

Actualités des cellules souches embryonnaires : efforts techniques pour un consensus éthique

Bernard Sauvezie

DANS **LAENNEC 2006/4 Tome 54** , PAGES 7 À 18

ÉDITIONS **CENTRE LAENNEC**

ISSN 1272-520X

DOI 10.3917/lae.064.0007

Date de mise en ligne : 01/01/2012

Article disponible en ligne à l'adresse

<https://stm.cairn.info/revue-laennec-2006-4-page-7?lang=fr>



Découvrir le sommaire de ce numéro, suivre la revue par email, s'abonner...
Scannez ce QR Code pour accéder à la page de ce numéro sur Cairn.info.



Distribution électronique Cairn.info pour Centre Laennec.

Vous avez l'autorisation de reproduire cet article dans les limites des conditions d'utilisation de Cairn.info ou, le cas échéant, des conditions générales de la licence souscrite par votre établissement. Détails et conditions sur [Cairn.info/copyright](http:// Cairn.info/copyright).

Sauf dispositions légales contraires, les usages numériques à des fins pédagogiques des présentes ressources sont soumises à l'autorisation de l'Éditeur ou, le cas échéant, de l'organisme de gestion collective habilité à cet effet. Il en est ainsi notamment en France avec le CFC qui est l'organisme agréé en la matière.



Recherche scientifique

Analyse

Bernard Sauvezie
Immunologiste

Actualités des cellules souches embryonnaires efforts techniques pour un consensus éthique

La recherche sur les cellules souches embryonnaires connaît un développement croissant qui lui vaut régulièrement la « une » de l'actualité – ainsi en a-t-il été, en juillet dernier, lors de la remise du rapport Fagniez au Premier Ministre. Face à la complexité des techniques, le non spécialiste trouve difficilement le recul nécessaire à la réflexion. Bernard Sauvezie () nous propose quelques clés de lecture pour mieux déchiffrer les enjeux éthiques d'une recherche en pleine évolution.*

(*)

L'auteur n'a jamais produit ni cultivé des cellules souches embryonnaires humaines. Il a l'expérience de la culture de cellules somatiques, particulièrement de celles du système immunitaire.

(1)

Cellule somatique : toute cellule de l'organisme à l'exception des cellules de la reproduction ; celles-ci, l'ovule et le spermatozoïde dont la fusion permet d'obtenir à terme un organisme complet, sont appelées cellules germinales.

(2)

Blastocyste : aussitôt après sa fécondation, l'ovule devenu œuf « unicellulaire » se divise et multiplie exponentiellement le nombre de ses cellules. Celles-ci forment une sphère creuse contenant sur sa paroi interne une masse de cellules très actives, le futur fœtus. Elles sont donc totipotentes, c'est-à-dire capables de donner naissance à des cellules de tous les types possibles rencontrés dans l'organisme à tous les stades de son évolution : elles constituent nos organes et nos tissus. Ce « bouton cellulaire » est prélevé dans le cadre du clonage, ce qui détruit habituellement l'œuf.

(3)

Hwang W.S., Ryu Y.J., Moon S.Y. *et al.* « Evidence of a pluripotent human embryonic cell line derived from a cloned blastocyst », *Science*, 2004, 303 : 1669-1674.

(4)

Hwang W.S., Roh S.I., Schatten G. *et al.* « Patient specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts », *Science*, 2005, 308 : 1777-1783.

(5)

Lee B.C., Kim M.K., Hwang W.S. *et al.* « Dogs cloned from adult somatic cells : two afgan pups could help to unravel the genetics behind the assorted traits of other canine breeds », *Nature*, 2005, 436 : 641.

(6)

Normile D., Vogel G., Couzin J. « South Korean team's remaining human stem cell claim demolished », *Science*, 2006, 311 : 156-157.

Le 19 octobre 2005, la Corée du Sud inaugurerait le chantier du plus grand centre mondial de cellules souches embryonnaires humaines. Ce centre devait être confié à Wan Suk Hwang, le champion du transfert nucléaire. Ce transfert, base du clonage reproductif, était aussi tenu pour indispensable au clonage thérapeutique.

En effet, pour que les cellules souches clonées ne soient pas rejetées par le malade qui les reçoit, elles doivent avoir strictement les mêmes gènes que lui.

Cet objectif est atteint en transférant un noyau nu de cellule somatique (1) du malade dans un ovule de donneuse préalablement énucléé. Ainsi « renucléé », l'ovule se multiplie et forme un embryon au stade initial, le blastocyste (2).

