

## Les cellules souches de la moelle osseuse au secours de la maladie d'Alzheimer

Alain R. Simard, Serge Rivest

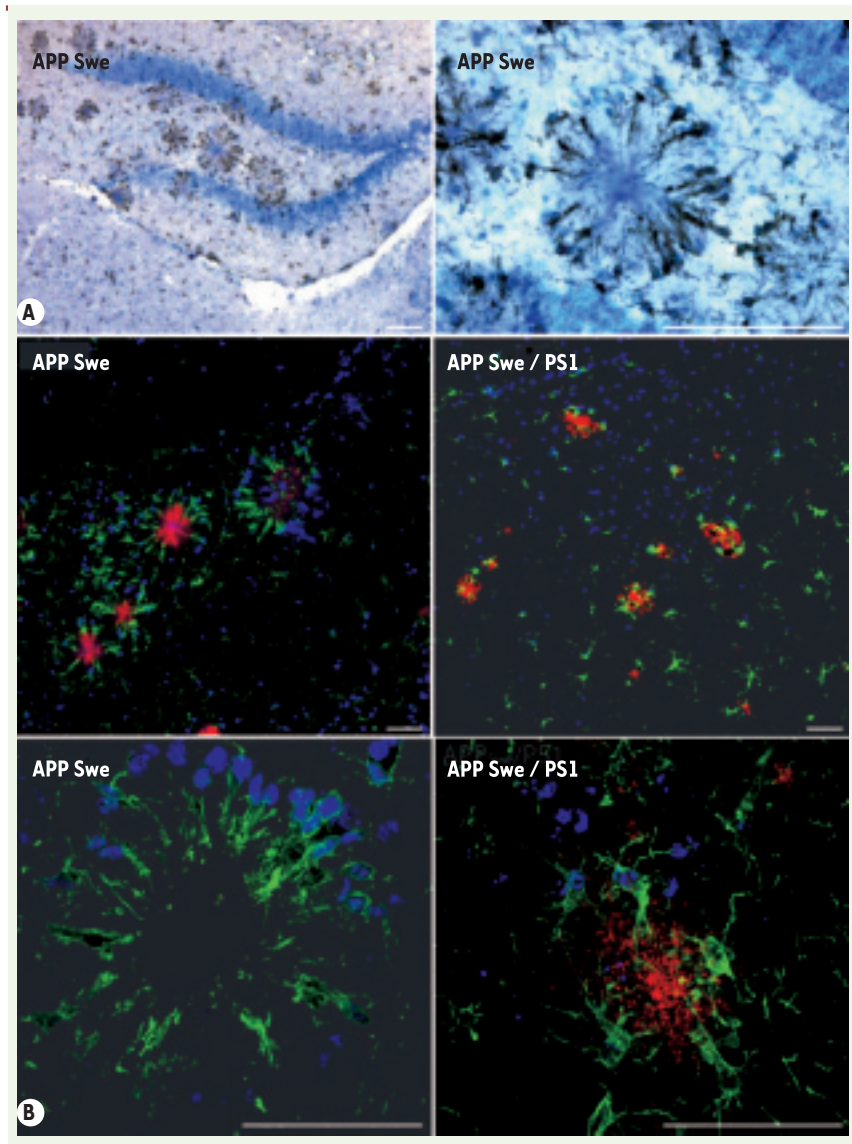


Endocrinologie Moléculaire,  
Centre de recherche du CHUL et Département  
d'anatomie et de Physiologie, Faculté de médecine, Université  
Laval, 2705, boulevard Laurier,  
Québec (Québec) G1V 4G2, Canada.  
[Serge.Rivest@crchul.ulaval.ca](mailto:Serge.Rivest@crchul.ulaval.ca)

► La maladie d'Alzheimer est la forme la plus courante de démence chez les humains. Cette maladie est caractérisée par la présence de dépôts de peptide  $\beta$ -amyloïde ( $\beta$ A) dans le parenchyme du cerveau et le réseau microvasculaire. Ces dépôts extracellulaires sont aussi connus sous le nom de plaques amyloïdes ou plaques séniles. Le développement des plaques va de pair avec le déficit cognitif, cependant le mécanisme exact en cause dans la mort des neurones qui s'ensuit et qui marque la maladie reste aujourd'hui encore hypothétique et fortement débattu comme en témoignent les nombreuses publications sur le sujet. Les corps amyloïdiens sont toujours accompagnés de microglies, les cellules immunitaires du cerveau.

