

Le monoxyde d'azote dans l'hématopoïèse

NO dit-il oui aux cellules souches hématopoïétiques ?

Fawzia Louache

Inserm U790, Institut Gustave Roussy,
Pavillon de recherche 1,
39, rue Camille Desmoulins,
94805 Villejuif, France.
fawl@igr.fr

> La formation des cellules du sang commence chez l'embryon dans le sac vitellin. Cette hématopoïèse est transitoire (on la dit « primitive ») et est relayée par la prolifération et la différenciation de cellules souches hématopoïétiques (CSH) dites « définitives » émergeant dans la paroi ventrale de l'aorte dans une région comprenant l'aorte, les gonades et le mésonéphros, appelée AGM. Ces cellules vont ensuite coloniser le foie fœtal, le thymus, la rate et la moelle osseuse où elles s'installent de manière définitive chez l'adulte [1]. Les mécanismes qui contrôlent les étapes clés du développement des CSH (détermination, migration et domiciliation séquentielle) restent à définir mais on sait depuis longtemps que la majeure partie de ces étapes a lieu en interaction étroite avec l'endothélium bordant les vaisseaux sanguins. Comment ces interactions et la proximité des vaisseaux sanguins contrôlent elles la biologie des CSH vient enfin de trouver des éléments de réponse grâce aux travaux de deux groupes. Ces travaux publiés récemment dans *Cell* [2] et *Nature* [3] montrent, dans deux modèles différents et par des stratégies très élégantes, que le flux sanguin et les forces biomécaniques créées par les premiers battements cardiaques jouent un rôle déterminant dans l'émergence de l'hématopoïèse définitive chez l'embryon.

Le flux sanguin est initié chez l'embryon quand le cœur commence à battre [4]. En plus d'assurer le transport des éléments nutritifs et l'oxygénation des tissus, le flux sanguin génère diver-

ses forces hémodynamiques dont on connaît depuis quelques années l'impact sur l'organogenèse et plus particulièrement sur le développement du système cardiovasculaire [5, 15]. Il faut maintenant ajouter les CSH à la liste des types cellulaires et tissus dont le développement est régulé par les forces hémodynamiques.

« De battre mon cœur... »

Se basant sur la conservation fonctionnelle de l'AGM du poisson à l'homme, l'équipe de Leonard I. Zon [2] a testé les effets de plus de 2 400 petites molécules chimiques issues de trois chimiothèques différentes sur l'induction de l'hématopoïèse dans l'AGM dans le modèle des embryons de poisson zèbre [16]. Le développement rapide et extratérin des embryons et la facilité des analyses phénotypiques due à leur transparence optique font en effet de ce modèle un outil fabuleux pour le criblage à grande échelle de molécules bioactives [6]. Ce criblage montre que les composés qui induisent la dilatation des vaisseaux et augmentent le flux sanguin induisent une augmentation du nombre de cellules coexprimant les gènes *Runx1* et *Cmyb*, caractéristiques de CSH. Inversement, les composés vasoconstricteurs entraînent une diminution de cette expression, indiquant que le flux sanguin et le tonus vasculaire régulent positivement la formation des cellules souches hématopoïétiques dans l'AGM. En accord avec cette hypothèse, le nombre de cellules coexprimant *Runx1* et *Cmyb* est diminué chez les embryons de poisson zèbre ren-

due incapables de battements cardiaques. Ces résultats sont cohérents avec le fait que la mise en place de la circulation et l'émergence de l'hématopoïèse sont des événements étroitement liés.

La deuxième équipe [3] est partie de résultats déjà publiés dans le modèle des embryons de poissons zèbre qui montraient le rôle essentiel des forces hémodynamiques dans l'organogenèse [5]. L'équipe a donc testé *in vitro* l'hypothèse d'une régulation de l'hématopoïèse par les forces biomécaniques en exposant des cellules souches embryonnaires de souris à des forces de cisaillement contrôlées. Des forces de cisaillement comparables à celles qui peuvent être mesurées le long de l'aorte dorsale chez l'embryon de souris à 10,5 jours de gestation entraînent une augmentation de l'expression des marqueurs de l'hématopoïèse (*Runx1* et *Myb*) et de la fréquence des progéniteurs hématopoïétiques dans les cultures. La pertinence de ces observations a été vérifiée chez des embryons de souris incapables d'initier les battements cardiaques en raison de l'inactivation du gène *Ncx1* (transporteur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$). Comme dans le modèle des embryons de poisson zèbre, les embryons dépourvus de circulation sanguine ont une diminution de l'expression de *Runx1* et un nombre réduit de précurseurs hématopoïétiques. La stimulation biomécanique des cellules mutantes permet de restaurer l'expression de *Runx1* et l'activité hématopoïétique. Ces résultats suggèrent que des forces mécaniques appropriées sont nécessaires au développement de l'hématopoïèse dans l'AGM.