Transfert nucléaire : de l'euphorie au doute

W.S. Hwang revendiquait trois premières mondiales en dix-huit mois : première lignée de cellules souches humaines issue d'une seule donneuse, publiée le 12 mars 2004 (3) ; premières lignées dérivées de noyaux cellulaires somatiques de malades, chaque lignée étant parfaitement compatible avec son donneur de noyau, publiées le 12 juin 2005 (4) ; premier clonage reproductif chez le chien, publié le 25 août 2005 (5), cette réalisation étant la plus difficile des trois selon les spécialistes.

La réussite du clonage chez des personnes malades situait les chercheurs à deux doigts d'une application thérapeutique, la « médecine régénérative ». Celle-ci vise à restaurer tout organe lésé en injectant des cellules souches dans ou autour des lésions. Ces cellules souches peuvent alors se différencier en cellules neuves de l'organe.

En janvier 2006 ces espoirs s'effondraient. Une enquête, lancée d'abord sur des soupçons éthiques, établit que les résultats humains avaient été truqués, voire entièrement fabriqués (6). En revanche le clonage du chien était authentifié, ce succès témoignant à lui seul de ce que la réputation mondiale de W.S. Hwang n'était pas surfaite. Pour le clonage thérapeutique, il s'était probablement heurté à des particularités défavorables de notre espèce. D'ailleurs sa seule

rivale, l'écossaise Alison Murdoch, réussit à obtenir un blastocyste humain par transfert nucléaire (7) mais non à produire, à partir de ce blastocyste, des cellules souches viables. Mrs Murdoch n'avait pas eu de difficulté pour dériver des cellules souches à partir de blastocystes issus de fécondation *in vitro* (FIV) (8). Mais, faute de transfert de noyau, qui-conque en aurait été greffé les aurait rejetées.

Il n'existe donc aujourd'hui aucune preuve que le clonage par transfert nucléaire ait été réussi chez l'homme. Après l'euphorie provoquée par les résultats de W.S. Hwang, les doutes sur sa faisabilité réapparaissent. Comme ce clonage pose moins de problèmes techniques chez l'animal, singes exceptés, ses partisans prévoient qu'il sera malgré tout opérationnel dans les dix ans. Même si la prédiction est exacte, l'horizon éthique est changé. Fin 2005, ce clonage apparaissait encore comme la seule méthode permettant de mettre au point en quelques mois un traitement salvateur pour des malades en grand danger. L'échec de W.S. Hwang montre désormais qu'il n'existe pas de solution rapide. Le développement de sa méthode demandera un long délai. Des modifications ou des approches nouvelles sont envisageables pendant ce délai. Leurs promoteurs se rejoignent moins sur un consensus éthique que sur la nécessité de contourner deux obstacles à caractère financier : d'une part les restrictions éthiques à l'attribution de fonds pour la recherche-développement ; d'autre part les objections éthiques de « clients » futurs, au stade de la commercialisation des nouvelles méthodes (cf. encadré p. 10).

Nouvelles perspectives

Sept méthodes nouvelles sont réunies ici. Cinq gardent le principe du transfert nucléaire en visant un plus grand respect de l'éthique, en particulier des normes en vigueur aux États-Unis. Deux, qui paraissent plus prometteuses scientifiquement, innovent en créant directement des cellules souches de type embryonnaire à partir de cellules somatiques, et posent ainsi peu de problèmes éthiques.

(7)
Stojkovic M., Stojkovic P., Murdoch A. *et al.* « Derivation of a human blastocyst after heterologous nuclear transfer to donated oocytes », *Reprod Biomed Online*, 2005, 11 : 226-231.

(8)
Stojkovic M., Murdoch A., Strachan T. *et al.* « Derivation of human embryonic stem cells from day-8 blastocysts recovered after three-step *in vitro* culture », *Stem Cells*, 2004, 22 : 790-797.

