

Plasticité du phénotype cellulaire ou une certaine fin de l'insouciance du déterminisme

Hervé Chneiweiss

Laboratoire de Plasticité Gliale, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, UMR-S 894 / Inserm, Université Paris-Descartes, CHU Sainte Anne, 2 ter rue d'Alésia, 75014 Paris, France

Auteur correspondant : Hervé Chneiweiss, Herve.Chneiweiss@inserm.fr

Reçu le 23 décembre 2010

Résumé – Les conséquences tragiques des bombes atomiques lancées sur Hiroshima et Nagasaki en 1945 allaient conduire à la découverte des cellules souches hématopoïétiques et de leur plasticité phénotypique en réponse aux facteurs environnementaux. Ces notions furent beaucoup plus tard étendues aux cellules fondatrices d'autres types de tissus. Les mécanismes de cette plasticité, aux confins de la biologie du développement et de l'oncologie, seront illustrés dans cet ensemble d'articles à propos de cellules dérivées du lignage neural et de différentes tumeurs.

Mots clés : Cellules souches / plasticité phénotypique / transition épithélio-mésenchymateuse / cellules initiatrices de tumeur

Abstract – Plasticity of the cellular phenotype.

The tragical consequences of the Hiroshima and Nagasaki atomic bombs in 1945 were to lead to the discovery of hematopoietic stem cells and their phenotypic plasticity, in response to environmental factors. These concepts were much later extended to the founding cells of other tissues. In the following collection of articles, the mechanisms underlying this plasticity, at the frontiers of developmental biology and oncology, are illustrated in the case of various cell types of neural origin and of some tumours.

Key words: Stem cells / phenotypic plasticity / epithelio-mesenchymal transition / tumor initiating cells

Longtemps la biologie fut vécue comme une fatalité. Naissance et croissance, maturité puis vieillesse et son associée la sénescence formaient ce cercle de la vie animale du corps humain résumé par l'énigme du Sphinx : « quel animal va à quatre pattes le matin, deux pattes à midi et trois le soir ? » à laquelle répond (Edipe¹). Longtemps les résultats de la génétique permirent de représenter l'ADN comme un programme informatique, le développement d'un organisme correspondant à une suite organisée d'opérations linéaires. La découverte des cellules souches hématopoïétiques au cours des années 1950 vint d'abord illustrer ce déterminisme.

Paradoxe historique, c'est de la tragédie la plus emblématique de la nouvelle puissance humaine, les

¹ « C'est l'Homme qui va à quatre pattes au matin de sa vie, marche sur ses deux jambes à midi et s'aide d'une canne lorsqu'il est vieux ».

bombes atomiques lancées sur Hiroshima et Nagasaki, que résulte la découverte des cellules souches de la moelle osseuse qui sont les cellules d'origine du sang. La première question scientifique et médicale fut de comprendre comment et pourquoi les survivants d'Hiroshima, exposés à de faibles doses d'irradiations, développaient une anémie, c'est-à-dire une perte de la capacité de renouvellement des globules rouges, puis une leucémie quelques années plus tard correspondant à une prolifération maligne de cellules appartenant à la famille des globules blancs. Il fallut attendre 1955 pour que plusieurs chercheurs mettent en évidence la capacité de régénération sanguine après irradiation chez la souris si la précaution a été prise de protéger la rate. Ils découvrent qu'il est également possible de sauver l'animal avec une greffe de moelle osseuse, soit venant de la souris elle-même avant qu'elle ne soit irradiée, soit venant d'une souris syngénique.

