

Des cellules souches dans la rétine de mammifères adultes

La rétine des vertébrés dérive d'évaginements du tube neural ou vésicules optiques formées de neuroépithélium. On y trouve des cellules souches et toute une hiérarchie de cellules progénitrices au potentiel plus restreint, qui produisent, comme dans le cerveau, les différents types de neurones (cellules ganglionnaires, amacrines, bipolaires, horizontales, photorécepteurs) et de cellules gliales (essentiellement les cellules gliales de Müller) de la rétine. Si des cellules souches multipotentes existent incontestablement à l'état embryonnaire, elles ne persistent à l'état adulte que dans certaines régions du système nerveux central, comme le gyrus denté de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire [1] (*m/s* 1998, n° 12, p. 1453 et 1999, n° 5, p. 751). Dans la rétine, des cellules souches avaient été caractérisées chez certains vertébrés inférieurs comme les poissons téléostéens et les amphibiens. Localisées principalement dans la zone marginale ciliaire où elles donnent continuellement naissance à de nouveaux neurones et aux cellules gliales de Müller, elles permettent ainsi une croissance continue de la rétine et sa réparation en cas de blessure [2]. Chez le poisson, il existe également des progéniteurs des photorécepteurs de type bâtonnet, localisés dans la couche nucléaire interne, qui ont conservé la capacité de reconstituer une rétine entière tout au long de la vie de cette espèce [3].

La rétine des amphibiens possède aussi la capacité de se régénérer après rétinectomie, à partir de l'épithélium pigmenté de la rétine (EPR) [4]. Ces deux structures ont une origine embryologique commune, puisque toutes deux sont dérivées du

neuroectoderme. Ce processus, appelé « transdifférenciation », met en jeu successivement une dédifférenciation des cellules de l'EPR, leur prolifération et leur redifférenciation pour former une nouvelle neurorétine complète et fonctionnelle. Cette « transdifférenciation » des cellules de l'EPR s'observe également chez le poulet, après ablation de la neurorétine, mais elle n'est possible que pendant une brève période du développement embryonnaire (jusqu'à E5), et si on injecte simultanément du FGF-2 (*fibroblast growth factor*) dans le vitré [5]. Ces données suggèrent donc une certaine plasticité des cellules de l'EPR au moins dans cette espèce et aux stades précoces du développement.

L'existence de cellules souches ou progénitrices de la rétine n'avait en revanche jamais été démontrée chez les vertébrés supérieurs comme les mammifères adultes, jusqu'à la publication dans *Science* d'un article de V. Tropepe *et al.* [6]. Les auteurs ont examiné si des cellules de neurorétine ou des cellules pigmentées provenant soit de l'EPR central ou périphérique, soit de la marge ciliaire (PMC) (*figure 1*) étaient capables de proliférer *in vitro* de façon clonale. Ces cellules ont été isolées de la rétine de souris adultes (2 à 3 mois) ou d'embryons murins au 14^e jour de développement. Elles ont été cultivées dans un milieu sans sérum, en présence ou en l'absence de facteurs de croissance EGF (*epidermal growth factor*) ou FGF-2. Une faible proportion de cellules pigmentées (0,2-0,6 %), provenant exclusivement de la PMC, prolifèrent pour former des colonies sphériques contenant jusqu'à 13 000 cellules au jour 7, que les cellules aient été ou non cultivées

en présence de facteurs de croissance exogènes. La fréquence de ces cellules n'est pas plus grande chez les embryons. Aucune colonie n'a en revanche été obtenue à partir de cellules de l'iris, des muscles ciliaires, ou des cellules non pigmentées des processus ciliaires. La neurorétine adulte ne prolifère pas, et la neurorétine embryonnaire ne produit que des colonies de cellules non pigmentées et incapables d'autorenouvellement. Les colonies obtenues à partir de la PMC contiennent en proportions égales des cellules pigmentées et d'autres qui ne le sont pas ; elles contiennent aussi des cellules capables de former des colonies secondaires identiques aux colonies primaires, étape qui peut être répétée 6 fois, prouvant ainsi la capacité d'autorenouvellement de la cellule progénitrice initiale. L'ajout exogène de FGF-2, ou sa production endogène que prouve la réduction importante du nombre de colonies après l'addition d'un anticorps neutralisant le FGF-2, facilite l'expression de cette propriété d'autorenouvellement. Ces cellules souches rétinienne sont aussi multipotentes. En effet, au sein des colonies, les cellules non pigmentées expriment des antigènes (CHX10 et nestine) caractéristiques des précurseurs indifférenciés de la neurorétine embryonnaire, antigènes qui ne sont pas présents dans les cellules de la marge ciliaire adulte. Enfin, on trouve, à la périphérie des colonies au jour 21, des cellules exprimant des marqueurs typiques de la différenciation rétinienne correspondant à différents types cellulaires : cellules bipolaires, photorécepteurs de type bâtonnet et cellules gliales de Müller. Dans les conditions utilisées, aucune cellule

