

repas en commun, le partage de nourriture, l'accumulation de provisions ont certainement facilité la constance de l'apport énergétique, en particulier celui des femmes en âge de procréer et de leurs petits très dépendants, favorisant l'élargissement du cerveau. Enfin, les capacités cognitives qu'offre ce « gros » cerveau ont permis de réduire les fluctuations dans l'apport d'énergie au cours du temps et notamment durant les saisons où cet apport est limité, comme le font également d'autres primates et les oiseaux.

La seconde voie consiste à réduire l'énergie dévolue à d'autres fonctions énergivores. Si ceci ne s'applique pas à d'autres organes comme le suggérerait *the expensive tissue hypothesis* que nous avons remise en cause, en revanche la contribution de la locomotion a été importante. L'acquisition de moyens de déplacement plus efficaces, comme le bipédisme, a certainement contribué à l'expansion du cerveau, du moins dans le cas de l'espèce humaine. Ce nouveau mode de locomotion est

moins gourmand en énergie que celui des quadrupèdes ou des animaux grimpants, et réduit les conséquences d'une augmentation du poids du corps que provoquent les dépôts de graisse. L'acquisition d'un cerveau de taille importante a pu aussi être favorisée par une réduction des coûts de production, non seulement lors du processus de reproduction, mais aussi en raison de la diminution du rythme de nos vies. Cela n'a pas empêché l'accroissement du taux des naissances dans nos espèces, certainement influencé par le rôle qu'y joue l'assistance des membres de la famille lors des naissances et le partage des ressources.

Nous proposons que, dans notre espèce, la qualité accrue de notre régime alimentaire, mais aussi les interactions sociales - le partage des ressources et l'assistance notamment aux femelles -, l'importance des fonctions cognitives permettant de surmonter les conditions défavorables, une sédentarité accrue et une diminution de l'énergie allouée à la production, ont contribué ensemble

au développement extraordinaire du cerveau. ♦

### The expensive tissue hypothesis revisited

#### REMERCIEMENTS

Je remercie Laure Coulombel d'avoir manifesté un si grand intérêt pour nos travaux et d'avoir assuré la traduction française de notre article.

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

#### RÉFÉRENCES

1. Mink JW, Blumenschine RJ, Adams DB. Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis. *Am J Physiol* 1981 ; 241: R203-12.
2. Holliday MA. *Human growth: a comprehensive treatise*, vol. 2. In : Falkner F, Tanner JM, eds. New York : Plenum Press, 1986 : 101-7.
3. Aiello LC, Wheeler P. The expensive-tissue hypothesis: the brain and the digestive-system in human and primate evolution. *Curr Anthropol* 1995 ; 36 : 199-221.
4. Aiello LC, Bates N, Joffe T. *Evolutionary anatomy of the primate cerebral cortex*. In : Falk D, Gibson KR, eds. Cambridge : Cambridge University Press, 2001 : 57-78.
5. Navarrete A, van Schaik CP, Isler K. Energetics and the evolution of human brain size. *Nature* 2011 ; 480 : 91-3.
6. Isler K, van Schaik CP. The expensive brain: a framework for explaining evolutionary changes in brain size. *J Hum Evol* 2009 ; 57 : 392-400.

## NOUVELLE

### Contribution de cellules ES au chimérisme post-natal Échec chez le singe

Laure Coulombel

médecine/sciences, 2, rue d'Alésia,  
75014 Paris, France.  
[laure.coulombel@inserm.fr](mailto:laure.coulombel@inserm.fr)

> Classiquement, une définition stricte de la pluripotence d'une cellule implique qu'elle puisse contribuer *in vivo* à des chimères post-natales. Cela signifie que des cellules greffées dans un embryon préimplantatoire hôte ensuite transféré dans l'utérus d'une femelle pseudogestante, contribueront - au même titre que les cellules endogènes de l'embryon-hôte - aux tissus des animaux qui naîtront, y compris à la lignée germinale [1]. On sait depuis longtemps que les cellules souches embryonnaires (CSE) dérivées de