Perspectives d'application médicale des cellules souches

Un très grand nombre de malades est susceptible de bénéficier des cellules souches de type embryonnaire. Celles-ci représentent le seul espoir de guérir vraiment certaines maladies handicapantes et/ou mortelles. Elles pourront remplacer les greffes, en élargissant en outre considérablement leur champ d'application. Injectables, elles donnent en effet accès à tout l'organisme sans qu'il soit nécessaire de pratiquer une chirurgie parfois délicate. Et surtout, elles constituent une ressource théoriquement inépuisable, alors que le don d'organes est et restera probablement très inférieur aux besoins. Enfin, quand les cellules souches résultent du transfert d'un noyau de cellule prélevé sur une personne malade dans un ovule énucléé, elles ne sont pas rejetables par le système immunitaire de ce malade, ce qui évite les complications du rejet et des traitements anti-rejet. Les enjeux financiers autour du transfert nucléaire sont donc immenses ; ils ont été évalués à trois milliards de dollars par an mondialement. Les limites à un succès commercial que l'on a cru tout proche ne tiendraient alors qu'aux réserves éthiques, celles des institutions et celles qui concernent les malades, réserves assez négligées jusque là.

Transfert de noyau : des méthodes nouvelles plus respectueuses de l'éthique ?

Le « bridage » génique du noyau

Le « bridage » génique (cf. encadré p. 11) du noyau somatique du malade, avant son transfert dans l'ovocyte énucléé d'une donneuse, a des partisans jusque dans le comité présidentiel d'éthique américain. L'un d'eux, W. Hurlbutt, suggère d'insérer un « bloqueur » du gène *Cdx2* dans le génome du noyau à transférer. La faisabilité du procédé chez la souris vient d'être confirmée par R. Jeanisch (9). Par ce blocage, le blastocyste qui résulte du transfert perd toute capacité d'implantation dans l'utérus, si il y était placé. Dès lors, incapable de se développer, ce blastocyste, au regard de nombreux éthiciens, ne serait pas potentiellement humain. Mais plusieurs difficultés persistent. L'insertion du « bloqueur » se fait parfois au hasard et dans un secteur du génome où

(9)

Meissner A., Jaenisch R.
« Generation of nuclear transfer pluripotent ES cells from cloned *Cdx2* deficient blastocysts », *Nature*, 2006, 439 : 212-215.

sa présence favoriserait ultérieurement une cancérisation. La suppression du blocage avant l'utilisation thérapeutique est possible, mais complique une technique déjà incertaine. Surtout, T. Pacholczyk, biologiste moléculaire et éthicien du Centre catholique national de bioéthique, de Philadelphie, fait remarquer qu'avant d'atteindre le stade implantatoire, l'embryon se comportera normalement. Selon lui, cette méthode consiste en fait à créer un embryon bien humain, mais très handicapé (10).

Gènes exprimés ou non exprimés

Le gène est souvent décrit comme un plan de montage d'une molécule protéique. Une cellule ne fait pas fonctionner toutes ses chaînes de montage à la fois, mais seulement celles de protéines utiles, selon le type de cellule et/ou selon les conditions du moment. Les gènes des protéines en cours de fabrication – appelée « synthèse » – sont dits « exprimés ». Les autres gènes, en sommeil, sont dits « non exprimés ». Il est maintenant possible de commander à volonté, ou bien le blocage de l'expression d'un gène donné – comme *Cdx2* – qui est donc « bridé », ou bien le déblocage d'un gène normalement en sommeil au stade considéré – comme *Nanog* – pour le surstimuler.

La « surstimulation » génique

La « surstimulation » génique du noyau à transférer est proposée par M. Grompe, de l'Université de Princeton. Il s'agit non plus de brider mais de surstimuler. Le gène *Nanog*, normalement inhibé au stade totipotent de blastocyste, ne s'active qu'au stade suivant, seulement pluripotent (11). Un noyau de cellule cutanée ainsi modifié, transféré dans une cellule delignée embryonnaire préalablement énucléée, donnerait directement des cellules souches pluripotentes sans passer par le stade blastocyste. Pour T. Pacholczyk, le noyau ainsi modifié est reprogrammé pour former uniquement des cellules pluripotentes, sans passer par le stade totipotent qui seul permet l'apparition d'un embryon. Ne créant pas d'embryon humain, la méthode ne relèverait pas des lois de bioéthique. La surstimulation augmenterait aussi le rendement du transfert de noyau.

(10)

Cf. Vogel G. « Cell biology. Ready or not? Human ES cells head toward the clinic », *Science*, 308, 2005 : 1534.

Si accessible, voir aussi : Pacholczyk T., Hurlbut W.B. *Natnl Cathol Bioeth*, Q 5, 2005 : 17 ; et Pacholczyk T. *Natnl Cathol Bioeth*, Q 5, 2005 : 446.