La question devint dès lors de comprendre comment agissait la moelle greffée. Permettait-elle un apport de cellules fraîches renouvelant le stock de cellules détruites ou servait-elle à apporter des facteurs tels que des hormones stimulant la régénération naturelle du tissu? Les progrès en cytogénétique accomplis à cette époque, c'est-à-dire la capacité de reconnaître certains chromosomes, permirent de répondre à la question. L'expérience consista à greffer des souris femelles avec une moelle osseuse issue d'un mâle. Si le tissu de la souris irradiée régénèrait, le sang serait composé de cellules ayant deux chromosomes X. Au contraire, si c'étaient les cellules issues du greffon qui reconstituaient le sang de la souris greffée, les cellules sanguines porteraient un seul X et un Y. L'observation permit de démontrer que ce sont les cellules greffées qui survivent et colonisent leur hôte. La moelle osseuse contient donc des cellules capables de produire les différents cellules qui composent notre sang (globules rouges, globules blancs, plaquettes sanguines). Très rapidement plusieurs scientifiques observèrent que la moelle osseuse contient beaucoup de cellules aux caractéristiques diverses mais très peu capables de produire les éléments du sang. Il fallait donc caractériser le sous-groupe particulier à l'origine des éléments sanguins et répondre à de nombreuses questions fondamentales. Par exemple : la cellule d'origine des globules rouges est-elle la même que celle des globules blancs ou existe-t-il deux groupes de cellules souches distinctes? L'histoire moderne des cellules souches commence ainsi dans les années 1960, lorsqu'à la suite des travaux sur la moelle osseuse que nous venons d'évoquer, deux chercheurs canadiens, James Till et Ernest McCulloch, l'australien Don Metcalf et l'israélien Léo Sachs, démontrèrent que toutes les cellules du sang, globules rouges, globules blancs et plaquettes, proviennent d'une cellule unique, la *cellule souche hématopoïétique* (CSH), localisée essentiellement dans la moelle osseuse². Le terme « souche » s'inscrit ici clairement en référence à la métaphore de l'arbre, le tronc, ou la tige (« *stem* » en anglais étant utilisé comme équivalent de notre appellation « souche ») dont seront issues toutes les branches puis toutes les feuilles et les différents fruits. La cellule souche pouvait donner tous les éléments du sang, mais elle pouvait également s'auto-renouveler, la division asymétrique apportant un univers de questions nouvelles dont beaucoup sont encore d'actualité. Un autre questionnement encore actuel portait sur la capacité de donner des lignages cellulaires différents (globules rouges, globules blancs, plaquettes) à partir d'une seule cellule mais en des proportions ajustables aux besoins de l'organisme (hémorragies, réponse infec-

tieuse...). La plasticité du phénotype cellulaire et l'existence de facteurs influant et orientant cette plasticité devenaient dès lors évidentes. Les exposés de la séance du 10 mai 2010 ont illustré deux exemples de cette plasticité, avec la peau et les dérivés de la crête neurale. Michèle Martin a présenté la complexité et la multiplicité des niches de cellules souches dans cet organe si familier que nous en oublions son rôle vital : la peau, ce qui malheureusement ne pourra être rapporté dans ce volume. Elisabeth Dupin décrit les récentes avancées fascinantes d'une histoire sans cesse nouvelle et qu'elle développe depuis des années aux côtés de Nicole Le Douarin, celle des dérivés de la crête neurale, toujours plus riche au fur et à mesure que la précision des techniques définit de nouveaux territoires et sous-territoires à explorer. Ce sont ici maintenant des figures classiques de la multipotence et du rôle essentiel du micro-environnement dans l'orientation, épigénétique, du destin d'une cellule souche. De plus, les avancées des connaissances sur cette plasticité permettent aujourd'hui d'établir des modèles physiopathologiques de plusieurs maladies, au premier rang desquelles figure le cancer.

Aux confins de la biologie du développement et de l'oncologie, la transition épithélio-mésenchymateuse occupe aujourd'hui une place majeure et est au cœur de l'article de Stéphane Ansieau et Alain Puisieux. La transition épithélio-mésenchymateuse est un processus morphogénique embryonnaire permettant de convertir une cellule épithéliale en cellule mésenchymateuse. Réactivé au cours de la progression tumorale, ce mécanisme génère des cellules dotées de capacités de motilité et d'invasion, favorisant la dissémination métastatique de tumeurs d'origine épithéliale. Différents facteurs de transcription, impliqués dans son induction, en particulier les protéines TWIST, SNAIL et SLUG sont également capables d'inhiber les systèmes de sauvegarde (apoptose et sénescence), qui constituent *in vivo* une barrière à l'émergence de cellules dotées d'un potentiel prolifératif non contrôlé. L'échappement à ces mécanismes de sauvegarde favorise l'évolution d'une tumeur du stade bénin au stade malin, et peut dès lors jouer un rôle déterminant dans le développement de la tumeur primaire et sa dissémination métastatique.

Un autre thème alliant plasticité du phénotype cellulaire, biologie du développement et cancer résulte de la découverte, il y a maintenant près de 20 ans, de cellules tumorales très agressives et capables de générer une tumeur identique à la tumeur d'origine à partir d'une seule cellule : les cellules souches cancéreuses ou cellules initiateuses de tumeurs (*Tumor Initiating Cells* ou TIC). Le concept de TIC a été proposé à l'origine pour des leucémies. Ce modèle postule que les TICs partagent avec les cellules souches somatiques des molécules de surface communes, constituent une

² Chez la souris, le foie et la rate ont également des fonctions hématopoïétiques. Il en est de même au cours de la période fœtale chez l'Homme.

fraction très minoritaire de la population tumorale (1 % au plus), et suffisent à produire une tumeur dans toute sa diversité quand elles sont greffées chez la souris. Les TICs ont maintenant été isolées de plusieurs types de tumeurs solides allant des glioblastomes et des médulloblastomes aux cancers épithéliaux du sein, des poumons, du colon et de la prostate (Reya *et al.*, 2001; Al-Hajj *et al.*, 2003; Hemmati *et al.*, 2003; Patrawala *et al.*, 2006; O'Brien *et al.*, 2007).