### Rôle des microglies dans la maladie d'Alzheimer

Beaucoup d'études ont démontré la présence de microglies dans les amas amyloïdes de cerveaux humains et de souris transgéniques exprimant la maladie [1-3]. Le rôle de ces cellules dans la progression des plaques séniles et du déficit cognitif représente actuellement un sujet très discuté. Les plaques séniles de souris transgéniques APP ( $\beta$ -amyloid precursor protein) (ces souris portent l'APP humaine mutée et développent la maladie après 15 mois) sont constituées de microglies dont les ramifications atteignent le centre de la plaque, ce qui remet grandement en question l'idée selon laquelle ces cellules n'infiltrent pas la forme sphérique des agrégats extracellulaires [4]. On peut remarquer que ce phénomène ne se limite pas seulement à quelques plaques, mais touche la très grande majorité des corps amyloïdiens (Figure 1).



**Figure 1. Infiltration des microglies dans les plaques séniles de souris transgéniques APP<sub>Swe</sub>.** A. Les microglies sont les cellules brunes dans les plaques (sphères étoilées de microglies). B. En rouge, les plaques ; en vert, les microglies ; en bleu, les noyaux (DAPI) (reproduit avec l'autorisation de Cell Press et Elsevier).



Nous avons voulu déterminer l'origine de ces cellules et greffer des souris APP/PS1 (*Presenilil 1*) : irradiées avec des cellules souches de la moelle osseuse marquées avec la protéine GFP (*green fluorescent protein*), ces souris expriment deux transgènes mutés et développent la maladie plus rapidement, c'est-à-dire après 6 mois. Nous avons observé que les microglies résidentes étaient attirées vers les plaques peu après le développement de la maladie. De leur côté, les cellules provenant de la moelle osseuse infiltrent les dépôts amyloïdiens seulement lorsque ceux-ci atteignent un certain volume. Cependant, ce processus de recrutement est très dynamique et semble disparaître chez les animaux plus âgés. Ce résultat est fort intéressant, puisqu'il suggère que les plaques sont constituées de deux types de cellules microgliales : les résidentes et celles qui sont originaires de la moelle osseuse. Ces dernières sont attirées durant une période précise de la maladie, tandis que les cellules microgliales résidentes sont associées à la  $\beta$ A tout au long de la progression de la maladie.