(11)

Le stade qui suit celui de blastocyste dans le développement initial de l'embryon est plus complexe. Il contient des cellules désormais réparties en trois couches, chaque couche étant destinée à produire certains organes et certains seulement. Ces cellules ont donc perdu leur totipotence absolue. Elles sont cependant capables de donner naissance à des cellules diverses, générant les divers organes pour lesquels elles sont programmées. Pour cette raison, elles sont dites « pluripotentes ».

Le prélèvement limité à une seule cellule

Ce type de prélèvement, réputé ne pas détruire l'embryon, est étudié par R. Lanza et son équipe (12). Il s'agit de prélever, chez la souris, une seule cellule d'un ovocyte fécondé *in vitro* à sa troisième division (embryon de huit cellules). Ce geste est proche d'une procédure couramment utilisée dans les centres cliniques de fécondation *in vitro* pour le diagnostic génétique pré-implantatoire. Cette unique cellule, multipliée en culture, forme un blastocyste. Celui-ci fournit ensuite des cellules souches embryonnaires, sans menacer la capacité des sept cellules restantes de produire à terme un souriceau. Mais J. Gearhart observe que si l'unique cellule prélevée donne ainsi un blastocyste, elle pourrait aussi bien donner un souriceau si l'on ne déviait pas son développement. L'absence de destruction d'embryon ne serait donc qu'apparente. Surtout, J. Gearhart affirme que le prélèvement fait courir un risque – minime, mais certain – à l'embryon ; une donneuse en cours de FIV devrait alors, en cas d'échec de la grossesse, subir d'autres cycles de fécondation *in vitro*. Or ceux-ci ne sont pas anodins. Venant du responsable, non suspect de conservatisme (13), d'un des meilleurs départements de gynécologie américains, ce point est à prendre en considération.

Le prélèvement sur embryons « biologiquement morts »

Cette approche a été proposée dans le très sérieux *Journal of Clinical Investigations* (14). Les auteurs, deux médecins, définissent la « vie » chez l'embryon aux premiers stades comme la capacité de ses cellules de se multiplier de manière harmonieuse, organisée, intégrée. Ils notent qu'aux États-Unis, un tiers à deux tiers des embryons issus de fécondation *in vitro* perdent cette capacité et sont éliminés par les cliniques de FIV. S'inspirant du principe de la mort cérébrale appliqué en matière de don d'organe, les auteurs suggèrent que l'observation, pendant 48h ou plus, de l'absence de division d'embryons décongelés mis en culture en vue de leur implantation permettrait d'affirmer cette « mort biologique » – donc autoriserait des prélèvements. Certes, cette mort résulte le plus souvent de grosses anomalies chromosomiques – aneuploïdie (15) – mais la plupart de ces embryons gardent quelques cellules normales. La dérivation de blastocystes puis de tissus normaux n'est donc pas impossible, même si elle s'avère plus difficile.

(12)
Chung Y., Klimanskaya I., Lanza R. *et al.* « Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres », *Nature*, 2006, 439 : 216-219.

(13)
Il créa des embryons humains pour la recherche fin 2000, huit mois avant la loi Bush interdisant ce procédé – ce que l'on pouvait prévoir.

(14)
Landry D.W., Zucher H.A. « Embryonic death and the creation of human embryonic stem cells », *J Clin Invest*, 2004, 114 : 1184-1186.

(15)
Aneuploïdie : anomalie du nombre des chromosomes d'une cellule, qui la rend souvent non viable. Le doublement du nombre normal de paires de chromosomes augmente quatre fois le nombre de chromosomes, d'où le nom de « tétraploïdie ».

Là où la fécondation *in vitro* est autorisée, cette proposition serait également acceptable, car elle suit le précédent bien admis de la mort cérébrale pour légitimer le don d'organe. Curieusement, elle n'a pas eu à ce jour beaucoup d'échos.

La dédifférenciation par fusion cellulaire

La dédifférenciation par fusion cellulaire a permis à J.A. Thomson, auteur du travail princeps de 1998 (16), de rapporter en octobre 2005 la reprogrammation de cellules dites précurseurs hématopoïétiques des trois lignées sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes). Ces cellules précurseurs sont partiellement différenciées. J.A. Thomson obtint leur dédifférenciation totale en cellules souches pluripotentes, donc de type embryonnaire (17).

