

■■■■ **Une seule cellule souche pour un vaisseau complet?** Un vaisseau mûr est un tube creux bordé par des cellules endothéliales entourées d'un manchon de péricytes, ou de cellules musculaires lisses selon la nature du vaisseau. Selon le schéma classique, chez l'embryon, les progéniteurs endothéliaux (angioblastes) sont issus de cellules mésodermiques Flk-1⁺, dont certains (hémangioblastes) donnent aussi naissance aux lignées hématopoïétiques. Cellules musculaires lisses et péricytes, quant à elles, ont, de multiples origines selon la localisation du vaisseau, et migreraient autour de la structure tubulaire endothéliale pour en assurer la maturation. Sans forcément éliminer ce scénario, une équipe japonaise nous démontre aujourd'hui que ces deux constituants du vaisseau mûr, cellules musculaires lisses/péricytes et cellules endothéliales peuvent dériver d'un progéniteur embryonnaire commun [1]. Ainsi, des cellules ES (*embryonic stem cells*) sevrées de LIF (*leukemia inhibiting factor*) ne s'autorenouvellent plus et s'engagent dans un processus de différenciation, que traduit l'expression du récepteur du VEGF (*vascular endothelial growth factor*) Flk-1 à leur surface. Cultivées en présence de VEGF, les cellules ES Flk-1⁺ se différencient en cellules endothéliales typiques, alors qu'en présence de PDGF (*platelet-derived growth factor*)-BB elles acquièrent un phénotype de cellules musculaires lisses. Lorsque les deux cytokines sont présentes, les deux types cellulaires coexistent. L'analyse de la descendance de cellules Flk-1⁺ individuelles confirme que 30 % d'entre elles donnent naissance à des cellules endothéliales et à des cellules musculaires, démontrant la bipotence de la cellule initiale. On sait depuis longtemps induire *in vitro* la formation de structures tubulaires à partir de cellules endothéliales, mais un pas de plus est franchi ici puisque les cellules ES Flk-1⁺ cultivées en gel de collagène forment des tubes endothéliaux entourés de cellules musculaires, les contacts entre

les deux cellules impliquant des desmosomes. Injectées *in vivo* dans l'ébauche cardiaque d'un embryon de poulet, les cellules ES Flk-1⁺ participent au réseau vasculaire local. La formation d'une membrane basale, qui signerait la reconstitution d'une structure vasculaire complète, est encore incertaine. On ne connaît pas non plus les signaux qui dictent le devenir veineux ou artériel du vaisseau immature. Nous évoquons récemment les balbutiements d'une possible thérapeutique réparatrice vasculaire à partir de cellules endothéliales adultes cultivées *in vitro* (*m/s* 2000, n° 12, p. 1378), la maîtrise progressive de la compréhension de la formation des vaisseaux ne peut qu'en accélérer les progrès.

[1. Yamashita J, *et al. Nature* 2000; 408: 92-6.]

■■■■ **Les cellules souches à la chasse aux tumeurs.** Les glioblastomes sont des tumeurs particulièrement infiltrantes, ce qui les met largement hors de portée de gestes thérapeutiques localisés comme la résection chirurgicale ou la radiothérapie. La chimiothérapie étant restée jusqu'à présent peu efficace, la durée de vie médiane des patients n'a que très peu progressé et demeure inférieure à un an après le diagnostic. Des essais de thérapie génique ont été réalisés récemment, fondés sur l'apport de gènes-suicides comme le gène de la thymidine kinase du virus herpès HSV-1 [1], mais ils se heurtent au même obstacle, la tumeur ayant déjà essaimé profusément avant l'instauration du traitement. Une étude collaborative impliquant le laboratoire d'Evan Snyder (Children's hospital, Boston, USA), spécialiste des cellules souches du système nerveux, et celui de Xandra Breakefield (Mass. General, Boston, USA), qui travaille sur le gliome expérimental, apporte aujourd'hui un espoir de solution [2]. Ces auteurs montrent, en effet, que des cellules souches provenant de la lignée murine C17.2 – déjà lar-

gement utilisée par Evan Snyder dans des modèles d'affections dégénératives du système nerveux central – se dispersent après implantation dans une tumeur expérimentale, non seulement dans le corps de la tumeur mais également dans toutes ses voies de migration. Les cellules tumorales infiltrantes localisées, pourtant, à distance de la masse tumorale et sans continuité avec elle, se sont ainsi retrouvées accolées à des cellules souches qui empruntent bien plus volontiers les voies de migration « tracées » par les cellules tumorales que des trajets passant par le parenchyme cérébral normal. Toutefois, implantées dans le cerveau intact à distance d'une masse tumorale, les cellules souches parviennent à migrer vers elle, cela de façon préférentielle et, de même, elles s'y nichent après injection intravasculaire alors qu'elles ne pénètrent pas dans le cerveau intact. Ayant armé les cellules souches d'un gène suicide (cytosine désaminase, sensible au 5-FU), les auteurs ont obtenu un résultat spectaculaire (80 % de réduction de la masse tumorale) qui semble confirmer l'intérêt thérapeutique de cette approche. Après la thérapie régénératrice, voici donc les cellules souches transformées en agents destructeurs, véritables chasseurs de tumeurs.