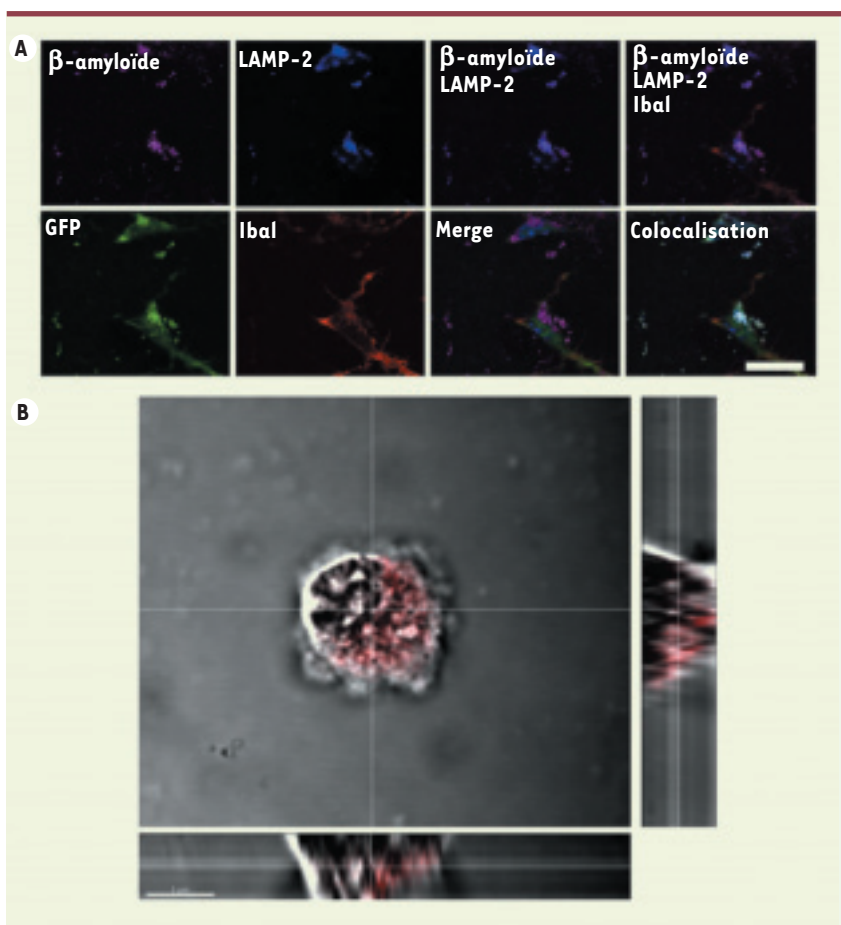
Les isoformes  $\beta$ A<sub>40</sub> et  $\beta$ A<sub>42</sub> se chargent de la transmigration des monocytes vers le tissu cérébral. Ces protéines favorisent la production de molécules inflammatoires sécrétées par les cellules microgliales et endothéliales. Ces dernières produisent des chimiokines qui amorcent la transmigration cellulaire vers le foyer inflammatoire et ainsi attirent ces nouvelles microglies immunocompétentes et phagocytaires (Figure 2). Par conséquent, ces cellules sont tout à fait en mesure d'éliminer les protéines toxiques du système nerveux central, mais elles n'effectuent ce travail que durant une très courte période. De plus, les microglies résidentes ne possèdent que peu – et parfois pas – cette capacité phagocytaire pour la  $\beta$ A.

D'où vient maintenant la controverse sur les propriétés neurodégénératives des microglies ? L'analyse des cerveaux se fait malheureusement lorsque le patient est décédé et, dans bien des cas, dans les phases très tardives de la maladie. Notre étude démontrant un recrutement

très transitoire des cellules phagocytaires du sang peut sans doute expliquer pourquoi les différentes analyses histopathologiques infirment la présence de  $\beta$ A dans les microglies et dévient à ces dernières la capacité de produire des molécules inflammatoires. Il faut noter que ceci est aussi le cas pour les souris APP vieillissantes dont les plaques sont dépourvues de cellules provenant de la moelle osseuse. Il est également possible que les microglies résidentes participent à la progression des dépôts d'amyloïdes, tandis que celles qui sont dérivées de la moelle osseuse éliminent la  $\beta$ A.

Pour déterminer le rôle de chaque sous-type de microglies, nous avons créé une

nouvelle souris transgénique exprimant la thymidine kinase (TK) sous le contrôle du promoteur CD11b afin de permettre l'expression de la TK uniquement dans les cellules myéloïdes. L'administration du ganciclovir, qui permet d'inhiber la répllication de l'ADN dans ce système, cause chez ces souris un arrêt de la différenciation de toutes les cellules myéloïdes, et notamment des microglies provenant de la moelle osseuse, sans pour autant altérer l'activité des microglies résidentes. En accouplant ces souris avec les souris APP/PS1, nous avons été en mesure d'inhiber complètement la prolifération de nouvelles microglies dans les plaques durant une période déterminée. L'inhibition de la prolifération microgliale entre