Pour ce faire, il opéra une fusion cellulaire entre les précurseurs et des cellules souches embryonnaires humaines fraîches. Des cellules hybrides résultant de cette fusion – il s'agissait donc de cellules précurseurs à deux noyaux, un noyau de cellule précurseur et un noyau de cellule embryonnaire – n'exprimèrent plus les marqueurs sanguins et fabriquèrent des marqueurs de cellule souche embryonnaire. Elles se montrèrent capables de former des corps embryoides avec expression des gènes caractéristiques de chacune des trois couches embryonnaires (18). Cet effet est sûrement provoqué par des facteurs solubles qui diffusent à l'intérieur de la cellule binucléée. Cependant, de telles cellules hybrides contiennent inévitablement quatre jeux de chromosomes, donc le double de la normale. Cette anomalie grossière (tétraploïdie), qu'on sait parfois cancérigène, interdit pour l'instant leur emploi thérapeutique. Au plan éthique, il faudrait aussi démontrer que des cellules souches anciennes, les seules pleinement autorisées aux États-Unis et dans d'autres pays, gardent le même potentiel que les cellules souches fraîches utilisées dans ce travail.

Dédifférenciation-redifférenciation : des méthodes prometteuses et dénuées de problèmes éthiques

La dédifférenciation-redifférenciation est le processus quasi-miraculeux par lequel les amphibiens (et les poissons téléostes) régénèrent une partie de leur organisme après son amputation. Des cellules de la peau migrent dans la plaie, s'y

(16)

Thomson J.A., Itskovitz-Eldor, Shapiro S. S. *et al.* « Embryonic stem cell lines derived from human blastocyst », *Science*, 1998, 282 : 1145-1147.

(17)

Yu J., Vodyanik M.A., Thomson J.A. *et al.* « Human embryonic stem cells reprogram myeloid precursors following cell-cell fusion », *Stem cells*, 2006, 24 : 168-176.

(18)

Des trois couches de l'embryon initial, l'ectoderme (externe) produira les cellules du système nerveux, de la peau, des cheveux, etc. ; le mésoderme (en dessous), produira les cellules du squelette, des muscles, des vaisseaux, etc. ; enfin, l'endoderme (interne), produira les cellules de certaines glandes, celles du tube digestif et celles d'autres organes.

dédifférencient, prolifèrent et se redifférencient en cellules de tissus manquants. Des indices montraient déjà que la mise en œuvre d'un tel processus n'est pas un rêve impossible chez l'homme (19).

Tout récemment, une équipe de biochimistes d'Oslo est allée plus loin en réalisant une reprogrammation cellulaire par des extraits de cellules indifférenciées (20). Ce travail n'utilise pas la fusion cellulaire et en évite les inconvénients. Il permet d'espérer l'identification des facteurs solubles « reprogrammants » et, à terme, leur complète maîtrise.

Extraits dédifférenciant provenant de cellules souches embryonnaires chez la souris

Les auteurs utilisèrent d'abord (21) une lignée cellulaire dérivée du tissu conjonctif (fibroblastes), donc totalement différenciée. Ils perméabilisèrent temporairement les membranes cellulaires externe et interne (celle du noyau) par un enzyme. Ils cultivèrent les cellules perméabilisées avec des extraits cellulaires totaux (de noyau et de cytoplasme) provenant, soit de cellules souches embryonnaires de souris, soit de cellules de la lignée différenciée elle-même. Ces dernières furent sans effet. Par contre, l'extrait embryonnaire transforma les fibroblastes perméabilisés : habituellement fuselés, ils devinrent arrondis. Des nodules embryoides surnagèrent. D'autres cellules restaient en fuseau. Cette transformation suggérait une dé-différenciation, confirmée par la constatation d'un changement d'expression des marqueurs cellulaires. Leur profil initial de cellule différenciée devint un profil de cellule souche, donc non-différenciée, avec acquisition notamment de l'expression d'*Oct4*, absent des fibroblastes, et perte de *Lamin A* dont ils étaient riches. Les auteurs prouvèrent aussi la synthèse de phosphatase placentaire par les nodules embryoides, parallèle à l'effondrement de celle de la *Lamin A*. Ils prouvèrent enfin que l'induction du processus est active et sélective, car seule la destruction des protéines de l'extrait dédifférenciant fit disparaître son effet. Le mécanisme de cette dédifférenciation est en cours d'étude. On sait déjà qu'il n'est pas simple, même en se limitant à *Oct4*.