la masse interne de blastocystes de souris - et maintenant de rats comme nous l'écrivait récemment M. Cohen-Tannoudji [2] - ont cette capacité, qui caractérise aussi les cellules iPS (*induced pluripotent stem cells*) [1, 3]. CSE et iPS sont aussi capables de former à elles seules des embryons viables, par complémentarité tétraploïde, comme nous l'avons déjà discuté dans ces colonnes [1]. Mais ces tests de pluripotence *in vivo* ne sont évidemment pas applicables à des CSE et iPS humaines. Plusieurs arguments

moléculaires et fonctionnels suggèrent que le potentiel de ces dernières serait plus proche de celui de cellules pluripotentes murines de type EpiSC, dérivées de l'épiblaste de blastocystes tardifs, et dont la capacité de participer à des chimères post-natales - en particulier à la lignée germinale - est déjà très restreinte [4]. L'équipe de Shoukhrat Mitalipov, du centre de primatologie de l'Orégon (États-Unis), apporte un argument de poids à cette hypothèse en montrant l'incapacité de CSE de singes



Rhésus de contribuer à des chimères post-natales après leur injection dans des blastocystes de primates [5]. Cette équipe est une des seules au monde capables de manipulations embryonnaires de ce type chez le primate non humain : elle a précédemment obtenu des lignées de CSE après transfert de noyaux somatiques dans des ovocytes de singes (sans toutefois obtenir de naissances après transfert *in utero* de ces embryons), et, plus récemment, a décrit - toujours chez le singe - une approche de transfert nucléaire thérapeutique dans les maladies mitochondriales dont nous nous sommes fait l'écho [6].

### Échec de l'intégration de CSE dans des blastocystes hôtes

Dans une première approche, les auteurs ont appliqué la technique utilisée chez la souris et injecté 20 à 30 CSE dissociées

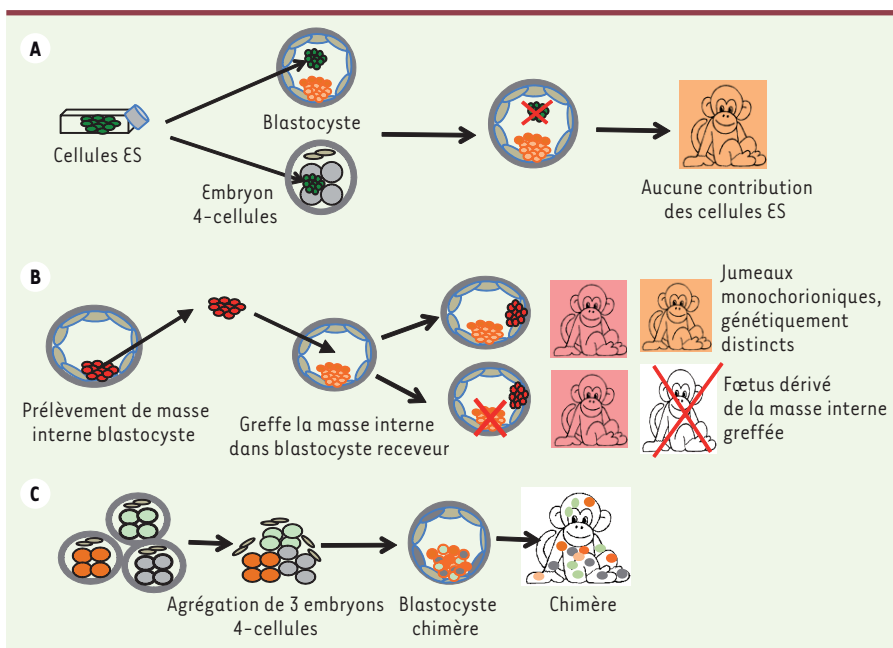
dans un blastocyste hôte, jouxtant la masse interne. Vingt-six blastocystes ainsi traités ont été transférés dans l'utérus de sept femelles. Quatre grossesses ont été obtenues, mais aucun des sept embryons analysés à mi-gestation n'exprimait de chimérisme. De même, aucune contribution des CSE de singes aux fœtus n'a été détectée après l'injection des CSE dans des embryons de 4-cellules, à un stade précédant le stade blastocyste (Figure 1A)