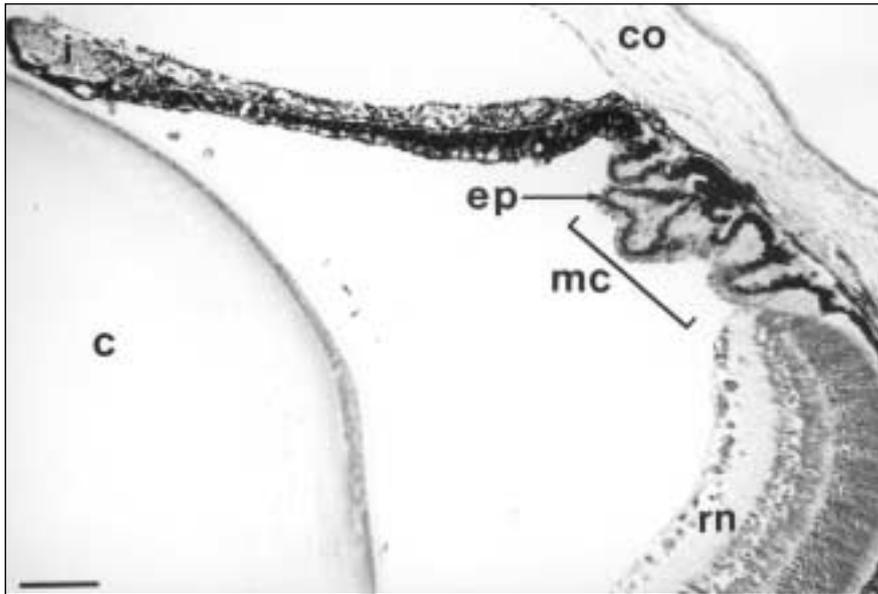


Figure 1. **Coupe histologique sagittale d'un œil de souris montrant la localisation de la marge ciliaire (mc) contenant les cellules souches de la rétine.** La rétine de mammifère est constituée de la neurorétine (rn) qui repose sur l'épithélium pigmenté (ep) de la rétine. La marge ciliaire est composée de cellules pigmentées recouvrant les muscles lisses ciliaires. C: cristallin; co: cornée; i: iris. Barre: 70 µm.

ganglionnaire, horizontale ou amacrine n'a pu être observée. Cependant, si les cellules sont cultivées à forte densité cellulaire, en culot, condition qui facilite les contacts intercellulaires et mime plus exactement l'environnement *in vivo*, on peut observer l'apparition de cellules amacrines. Cette diversité des programmes de différenciation s'observe aussi bien dans les colonies primaires que secondaires. Il est intéressant de noter l'absence de production d'oligodendrocytes, suggérant que le potentiel des cellules souches rétinienne est restreint par ce tissu. De même, et à ce jour, aucune cellule rétinienne n'a été obtenue *in vitro* à partir de cellules souches du cerveau.

Des expériences préliminaires conduites chez le bovin et l'humain *post-mortem* montrent également que des cellules pigmentées de la marge ciliaire peuvent proliférer et former des colonies. Il est donc probable que la présence de cellules souches rétinienne dans la marge ciliaire soit une caractéristique commune à beaucoup de mammifères. Dans cette étude, il ne s'agit pas d'un processus de « transdifférenciation », comme cela a été évoqué à propos de la régénération rétinienne des modèles d'amphibiens. En effet, une proportion infime des cellules de la marge ciliaire forment des colonies (< 1 %) et il faut qu'il y ait impérativement un certain nombre de divisions cellu-

lares pour assurer la production de cellules diversifiées. De plus, il semble que, *in vivo*, ce compartiment de cellules souches soit contrôlé par le nombre de cellules de la neurorétine, rétrocontrôle qui expliquerait la quiescence de ces cellules *in vivo*. Leur identification à partir de rétine de mammifères adultes ouvre cependant un large champ d'investigations (*m/s* 1998, n° 12, p. 1312). En particulier, leur greffe dans une rétine pathologique permettrait en théorie de pallier les dégénérescences rétinienne, en produisant de nouveaux neurones pouvant remplacer fonctionnellement des neurones en dégénérescence ou assurer tout au moins leur survie.

1. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T *et al*. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4: 1313-7.
2. Hollyfield JG. Differential growth of the neural retina in *Xenopus laevis* larvae. *Dev Biol* 1973; 24: 264-86.
3. Levine EM, Schechter N. Homeobox genes are expressed in the retina and brain of adult goldfish. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2729-33.
4. Stone LS. The role of retinal pigment cells in regenerating neural retinae of adult salamander eyes. *J Exp Zool* 1950; 113: 9-31.
5. Park CM, Hollenberg MJ. Basic fibroblast growth factor induces retinal regeneration *in vivo*. *Dev Biol* 1989; 134: 201-5.
6. Tropepe V, Coles BLK, Chiasson BJ *et al*. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. *Science* 2000; 287: 2032-6.

Laurent Désiré
Olivier Goureau
Xavier Guillonnet
Jean-Claude Jeanny

Unité 450 Inserm, Développement, vieillissement et pathologie de la rétine, 29, rue Wilhem, 75016 Paris, France.