[1. Boyer O, Klatzmann S. *Med Sci* 1999; 15: 625-34.]

[2. Aboody KS, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12846-51.]



■■■■ **Cellules ES humaines : pas si simple.** L'équipe américaine de J Thompson a dérivé en 1998 des cellules ES (*embryonic stem cells*) d'un blastocyste humain, les cellules H9 [1]. Même si le potentiel de différenciation en cellules nerveuses de ces cellules a été rapporté [2], il a tout de suite été clair que les cellules ES humaines ne se manipulaient pas aussi facilement que leurs contreparties murines qui, en la matière, représentent probablement plus l'exception que la règle, compte tenu des difficultés rencontrées pour dériver des cellules ES d'autres mammifères. Aucune lignée clonale n'avait pu être obtenue à partir des cellules H9 parentales, en raison de la grande propension de ces cellules à proliférer en agrégats, et de leur mortalité considérable. J Thompson, dans l'article que publie *Developmental Biology* [3], décrit la suite de la caractérisation de ces cellules et confirme ces premières difficultés : la mortalité cellulaire reste un problème majeur, ce qui favorise la sélection des clones les plus résistants ; il est toujours impossible de cultiver les cellules ES humaines en l'absence de fibroblastes embryonnaires murins irradiés puisque,

contrairement aux cellules ES murines, elles ne prolifèrent pas sous forme indifférenciée en présence de LIF (*leukemia inhibiting factor*) seul. Certes on peut maintenant substituer aux 20 % de sérum de veau un milieu synthétique, contenant du bFGF (*basic fibroblast growth factor*), mais l'efficacité de clonage des cellules, même améliorée, reste à moins de 1 %, très inférieure à ce qu'elle est pour les cellules ES murines, ce qui ne permet pas d'envisager leur utilisation dans des expériences de recombinaison homologue dans un futur proche. Les auteurs ont fini par obtenir deux clones, H9.1 et H9.2, à partir de la lignée parentale H9. Pour être sûrs de la clonalité de leur lignée, les cellules H9 ont été individuellement prélevées par micromanipulation. Là encore, seuls 2 clones ont survécu sur 384 cellules H9 prélevées. Le caryotype des clones H9.1 et H9.2 est normal après 8 mois de culture continue, mais des anomalies chromosomiques ont été détectées dans la population parentale. Le temps de doublement moyen de la population, probablement sous-estimé en raison de l'apoptose, est estimé à 35 heures. L'activité télomérase des cellules est élevée après

300 doublements, même si la longueur des télomères est variable et diminue dans la lignée parentale, suggérant que les cellules qui survivent sont probablement immortelles. Quant à leur potentiel, il a été testé *in vivo*, après injection des cellules des clones H9.1 et H9.2 à des souris SCID-beige ; les tératomes qui se sont développés contenaient des dérivés des trois feuillettes embryonnaires, endoderme (épithélium intestinal), mésoderme (rein, os, muscle, cartilage), et ectoderme (tissu neural). Les auteurs laissent poindre une note de pessimisme, et il se confirme donc qu'un très long travail de mise au point technique sera nécessaire pour améliorer les conditions de culture de ces cellules ES humaines, et pour faire qu'elles deviennent un outil de recherche aussi fructueux que les cellules ES murines ont pu l'être pour la compréhension de la biologie cellulaire de cette espèce.

[1. Thomson JA, *et al. Science* 1998 ; 282 : 1145-7.]

[2. Reubinoff BE, *et al. Nat Biotechnol* 2000 ; 18 : 398-404.]

[3. Amit M, *et al. Dev Biol* 2000 ; 227 : 271-8.]

**Année Universitaire 2000-2001,
Diplôme d'Études Spécialisées Complémentaires
(DESC) en addictologie**

Une mesure du plan triennal

Dans le cadre du plan triennal de lutte contre la drogue et de prévention des dépendances, adopté par le Gouvernement le 16 juin 1999, un certain nombre de mesures visaient à améliorer la formation initiale et continue des médecins.

En effet, il est nécessaire de permettre aux personnes ayant acquis des compétences en toxicomanie, en alcoologie et en tabacologie d'avoir une reconnaissance universitaire.

Comment il se déroule ?

Il est mis en place sur deux ans et comporte deux volets de formation :

- une « théorique » (120 heures d'enseignement) constituée de 6 modules (problématique générale, santé publique : aspects sociaux et législatifs, approche spécifique des addictions, les conduites à tenir),
- une « pratique » comportant 4 semestres de stages validants.

Comment s'inscrire ?

Chaque interne, médecin ou spécialiste qui souhaite s'inscrire est invité à prendre contact au secrétariat du 3^e cycle de sa faculté de Médecine d'origine.

Contact presse : MILDT - Patrick Chanson - Tél. : 01 40 56 62 88.