La part belle au NO, molécule de l'année

Comment les forces hémodynamiques générées par le flux sanguin et les agents régulant la vasodilatation et la vasoconstriction artérielle contrôlent-elles le nombre de CSH au cours du développement ? Au début des années 1990, trois groupes ont montré que l'activité capable de réguler le tonus vasculaire, activité alors connue sous le nom de *endothelium-derived relaxing factor*, est le monoxyde d'azote (NO) [7, 8]. NO ou monoxyde d'azote est un gaz produit naturellement dans l'organisme à partir de L-Arginine et d'oxygène par trois enzymes distinctes dites NO synthases (NOS) [9]. Depuis ces découvertes majeures couronnées par l'attribution à Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro et Ferid Murad du prix Nobel de physiologie et de médecine en 1998 [10], le monoxyde d'azote s'est révélé être aussi un facteur de signalisation fascinant capable de réguler directement de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques. Compte tenu du rôle de NO dans la régulation du tonus vasculaire, les deux équipes de L. Zon [2] et G. Daley [3] ont donc cherché l'implication de ce gaz dans l'émergence de l'hématopoïèse. Les conclusions de leurs expériences sont sans ambiguïté : l'inhibition de la production de NO bloque l'induction de l'hématopoïèse par le flux sanguin tandis que l'addition de NO stimule la formation des CSH à la fois chez le poisson zèbre et chez la souris. Chez le poisson zèbre, la formation des CSH dans l'AGM coïncide avec les premiers battements cardiaques et la mise en place de la circulation. L'addition de NO dans ce modèle suffit à induire l'expression de *Runx1* même en l'absence de battements cardiaques. Ces résultats montrent que l'apparition des CSH dans l'AGM et le foie fœtal n'est pas simplement le reflet de la migration par voie hématogène des précurseurs issus des tissus extraembryonnaires. En revanche, ils plaident pour l'hypothèse d'un rôle actif et direct de la circulation dans la production des CSH. La mise en place de la circulation et les forces mécaniques qui y sont associées généreraient des signaux capables de réguler l'émergence de l'hématopoïèse au niveau de l'endothélium vasculaire embryonnaire. Ayant montré que le monoxyde d'azote est le médiateur de la stimulation de l'hématopoïèse

par le flux sanguin, le groupe de Leonard I Zon va plus loin et montre que la NOS endothéliale (NOS3) est exprimée dans les CSH de l'AGM et dans l'endothélium bordant l'aorte dorsale. Son invalidation chez la souris entraîne une diminution des précurseurs hématopoïétiques dans l'AGM. Pour le poisson zèbre chez lequel il n'existe pas de séquence génomique correspondant à NOS3, c'est l'invalidation de la NOS neuronale (NOS1) qui provoque la diminution de l'expression de *Runx1* et du développement des CSH.

L'histoire n'est pas finie

Au total, ces deux études démontrent le rôle crucial du monoxyde d'azote dans le développement du système hématopoïétique. La stimulation de la production de NO par le flux sanguin et les conséquences de cette production sont observées aussi bien chez le poisson zèbre que dans le modèle murin montrant encore une fois à quel point les modes de régulation d'hématopoïèse sont conservés au cours de l'évolution des vertébrés. La découverte des fonctions biologiques du monoxyde d'azote fut une grande surprise dans les années 1980 [11]. Cette molécule fut décrétée molécule de l'année par le journal *Science* en 1992 [12]. En 2009, NO confirme sa position en tête de liste des molécules majeures contrôlant de nombreux processus biologiques. Au niveau des CSH, les effets de NO restent à éclaircir. Le monoxyde d'azote est produit de manière constitutive par les cellules du microenvironnement médullaire et plus particulièrement par l'endothélium vasculaire. Le fait qu'une partie des CSH adultes soit domiciliée dans les niches vasculaires de la moelle osseuse laisse présager des effets majeurs de NO. Des travaux le confirment d'ores et déjà : il intervient dans la capacité des cellules stromales de soutenir l'hématopoïèse suggérant un rôle dans les propriétés à long terme des CSH adultes [13], et nous avons montré que c'est un régulateur puissant de l'expression de CXCR4 dans les progéniteurs hématopoïétiques humains CD34⁺ [14]. CXCR4 joue un rôle