**Figure 2.** Les microglies provenant de la moelle osseuse phagocytent le peptide  $\beta$ -amyloïde *in vivo* (A et B). Il faut noter la présence du peptide  $\beta$ -amyloïde (rouge) dans les lysosomes (LAMP-2) des microglies (iba1) provenant de la moelle osseuse (GFP) (reproduit avec l'autorisation de Cell Press et Elsevier).

la période de 5 à 6 mois a eu pour conséquence l'augmentation très significative du nombre de plaques, ainsi que leur volume, mettant ainsi en évidence le rôle neuroprotecteur et naturel de ces cellules dans la maladie d'Alzheimer. De plus, ces effets sont propres à cette période où le recrutement est le plus intense et le plus dynamique.

### Conclusions

Les microglies provenant de la moelle osseuse offrent un potentiel formidable en vue du traitement de la maladie d'Alzheimer, puisqu'elles sont attirées vers les protéines toxiques et sont en mesure de les éliminer. Il est intéressant de noter que des protéines toxiques sont présentes dans d'autres maladies neurodégénératives, telle que l'alpha-synucléine dans la maladie de Parkinson et la superoxyde dismutase dans la sclérose latérale amyotrophique. Les cellules


souches de la moelle osseuse pourront ainsi se diriger vers les différents foyers inflammatoires provoqués par ces protéines toxiques. Elles ont aussi l'avantage, contrairement aux autres types de cellules souches, d'infiltrer de façon naturelle les régions endommagées et de s'adapter aux conditions inflammatoires. De plus, le prélèvement des cellules souches hématopoïétiques évitera le rejet des cellules génétiquement modifiées, puisque le patient servira à la fois de donneur et de receveur. Il nous reste maintenant à trouver la façon de rendre ces cellules plus résistantes, à sélectionner de meilleurs phagocytes par exemple, plus spécifiques à la  $\beta$ A (ou à d'autres protéines toxiques), tout en évitant l'emballement de la réponse inflammatoire. Un très beau défi scientifique et médical à relever !  $\diamond$

**Bone marrow stem cells to the rescue of Alzheimer's disease**

### RÉFÉRENCES

1. Dickson DW, Farlo J, Davies P, *et al.* Alzheimer's disease. A double-labeling immunohistochemical study of senile plaques. *Am J Pathol* 1988 ; 132 : 86-101.
2. Malm TM, Koistinaho M, Parepalo M, *et al.* Bone-marrow-derived cells contribute to the recruitment of microglial cells in response to beta-amyloid deposition in APP/PS1 double transgenic Alzheimer mice. *Neurobiol Dis* 2005 ; 18 : 134-42.
3. Stalder AK, Ermini F, Bondolfi L, *et al.* Invasion of hematopoietic cells into the brain of amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 11125-32.
4. Simard AR, Soulet D, Gowing G, *et al.* Bone marrow-derived microglia play a critical role in restricting senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Neuron* 2006 ; 49 : 489-502.

### NOUVELLE



**Propriétés inattendues de l'échangeur anionique du globule rouge**  
**La leçon des poissons**  
Hélène Guizouarn, Sonia Martial, Franck Borgese

Laboratoire de physiologie des membranes cellulaires, FRE2721 CNRS-Université de Nice. Bâtiment de sciences-naturelles, 28, avenue Valrose, 06108 Nice Cedex 2, France.  
[Helene.GUIZOUARN@unice.fr](mailto:Helene.GUIZOUARN@unice.fr)

