellules souches embryonnaires

2007
aux USA

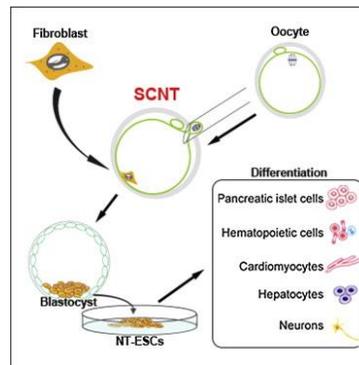
Des cellules souches embryonnaires humaines réparent le tissu cardiaque endommagé chez le rat

Chuck Murry, Michael Laflamme *et al.*

University of Washington, Seattle, US et coll. de Geron, Biotechnology Co, Menlo Park, Calif.

Espoir ou illusion ?

Le clonage thérapeutique humain en 2013



Cellules souches embryonnaires obtenues après transfert d'un noyau de cellule somatique dans un ovocyte

Tachibana Masahito, ... et Mitalipov Shoukhrat. Oregon Health and Science University in Portland. Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer. *Cell*. 2013 May 15.

28

Espoir ou illusion ?

Difficultés intrinsèques :

- * Obtention difficile des ovules
- * besoin de *milieux de culture* artificiels
- * besoin de cellules nourricières
- * difficultés du contrôle de la différenciation
- * problèmes d'instabilité génomique
- * problèmes épigénétiques

29

Espoir ou illusion ?

1° Données fondamentales

2° Les cellules souches

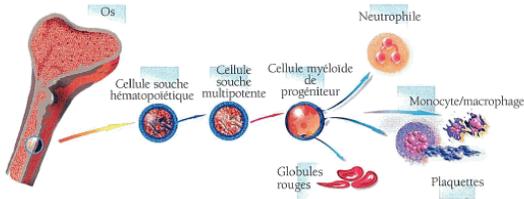
a) embryonnaires

b) adultes

c) adultes induites : CSPI : *Une alternative ?*
Médecine régénérative

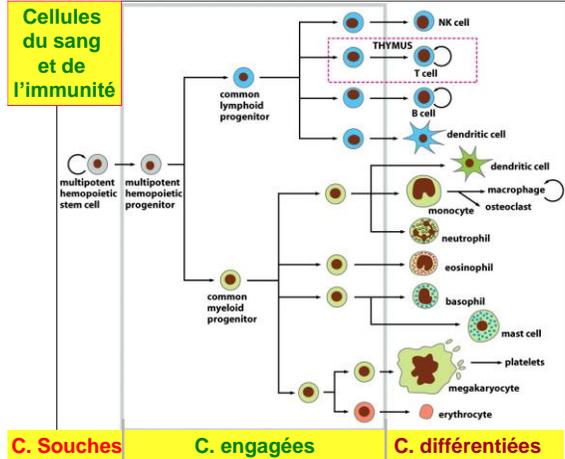
3° Aspects légal, réglementaire, éthique, religieux, sociétal.

La différenciation cellulaire hématopoïétique



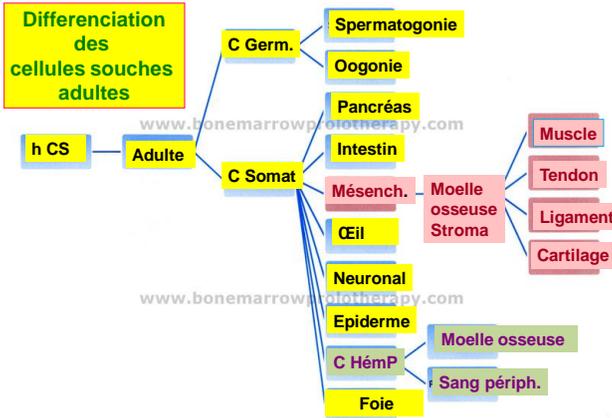
Processus normal de renouvellement des cellules du sang et des cellules du système immunitaire

31



C. Souches C. engagées C. différenciées

32



The Differentiation of Human Adult Stem Cells – Mesenchymal stem cells are already preprogrammed to differentiate into various musculoskeletal tissues including muscles, tendons, ligaments, and cartilage.