majeur dans le *homing*, la domiciliation et la prolifération des CSH. Sa régulation positive par le monoxyde d'azote suggère une possible stratégie de modulation de la migration des CSH dans des protocoles de greffe des CSH. Cet effet sur la migration pourrait s'ajouter à une action potentielle sur l'induction de l'hématopoïèse dans les cellules souches embryonnaires ouvrant ainsi de nouvelles possibilités thérapeutiques. ♦

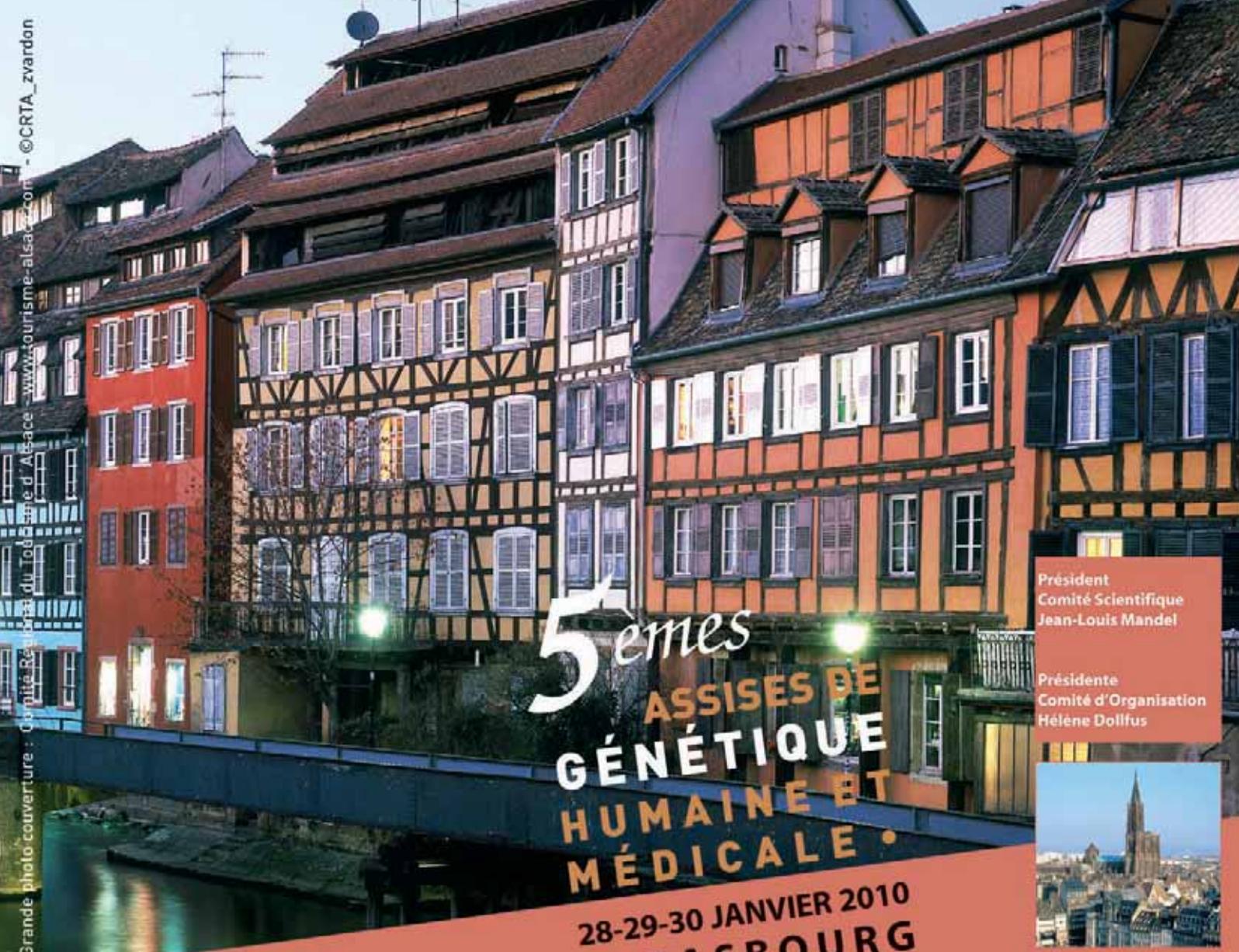
Nitric oxid controls hematopoietic stem cell emergence through hemodynamic forces