> Bien qu'étudié depuis plus de 50 ans, l'échangeur anionique (ou AE, *anion exchanger*)  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  encore appelé bande 3 dans les globules rouges, est toujours capable de nous surprendre. Cette protéine de 911 acides aminés chez l'homme, qui est la principale protéine membranaire dans les globules rouges fait partie de la famille des AE1 codés par le gène *slc4a1* que l'on retrouve dans tout le règne animal. L'AE1 catalyse l'échange électroneutre d'un ion

chlorure et d'un ion bicarbonate de part et d'autre de la membrane plasmique. Son abondance dans la membrane érythrocytaire permet une diffusion très rapide des ions bicarbonates à travers la membrane cellulaire. Ce phénomène contribue à la respiration en augmentant considérablement la capacité sanguine de transport du  $\text{CO}_2$  qui, diffusant dans les globules rouges, est hydraté et transformé en ions bicarbonate rapidement expulsés contre

des chlorures [1, 2]. Par ailleurs, cette protéine joue un rôle structural important dans les érythrocytes en se fixant à diverses protéines du cytosquelette, elle intervient aussi dans le métabolisme érythrocytaire en interagissant avec l'enzyme glucose-6-phospho-déshydrogénase et joue également un rôle de signal de reconnaissance grâce aux motifs antigéniques qu'elle expose à la surface érythrocytaire [3].



Deux études indépendantes, l'une sur la régulation de volume cellulaire des globules rouges de truite et l'autre sur la perméabilité membranaire des hématies de patients souffrant d'anémies hémolytiques héréditaires, ont permis de démasquer une fonction de transport des cations tout à fait inattendue pour un AÉ1.

Nous avons montré il y a plusieurs années que, contrairement aux bandes 3 de mammifères, la bande 3 des globules rouges de truite était capable d'adopter une conformation canal anionique permettant le transport à travers la membrane plasmique de solutés tels le Na, le K mais aussi la taurine, principal acide aminé contenu dans ces cellules [4, 5]. Cette conformation est induite par la dilution des électrolytes intracellulaires lors d'une entrée d'eau importante dans la cellule [6]. À ce jour, la bande 3 des globules rouges de truite était le seul membre de la famille des AÉ1 capable de transporter des cations dans une situation physiologique particulière, le gonflement hypo-osmotique. Compte tenu des similitudes importantes dans le domaine transmembranaire des AÉ1, siège des propriétés de transport de la protéine, on pouvait envisager que les AÉ1 d'autres espèces soient également capables de transporter des cations dans certaines situations.

Une collaboration entre médecins et chercheurs nous a permis de valider cette hypothèse.

Dans certains cas d'anémies hémolytiques héréditaires, on observe que les gradients des ions Na et K de part et d'autre de la membrane des érythrocytes se dissipent lorsque ces cellules sont stockées au froid [7,8]. Le milieu intracellulaire perd du K de façon passive. Les données de cinétique isotopique réalisées sur les globules rouges de ces malades suggèrent que la fuite des cations emprunte une voie de perméabilité présentant la même pharmacologie que celle de l'échangeur  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ . Par ailleurs, l'analyse génétique des différents pédigrés révèle une mutation dans l'exon 17 du gène *slc4a1* codant pour la bande 3. Le séquençage complet du gène

chez les individus représentatifs a permis de localiser 5 mutations ponctuelles différentes conduisant aux mutations faux-sens suivantes sur la protéine : Ser731Pro ; His734Arg ; Leu687Pro ; Asp705Tyr et Arg760Gln. À l'exception de cette dernière mutation connue sous le nom de Bande 3 Prague [9], aucune des autres mutations n'était connue. Ces mutations n'induisent pas un déficit important de bande 3 dans la membrane plasmique mais elles réduisent considérablement la capacité de transport d'anions de la protéine.

La connaissance des propriétés de transport de la bande 3 de truite suggérait que l'échange anionique n'était pas la seule fonction de transport des AÉ1. Aussi, on pouvait envisager que les mutations de la bande 3 humaine soient responsables des anomalies de perméabilité cationique des globules rouges. Pour confirmer le rôle de ces mutations dans la fuite de cations observée dans les hématies des malades, nous avons exprimé dans l'ovocyte de xénope ces cinq mutants de la bande 3 humaine et analysé le contenu et la perméabilité au Na et K de ces cellules comparativement à des ovocytes témoins ou exprimant une bande 3 humaine non mutée. De manière spectaculaire, on observe que l'expression dans la membrane ovocytaire de chacune des bandes 3 mutées induit une fuite des cations Na et K dont la concentration intracellulaire s'équilibre avec la concentration extracellulaire. Ainsi, une simple mutation ponctuelle sur la séquence de la protéine suffit à convertir l'échangeur anionique en un transporteur de cations non sélectif [10].