La dissociation des cellules pouvait être en cause : on sait que si les CSE murines la tolèrent, tel n'est pas le cas des CSE humaines. Pour tester ce paramètre, les auteurs ont donc injecté, sans les dissocier, les masses internes prélevées sur des blastocystes dans 44 blastocystes hôtes transférés ensuite chez 11 femelles. Trois furent enceintes : l'une d'entre elles portait des jumeaux mono-

chorioniques mais non chimériques, correspondant au développement séparé des deux masses internes, celle de l'hôte et celle du donneur (Figure 1B). Un chimérisme était présent seulement dans le foie et la rate des jumeaux et témoignait probablement de l'échange de cellules lors des anastomoses vasculaires, mais pas d'un vrai chimérisme. Cela démontre certes la réceptivité de l'embryon hôte et la « pluripotence » globale de la masse interne, mais pas celle des cellules individuelles qui la composent (dont dérivent les CSE). Il faut souligner que c'est la première fois qu'un individu viable est obtenu à partir de la greffe d'une masse interne non dissociée dans un blastocyste.

Autre explication possible de l'échec : le stade de maturation trop tardif des CSE. Pour le tester, les auteurs ont remplacé deux blastomères d'un

embryon 4-cellules par deux blastomères d'un autre embryon. Des 29 embryons 4-cellules obtenus, 19 ont atteint le stade blastocyste et 10 contenaient un nombre normal de cellules, suggérant un chimérisme qui n'a pas été prouvé en l'absence de marqueur distinctif. Finalement, un chimérisme clair et net a été observé après agrégation de multiples embryons pris très précocement - 3 à 6 embryons de 4 à 6-cellules pour chaque test - bien avant l'individualisation de la masse interne (Figure 1C). Vingt-neuf embryons chimériques ont été obtenus, et 14 de ces blastocystes chimériques ont été transplantés chez cinq femelles receveuses. Toutes ont été enceintes : la grossesse a été terminée par les chercheurs avant terme chez trois d'entre elles, et l'analyse des fœtus a confirmé le chimérisme de tous les tissus y compris de la lignée germinale. Les deux autres femelles ont donné naissance à Roku et Hex (jumeaux) et à Chimero, trois singes normaux et également chimériques.



**Figure 1. Stratégies expérimentales utilisées par l'équipe de S. Mitalipov pour obtenir des singes chimères à partir de cellules embryonnaires.** **A.** Des CSE dérivée de la masse interne de blastocystes sont injectées dans un blastocyste singe hôte, ou dans un embryon 4-cellules, et les blastocystes sont ensuite transférés dans l'utérus de femelles. Les fœtus ont été analysés à mi-gestation. Aucune chimérisme n'a été observé. **B.** La masse interne complète prélevée sur des blastocystes a été implantée dans des blastocystes hôtes, ensuite transférés dans l'utérus de femelles. Parmi les 3 fœtus analysés, deux provenaient du développement de la masse interne greffée. **C.** La seule stratégie résultant en un taux de chimérisme important consiste à agréger plusieurs embryons 4-cellules, ce qui aboutit à la formation de blastocystes qui peuvent être transférés dans l'utérus de femelles, et poursuivre leur développement jusqu'à la naissance de singes viables.

### Différences d'incorporation des CSE dans un blastocyste hôte chez la souris ou le singe : quelles hypothèses ?

Si ces résultats confirment la différence entre les systèmes du singe Rhésus (et probablement de l'homme) et de souris, l'histoire ne dit pas pourquoi les CSE de Rhésus ne contribuent pas au développement embryonnaire : incompétence des CSE, non-permissivité de l'embryon hôte ou autre facteur de restriction sans aucun rapport avec le potentiel des cellules et qui, s'il était identifié, pourrait être contourné. Les auteurs formulent au moins deux hypothèses :

Les blastocystes hôtes, comme les CSE injectées, sont peut-être au-delà de la fenêtre de permissivité propice à l'établissement du chimérisme. La compétence des CSE de primates (et d'homme) reflète en effet l'état de maturation de la masse interne dont elles sont issues. Or, l'analyse fine des masses internes des blastocystes hôtes a révélé qu'à ce stade, une organisation en deux feuilletts distincts, épiblaste et endoderme primitif, est déjà décelable. Cette ségrégation en 2 feuilletts s'oppose peut-être à l'incorporation de CSE immatures étrangères. Rappelons que chez la souris, cette ségrégation

apparaît au jour 4,5, mais que la greffe de CSE est faite au jour 3,5 ; plus tard, elle est inefficace.