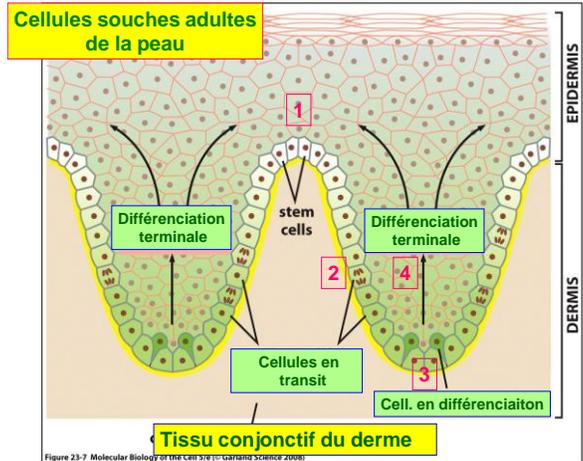
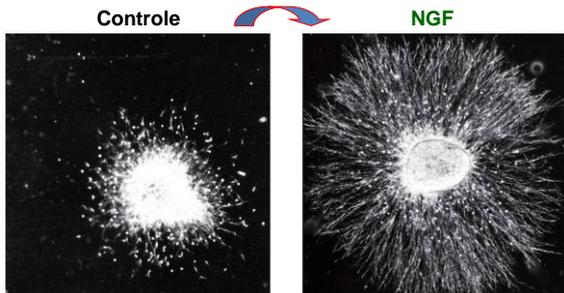


Figure 23-7 Molecular Biology of the Cell 5/e © Garland Science 2008

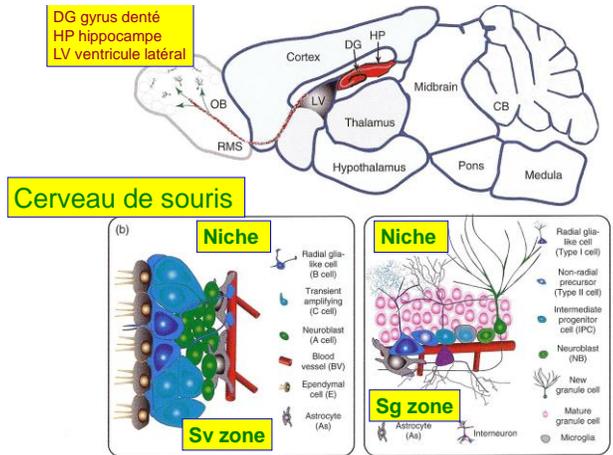
différenciation cellulaire neuronale



Facteur de différenciation Nerve growth factor Facteur de croissance des nerfs

Figure 22-103 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

35



Espoir ou illusion ?

1° Données fondamentales

2° Les cellules souches

a) Embryonnaires

b) adultes

c) adultes induites : CSPi

rétrovirus, adénovirus, ARN, transposons, protéines, médicaments
in vitro ou in vivo

3° Aspects légal, réglementaire, éthique, religieux, sociétal.

•Shinya Yamanaka*

Université de Kyoto, Japon,
2007 Cell, 131, 1-12

**** Retrovirus**

4 gènes : Oct 3/4, Sox2, c-Myc# and Klf4

Cellules pluripotentes

c-Myc : oncogène

**** Facteurs de transcription**

>>> activation d'autres gènes en série

38

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012
2009 Prix Lasker, 2012 Prix Nobel



"for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent"



Shinya Yamanaka
Kyoto, Japon

Sir John B. Gurdon
Cambridge GB

1950 ...