Les gliomes (astrocytomes et oligodendrogliomes), qui constituent la majorité des tumeurs primitives du système nerveux central (Daumas-Duport *et al.*, 2000), ont historiquement été considérés comme une cancérisation des astrocytes et des oligodendrocytes. Plus récemment, les progéniteurs ou les cellules souches neurales ont été proposés comme cellules d'origine des gliomes en raison de la présence fréquente de cellules tumorales exprimant des marqueurs de neurones et de cellules gliales. Des gliomes expérimentaux peuvent être obtenus chez la souris après expression d'oncogènes dans les progéniteurs ou les cellules souches neurales, ce qui étaye cette hypothèse (Holland, 2001). Il faut cependant noter que des glioblastomes, la forme la plus agressive des gliomes, peuvent être obtenus également chez les souris après une manipulation génétique ciblant des cellules gliales matures. Permettant de réconcilier ces deux groupes de résultats, des facteurs de croissance surexprimés dès les premiers stades de développement des gliomes humains, induisent expérimentalement la conversion d'astrocytes matures en progéniteurs et cellules souches neurales (Sharif *et al.*, 2007). L'étude de biopsies de tumeurs cérébrales a récemment permis la caractérisation des TICs de gliomes (Singh *et al.*, 2003; Son *et al.*, 2009). Ils ont révélé une signature moléculaire « mésoenchymateuse » et la perte d'une signature pro-neurale au sein des groupes de patients souffrant de gliomes de mauvais pronostic (Chen *et al.*, 2010). Deux facteurs de transcription, C/EBPbeta et STAT3, semblent agir en synergie pour initier et réguler la transformation mésoenchymateuse (Carro *et al.*, 2010). Cette signature mésoenchymateuse est inattendue car indétectable dans le système nerveux central même au cours du développement. Dans les TICs, la signature mésoenchymateuse s'accompagne de l'expression de plusieurs marqueurs des cellules souches neurales et/ou embryonnaires et de l'expression de propriétés souches. Stéphane Ansieau généralisera ce concept de signature mésoenchymateuse pour les cellules capables de métastaser et il semble aujourd'hui au regard de nombreux travaux que cette signature mésoenchymateuse accompagne les TICs quelle que soit la tumeur considérée.

En dépit de ces progrès dans la caractérisation des TICs, le concept même de TIC reste fortement débattu pour les tumeurs solides. La fiabilité des xéno-

transplantations, au cœur de la définition des TICs des leucémies, a récemment été remise en question. Il n'est pas certain que les différences d'efficacité des prises de greffe témoignent du taux de TIC dans une tumeur. Elles peuvent aussi bien témoigner de différences dans la capacité des cellules à capter les signaux nécessaires à leur croissance dans un environnement étranger. De plus, l'expression de marqueurs souches par les TICs dépend du contexte dans lequel elles sont placées, des cellules « négatives » pouvant donner naissance à des cellules « positives » (Patru *et al.*, 2010). Il est donc essentiel de déterminer si les TICs forment réellement une population distincte de cellules ou si elles résultent d'un changement continu de phénotypes susceptible de prendre place dans n'importe quelle cellule des gliomes.

Les résultats qui sont présentés par Marie-Pierre Junier et Ariane Sharif sont en faveur du continuum dynamique. Nous avons montré qu'une instabilité du phénotype mature peut apparaître dans des astrocytes murins différenciés et peut participer aux premiers stades de la transformation tumorale. L'exposition à long terme des astrocytes au TGF α , un facteur de croissance qui forme avec son récepteur EGFR une des boucles trophiques les plus fréquemment dérégulées dans les gliomes, induit leur conversion progressive et fonctionnelle en progéniteurs neurales capables de donner naissance à des neurones (Sharif *et al.*, 2007). Cette conversion n'est pas suffisante pour induire leur transformation maligne mais nos travaux plus récents ont révélé que cette conversion forcée, en réponse à un seul changement de l'environnement, sensibilisait les astrocytes à une transformation maligne après un stress génotoxique, comme une irradiation (Dufour *et al.*, 2009). Déterminer si les TICs correspondent à l'acquisition d'un caractère souche/mésoenchymateux par les cellules tumorales et identifier les acteurs moléculaires de cette plasticité représente l'un des grands enjeux actuels de la cancérologie. Ces résultats seront importants pour permettre une nouvelle compréhension de la plasticité du phénotype des cellules tumorales, l'origine et la progression des cancers, mais devraient également permettre de concevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes.