Ce stade de la recherche n'est pas éloigné des applications thérapeutiques. Issus de la peau, les fibroblastes sont faciles à prélever chez un malade et peuvent ensuite être aisément

(19)

Brockes J.P., Kumar A.
« Appendage regeneration in adult vertebrates and implication for regenerative medicine », *Science*, 2005, 310 : 1919-1923.

(20)

Taranger C.K., Noer A., Collas P. *et al.* « Induction of dedifferentiation, genome-wide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells », *Mol. Biol. Cell*, 2005, 16 : 5719-5785.

Travail préalable chez la souris disponible sur internet.

(21)

Ibidem.

multipliés à l'infini en culture. Le recours à des lignées de cellules embryonnaires anciennes, autorisé aux États-Unis et dans d'autres pays, éviterait la constitution [puis la destruction] de centaines d'embryons humains. Cependant, des réserves éthiques et techniques persistent avec l'interdit de toute instrumentalisation de l'embryon humain et la dérive génique possible des lignées autorisées, au fur et à mesure de leur vieillissement.

Extrait dédifférenciant d'origine humaine non embryonnaire

Cette partie du travail, menée avec des cellules humaines (22), me semble dépasser tous les travaux précédents par sa qualité et sa portée scientifiques.

Les auteurs ont employé comme source de cellules dédifférenciantes une lignée dérivée en 1988 d'un tératocarcinome humain (23). De telles tumeurs peuvent contenir un mélange de cellules pluripotentes de l'une ou l'autre des trois couches embryonnaires et des cellules souches indifférenciées totipotentes, ce qui était le cas ici. Pour avoir des cellules différenciées, les auteurs recoururent à une lignée épithéliale (24) commerciale, dérivée il y a plus de vingt ans de rein fœtal humain. Cette lignée exprimait les marqueurs de différenciation épithéliale et des marqueurs de fonction rénale, dont le récepteur pour le peptide natriurétique atrial (25). Pour éliminer l'hypothèse que des facteurs dédifférenciants proviennent de l'état cancérisé et non de l'état dédifférencié du tératocarcinome, les auteurs testèrent en parallèle une lignée cancéreuse différenciée lymphocytaire, dite Jurkat. Celle-ci a été dérivée il y a plus de trente ans d'une tumeur à lymphocytes de la sous-population différenciée dont la maturation dépend du thymus.

La méthode d'étude fut semblable à celle employée chez la souris, mais l'exploration de la redifférenciation fut plus poussée. Comme précédemment, des modifications de morphologie cellulaire et des variations d'expression (26), notamment d'*Oct4* et de *Lamin A*, furent observées avec l'extrait de tératocarcinome. L'extrait de la lignée rénale différenciée elle-même et celui de la lignée tumorale différenciée Jurkat furent inopérants. La variation d'expression génique induite par l'extrait actif put être quantifiée.

(22)

Ibid.

(23)

Les tératomes résultent de la prolifération spontanée et anarchique de cellules germinales. Souvent localisés hors de l'appareil reproducteur, ils contiennent un mélange de tissus embryonnaires divers (muscle, peau, etc.) formant même des dents et des poils. Ils peuvent se cancériser en tératocarcinomes.

(24)

Les épithéliums sont des tissus minces mais étendus. Certains recouvrent nos organes (peau...), d'autres en tapissent l'intérieur (muqueuses respiratoires, digestives...). D'autres fonctionnent dans des organes sécrétants.

(25)

Des peptides natriurétiques contrôlent le passage du sodium du sang dans l'urine. Ils sont produits par le rein, le cœur – dont deux cavités furent appelées *atrium* (entrée) – et d'autres organes.

(26)

Cf. p. 11, encadré « Gènes exprimés ou non exprimés ».

Cinquante-sept gènes furent étudiés parmi les 5 500 dont l'expression diffère, en plus ou en moins, entre le tératocarcinome producteur de l'extrait différenciant et sa cible, la lignée épithéliale rénale différenciée. Dans les deux mois suivant le traitement par l'extrait, on observa en culture de nombreuses modifications d'expression génique. Celles évoquées ci-dessous illustrent la complexité [bien orchestrée] du processus de dédifférenciation de l'épithélium :

- perte d'expression (27) de gènes de différenciation – immédiate pour le récepteur du peptide natriurétique et rapide pour la *Lamin A* ;
- acquisition de l'expression de marqueurs (cf. encadré p. 17) embryonnaires, germinaux (28) ou de cellules souches – rapide pour *Dkkptof*, progressive sur quatre semaines pour *Oct4* et pour les gènes qu'il contrôle; rapide pour le facteur de croissance des cellules souches, progressive pour les phosphatases alcalines placentaires et l'inhibiteur des leucémies... etc.
- acquisition généralement progressive sur huit semaines de l'expression de marqueurs de différenciation de type multi-tissulaire, présents dans le tératome mais absents avant traitement dans la lignée épithéliale. Ils recouvrent un large éventail : musculaire, adipeux, osseux, cartilagineux et nerveux, avec des cinétiques variées.