39

Cellules souches adultes induites

Cellules humaines

Méthodes

Gènes par rétrovirus 2007 Cell

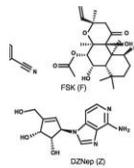
Protéines : Facteurs nucléaires

Transposons 2009 Nature

Sans laisser de trace dans les cellules

ARN interférants

Petites molécules 2013 Science (souris)



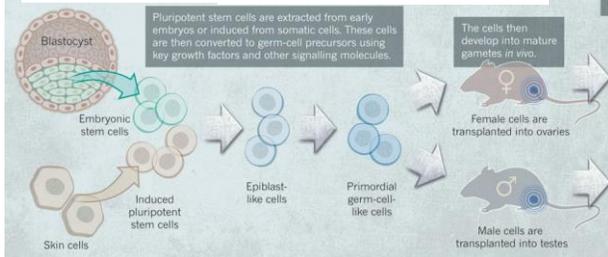
40

Espoir ou illusion ?

David Cyranoski
2013 Nature

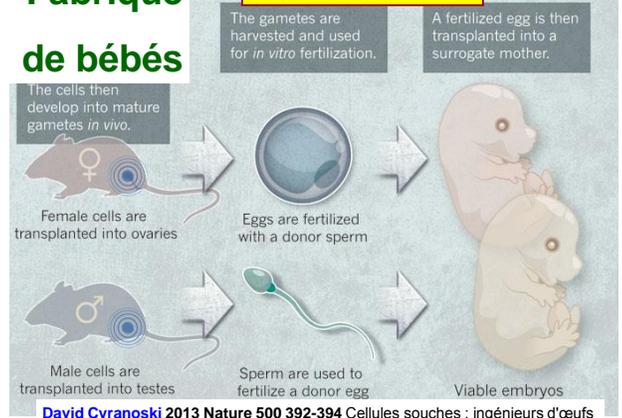
Fabrique de bébés

Des chercheurs japonais
Développement et production de spermatozoïdes et d'ovocytes in vitro
→ descendants.



Fabrique de bébés

Espoir ou illusion ?

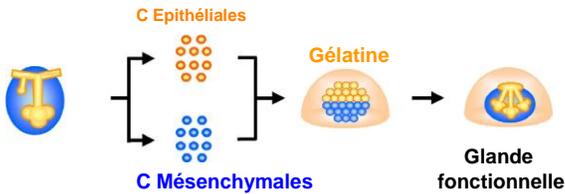


David Cyranoski 2013 Nature 500 392-394 Cellules souches : ingénieurs d'œufs

Espoir ou illusion ?

1 Oct 2013

Masatoshi Hirayama, ..., Takashi Tsuji TUS Tokyo



Functional lacrimal gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ

Nature DOI: 10.1038/ncomms3497

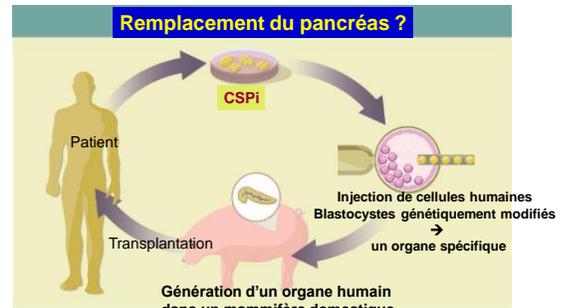
Functional salivary gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ

Nature DOI: 10.1038/ncomms3498

43

Espoir ou illusion ?

Des embryons chimériques



Hiromitsu Nakauchi
Japon puis Stanford

DENNIS NORMILE, SCIENCE VOL 340 28 JUNE 2013

44

Espoir ou illusion ?**TDC : transdifférenciation**

Conversion directe de lignées

Cellule A → Cellule B

par un facteur de transcription.

→ oligodendrocytes

J Najm et al., 2013 Nature Biotechn. 31, 426 - 433

→ C. oligodendrogliales

N Yang et al., 2013 Nature Biotechn. 31 - 434 - 439

45

Espoir ou illusion ?