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Cumano A, Godin I. Ontogeny of the hematopoietic system. *Annu Rev Immunol* 2007 ; 25 : 745-85.
- North TE, Goessling W, Peeters M, et al. Hematopoietic stem cell development is dependent on blood flow. *Cell* 2009 ; 137 : 736-48.
- Adamo L, Naveiras O, Wenzel PL, et al. Biomechanical forces promote embryonic haematopoiesis. *Nature* 2009 ; 459 : 1131-5.
- Lucitti JL, Jones EA, Huang C, et al. Vascular remodeling of the mouse yolk sac requires hemodynamic force. *Development* 2007 ; 134 : 3317-26.
- Hove JR, Koster RW, Forouhar AS, et al. Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis. *Nature* 2003 ; 421 : 172-7.
- White RM, Sessa A, Burke C, et al. Transparent adult zebrafish as a tool for *in vivo* transplantation analysis. *Cell Stem Cell* 2008 ; 2 : 183-9.
- Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999 ; 92 : 164-9.
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987 ; 327 : 524-6.
- Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988 ; 333 : 664-6.
- Dinh Xuan AT. Prix Nobel de médecine 1998, Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro, Ferid Murad, Nobel 98 : la part belle au NO. *Med Sci (Paris)* 1998 ; 14 : 1297-9.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980 ; 288 : 373-6.
- Koshland DE Jr. The molecule of the year. *Science* 1992 ; 258 : 1861.
- Krasnov P, Michurina T, Packer MA, et al. Neuronal nitric oxide synthase contributes to the regulation of hematopoiesis. *Mol Med* 2008 ; 14 : 141-9.
- Zhang Y, Wittner M, Bouamar H, et al. Identification of CXCR4 as a new nitric oxide-regulated gene in human CD34⁺ cells. *Stem Cells* 2007 ; 25 : 211-9.
- Bajolle F, Zaffran S. Le débit cardiaque, acteur majeur de la morphogénèse asymétrique des arcs aortiques. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 354-6.
- Kissa K, Murayama E, Herbolom P. Le danois zébré révèle l'odyssée des précurseurs hématopoïétiques au cours du développement des embryons de vertébrés. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 698-700.

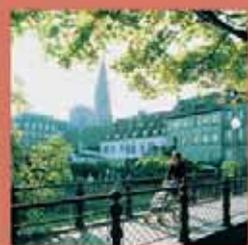


5^{èmes} ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

28-29-30 JANVIER 2010
STRASBOURG
PALAIS DES CONGRÈS

Président
Comité Scientifique
Jean-Louis Mandel

Présidente
Comité d'Organisation
Hélène Dollfus



DATES IMPORTANTES

- Soumission des résumés avant le 30 septembre 2009, minuit
- Inscription à tarif préférentiel avant le 01/12/2009

SÉANCES PLÉNIÈRES :

- PROJET GÉNOME HUMAIN : QUELS IMPACTS ? • MÉCANISMES GÉNÉTIQUES • THÉRAPEUTIQUE DES MALADIES GÉNÉTIQUES

SÉANCES PARALLÈLES :

- Maladies monogéniques - de la clinique aux gènes ; Cytogénétique constitutionnelle et maladies génomiques
- Maladies complexes et pharmaco-génétique ; Fœtopathologie
- Prénatal : DPN, DPI ; Prise en charge des maladies génétiques : du conseil génétique au traitement
- Anomalies du développement et syndromes malformatifs ; Gènes, chromosomes et cancer
- Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux



ORGANISATION GÉNÉRALE : MCO CONGRES
27 rue du Four à Chaux - F-13007 Marseille
Tél. 04 95 09 38 00. infos@assises-genetique.org

www.assises-genetique.org