Après traitement, le profil génique des cellules différenciées devint donc peu à peu superposable à celui du tératocarcinome qui fournit l'extrait dédifférenciant.

Restait à prouver que les cellules différenciées d'origine rénale pouvaient, après dédifférenciation, se redifférencier complètement en cellules non-rénales. Avant cela, elles devaient être capables d'une première redifférenciation en cellules de plusieurs des trois couches embryonnaires. Les auteurs les cultivèrent vingt et un jours sur milieux spéciaux. Selon leur composition, ces milieux permirent la formation de cellules grasses, de cellules de l'os, de cellules des vaisseaux – trois types cellulaires dérivés de la couche mésodermique – ainsi que de cellules nerveuses qui sont, elles, d'origine ectodermique. La possibilité de générer des cellules dépendant de deux couches embryon-

(27)
Ibidem.

(28)
Cf. note (2).

Profil de marqueurs cellulaires

Toutes les cellules de mon organisme ont exactement la même liste de gènes (génomés). Ce répertoire génique ne peut donc servir à distinguer mes cellules les unes des autres, par exemples mes cellules musculaires de mes cellules nerveuses. Pour cela, il faut détecter parmi elles les cellules qui fabriquent un groupe (profil) de protéines diverses caractéristiques du système musculaire et celles qui fabriquent un autre groupe (autre profil) de protéines diverses caractéristiques du système nerveux. Ces protéines dont la fabrication est caractéristique sont respectivement des « marqueurs » musculaires ou des « marqueurs » nerveux. D'autres gènes s'expriment seulement à un stade du développement, par exemple chez l'embryon, et servent de marqueurs du stade embryonnaire. Enfin, certains « témoins » d'une fabrication caractéristique ne sont pas protéiques mais faits d'ARN.

naires différentes prouve la pluripotence des cellules redifférenciées.

L'extrait actif provenant de cellules cancéreuses, l'expression de gènes de cancérisation et celle de gènes qui en protègent fut évaluée. Aucune modification des uns ou des autres ne fut détectée.

Ce travail devra être validé par sa reproduction dans d'autres laboratoires, bien que les créances scientifiques de l'équipe dans ce domaine soient excellentes et que le succès de la fusion cellulaire par Thompson étaye déjà partiellement cette découverte norvégienne.

Conclusion

Quoique sans doute temporaire, l'échec retentissant du clonage thérapeutique par transfert de noyau qui monopolisait les énergies et les financements a remis en lumière les méthodes alternatives. Les cellules souches somatiques qui proviennent du malade à traiter lui-même ne posent aucun problème aux éthiciens. Leur avis favorable n'a pourtant pas

suffi aux décideurs institutionnels et financiers. Elles ont été peu développées. Des millions de dollars ont été consacrés au transfert nucléaire, certains exportés vers des pays permisifs comme la Corée du Sud, d'autres permettant de fonder des sociétés commerciales aux États-Unis et ailleurs.

Mais une troisième voie apparaît, qui abandonne le transfert nucléaire au profit de la reprogrammation de cellules somatiques du malade en cellules souches de type embryonnaires, sans formation d'embryon. Une telle méthode offre l'avantage de ne pas susciter de réserve éthique; elle permettra en outre de mieux comprendre le mécanisme de différenciation des cellules qui ont formé nos organes (organogénèse). Enfin, la dé-différenciation de cellules faciles à prélever (peau, etc.), leur multiplication en culture puis leur nouvelle différenciation en cellules de tout autre organe à réparer devient sérieusement envisageable.

● **Bernard Sauvezie**
mai 2006 (**)

(**)

Depuis la complétion de ce manuscrit, la presse scientifique s'est fait l'écho de travaux qui confirment l'intérêt de l'approche de C.K. Taranger, P. Collas *et al*, notamment *Science* dans son numéro du 7 juillet 2006, p. 27.