1° Données fondamentales

2° Les cellules souches

Embryonnaires b) adultes c) adultes induites

3° Aspects légal, réglementaire, éthique, religieux, sociétal

Questionnement général

Loi n° 2011- 814 du 7 juillet 2011
Avis n° 112 d'octobre 2010 du CCNE CS emb. Hum.
Avis n° ? En 2014 du CCNE PMA GPA

46

Espoir ou illusion ?

Recherche en France

La loi de 1994

Études autorisées si

- finalités médicales
- avantage direct pour l'embryon : PMA

La loi du 6 août 2004

recherche autorisée par dérogation

La loi du 7 juillet 2011

recherche autorisée : dérogation de l'ABM

La loi du 6 août 2013

47

Espoir ou illusion ?

Loi n° 2013-715 du 6 août 2013

Principales dispositions du texte : Article unique :

Recherche sur l'embryon et les CS embryonnaires

Régime d'interdiction avec dérogations

→ un régime d'autorisation encadrée.

4 conditions cumulatives :

- pertinence scientifique,
- finalité médicale,
- absence de techniques alternatives
- respect des principes éthiques par le protocole

Interdiction : gestation
des embryons ayant déjà servi à la recherche.⁴⁸

Espoir ou illusion ?

Limitations techniques et questionnements éthiques, philosophiques, religieux

Les CSE et CStnt : nécessité d'un don d'œufs :

- * don lourd pour la femme donneur
- * risque d'exploitation de femmes pauvres
Cf. la gestation pour autrui
- * les embryons sont détruits

Les CSPi

- * difficile retour à un stade épigénétique équivalent à celui des cellules souches embryonnaires
- * risques de tératomes

49

Espoir ou illusion ?

Limitations techniques et questionnements éthiques, philosophiques, religieux

Les CTD

- * Ciblage extrêmement difficile
- * Faible efficacité
- * Manque de fiabilité, contrôle incertain

Les CStnt

- * risque de glissement
Thérapeutique → Reproductif (CS4r)

50

Espoir ou illusion ?

Tourisme

Chine
Mexique
Ukraine
Pologne
Thaïlande
Caraïbes
etc.



Credits: (Collage) N. Kevitiyagala/ *Science* 2009, 20 mars, 323, 1564
(Photo Credits): (Earth) Jupiterimages; (Plane) Istockphoto; (Stem Cells) Peter Arnold, Inc. /Alamy

51

Essais cliniques

Octobre 2013

Cellules souches :	4781
CS induites :	655
<i>D 71, Fr 47, It 45, Sp 32, CH 26, GB 20</i>	
CS mésenchyme :	354
<i>Sp 32, Fr 11, B 11, D 8, It 8</i>	
CS cordon ombilical :	232
<i>USA 149, Chine 55, Eu 10</i>	
CS embryonnaires :	27
<i>USA : 10, GB : 1, It : 2, Sp : 1</i>	
Maladies rares :	85
Maladie de Crohn :	35

<http://clinicaltrials.gov/>

52

Espoir ou illusion ?

- La décision du Royaume-Uni d'autoriser la technique de **remplacement mitochondrial est prématurée et mal conçue**, Marcy Darnovsky.

- *Marcy Darnovsky : executive director, the Center for Genetics and Society in Berkeley, California.*
2013 Nature 499, 127

Une pente glissante vers la modification de lignées germinales humaines

53

Espoir ou illusion ?

Conclusions :

Potentiel très élevé
Progrès spectaculaires depuis 10 ans
Thérapies cellulaire, tissulaire, ...
fabrication d'organe
Médecine personnalisée :
réparation, régénération, jeunesse

Difficultés
CS embryonnaires / CS adultes induites
Problèmes épigénétiques / Tératomes / Sénescence

Nécessité de recherche fondamentale, modèles animaux, essais cliniques

54