Remerciements. Nous remercions le bureau de la Société de Biologie, et particulièrement Françoise Dieterlen et Claude Jacquemin, de nous avoir donné l'opportunité de discuter ces questions et en présenter quelques illustrations lors de la journée du 19 mai 2010.

Références

Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A., Morrison S.J., Clarke M.F., Prospective identification

- of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 3983–3988.
- Carro M.S., Lim W.K., Alvarez M.J., Bollo R.J., Zhao X., Snyder E.Y., Sulman E.P., Anne S.L., Doetsch F., Colman H., Lasorella A., Aldape K., Califano A., Iavarone A., The transcriptional network for mesenchymal transformation of brain tumours. *Nature*, 2010, 463, 318–325.
- Chen R., Nishimura M.C., Bumbaca S.M., Kharbanda S., Forrest W.F., Kasman I.M., Greve J.M., Soriano R.H., Gilmour L.L., Rivers C.S., Modrusan Z., Nacu S., Guerrero S., Edgar K.A., Wallin J.J., Lamszus K., Westphal M., Heim S., James C.D., Vandenberg S.R., Costello J.F., Moorefield S., Cowdrey C.J., Prados M., Phillips H.S., A hierarchy of self-renewing tumor-initiating cell types in glioblastoma. *Cancer Cell*, 2010, 17, 362–375.
- Daumas-Duport C., Beuvon F., Varlet P., Fallet-Bianco C., Gliomas: WHO and Sainte-Anne Hospital classifications. *Ann Pathol*, 2000, 20, 413–428.
- Dufour C., Cadusseau J., Varlet P., Surena A.L., De Faria G.P., Dias-Morais A., Auger N., Léonard N., Daudigeos E., Dantas-Barbosa C., Grill J., Lazar V., Dessen P., Vassal G., Prévot V., Sharif A., Chneiweiss H., Junier M.P., Astrocytes reverted to a neural progenitor-like state with transforming growth factor alpha are sensitized to cancerous transformation. *Stem Cells*, 2009, 27, 2373–2382.
- Hemmati H.D., Nakano I., Lazareff J.A., Masterman-Smith M., Geschwind D.H., Bronner-Fraser M., Kornblum H.I., Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 15178–15783.
- Holland E.C., Gliomagenesis: genetic alterations and mouse models. *Nat Rev Genet*, 2001, 2, 120–129.
- O'Brien C.A., Pollett A., Gallinger S., Dick J.E., A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 2007, 445, 106–110.
- Patrawala L., Calhoun T., Schneider-Broussard R., Li H., Bhatia B., Tang S., Reilly J.G., Chandra D., Zhou J., Claypool K., Coghlan L., Tang D.G., Highly purified CD44+ prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene*, 2006, 25, 1696–1708.
- Patru C., Romao L., Varlet P., Coulombel L., Raponi E., Cadusseau J., Renault-Mihara F., Thirant C., Léonard N., Berhneim A., Mihalescu-Maingot M., Haiech J., Bièche I., Moura-Neto V., Daumas-Duport C., Junier M.P., Chneiweiss H., CD133, CD15/SSEA-1, CD34 or side populations do not resume tumor-initiating properties of long-term cultured cancer stem cells from human malignant glio-neuronal tumors. *BMC Cancer*, 2010, 10, 66.
- Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F., Weissman I.L., Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 2001, 414, 105–111.
- Sharif A., Legendre P., Prévot V., Allet C., Romao L., Studler J.M., Chneiweiss H., Junier M.P., Transforming growth factor alpha promotes sequential conversion of mature astrocytes into neural progenitors and stem cells. *Oncogene*, 2007, 26, 2695–2706.
- Singh S.K., Clarke I.D., Terasaki M., Bonn V.E., Hawkins C., Squire J., Dirks P.B., Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*, 2003, 63, 5821–5828.
- Son M.J., Woolard K., Nam D.H., Lee J., Fine H.A., SSEA-1 is an enrichment marker for tumor-initiating cells in human glioblastoma. *Cell Stem Cell*, 2009, 4, 440–452.