D'autre part, les auteurs démontrent, en suivant grâce à un traceur les CSE injectées dans les embryons 4-cellules, qu'elles se différencient très rapidement et certainement avant d'avoir pu s'intégrer sous une forme encore immature pluripotente dans les embryons 4-cellules.

Il faut cependant remarquer que les CSE de singes Rhésus ont tous les autres attributs de la pluripotente : formation de tératomes, production de cellules différenciées fonctionnelles de multiples tissus *in vitro* (comme nous l'avons décrit à propos des travaux de M. Pucéat et P. Ménasché [7]), signature moléculaire. Est-ce que des CSE dérivées non pas de la masse interne, mais de blastomères (embryons 4-8 cellules) d'embryons de singes pourraient, elles, contribuer *in vivo* à des chimères ? Cela vaut peut-être d'être testé. Pourrait-on aussi, par un artifice de culture, induire un état plus « naïf » dans ces CSE qui élargirait leur potentiel *in vivo*, comme cela a été décrit pour les ÉpiSC de la souris que l'on peut convertir en CSE naïves [8] ?

Comme dans beaucoup de domaines, la souris - modèle d'étude « extra-ordinaire » - ne reflète que très mal la réalité de l'embryologie et de la physiologie humaines ou des primates non humains. Important, à l'heure des discussions éthiques et de la thérapie cellulaire. ♦

### ES cells and postnatal chimeric Rhesus monkeys

#### CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Coulombel L. Pluripotente : une définition à géométrie variable. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 798-801.
2. Cohen-Tannoudji M, Guénet JL. Une nouvelle ère pour la génétique du rat. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 387-90.
3. Coulombel L. Reprogrammation nucléaire d'une cellule différenciée : on efface tout et on recommence. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 667-70.
4. Brons IG, Smithers LE, Trotter MW, et al. Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos. *Nature* 2007 ; 448 : 191-5.
5. Tachibana M, Sparman M, Ramsey C, et al. Generation of chimeric Rhesus monkeys. *Cell* 2012 ; 148 : 1-11.
6. Häfner S, Coulombel L. Naissance de Mito and Tracker : prélude à la correction des mutations de l'ADN mitochondrial chez l'homme ? *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 802-3.
7. Coulombel L. Coup de cœur pour un progéniteur multipotent mésodermique dérivé de cellules souches embryonnaires humaines. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 439-41.
8. Nichols J, Smith A. Naive and primed pluripotent states. *Cell Stem Cell* 2009 ; 4 : 487-92.

## NOUVELLE

### Pluripotente des cellules souches

#### Quand l'épissage alternatif s'en mêle

Mathieu Gabut

University of Toronto, Terrence Donnelly centre for cellular and biomolecular research, 160 College street, room 1030, Toronto M5S 3E1, Ontario, Canada.  
[mathieu.gabut@utoronto.ca](mailto:mathieu.gabut@utoronto.ca)

#### Le contrôle de la pluripotente des cellules souches

Les cellules souches embryonnaires (CSE) sont issues du blastocyste et sont capables de s'autorenouveler théoriquement indéfiniment sous forme indifférenciée. En outre, les CSE sont pluripotentes, ce qui signifie qu'elles peuvent se différencier en n'importe quel type

cellulaire composant les tissus embryonnaires et que, en interaction étroite avec le placenta, elles ont la capacité de former un organisme viable et fertile. Les CSE possèdent un programme d'expression génique unique favorisant à la fois leur autorenouvellement et le maintien de leur pluripotente. Ce programme est minutieusement contrôlé à différentes

étapes de l'expression des gènes et conserve le génome dans une configuration dynamique qui favorise une activation rapide des gènes impliqués dans la différenciation en réponse à des signaux développementaux. La régulation de ce programme intervient tout d'abord au niveau de la chromatine, par le biais de la méthylation de l'ADN, du remodelage