Ces résultats suggèrent que les AÉ1 portent intrinsèquement la possibilité de transporter d'autres substrats que les anions et peuvent être convertis en « canaux » cationiques. Cette conversion de l'échangeur anionique en « canal » cationique requiert vraisemblablement un changement structural de la protéine qui peut être induit par l'une des mutations ponctuelles identifiées

comme le suggère l'impossibilité pour la protéine mutée de fixer un inhibiteur covalent spécifique des échangeurs anioniques.

Ces travaux mettent en évidence le rôle crucial de ce transporteur dans certaines anémies hémolytiques héréditaires et c'est, à notre connaissance, la première identification moléculaire d'un gène impliqué dans l'anomalie de perméabilité cationique des stomatocytoses héréditaires.

De plus, ce travail ouvre des perspectives intéressantes quant au rôle de la bande 3 dans les perméabilités cationiques qui apparaissent dans d'autres pathologies érythrocytaires comme l'anémie falciforme ou encore le paludisme. ♦

### Unexpected properties of red blood cell anion exchanger: the fish lesson

#### RÉFÉRENCES

1. Hamburger HJ. Über den Einfluss der Atmung auf die Permeabilität der Blutkörperchen. *Z Biol* 1891 ; 28 : 405.
2. Wieth JO, Andersen OS, Brahm, J, et al. Chloride bicarbonate exchange in red blood cells: physiology of transport and chemical modification of binding sites. *Philos Trans R Soc London Ser B* 1982 ; 299 : 383-99.
3. Bamberg E, Passow H (eds). *The band 3 proteins: anion transporters, binding proteins and senescent antigens*. Progress in Cell Research. Amsterdam : Elsevier, 1992 : 1-358. 1992.
4. Fiévet B, Gabillat, N, Borgese, F, et al. Expression of band 3 anion exchanger induces chloride current and taurine transport : structure-function analysis. *EMBO J* 1995 ; 14 : 5158-69.
5. Guizouarn H, Gabillat, N, Motais R, et al. Multiple transport functions of a red blood cell anion exchanger, tAÉ1 : its role in cell volume regulation. *J. Physiol* 2001 ; 535 : 497-506.
6. Guizouarn H, Motais R. Swelling activation of transport pathways in erythrocytes: effects of  $\text{Cl}^-$ , ionic strength and volume changes. *Am J Physiol* 1999 ; 276 : C210-20.
7. Delaunay J. The hereditary stomatocytoses : genetic disorders of the red cell membrane permeability to monovalent cations. *Sem Hematol* 2004 ; 41 : 165-72.
8. Stewart GW. Hemolytic disease due to membrane ion channel disorders. *Curr Opin Hematol* 2004 ; 4 : 244-50.
9. Jarolim P, Murray JL, Rubin HL, et al. Characterization of 13 novel band 3 gene defects in hereditary spherocytosis with band 3 deficiency. *Blood* 1996 ; 88 : 4366-74.
10. Bruce LJ, Robinson HC, Guizouarn H, et al. Monovalent cation leaks in human red cells caused by single amino-acid substitutions in the transport domain of the band 3 chloride-bicarbonate exchanger, AÉ1. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 1258-63.

## Connexines, rénine et hypertension

Jacques-Antoine Haefliger, Paolo Meda

Le fonctionnement des organismes multicellulaires repose sur un système complexe de communication, permettant aux cellules d'interagir de manière coordonnée entre elles et avec leur environnement. Cette organisation repose, entre autres, sur un mode de communication direct, les jonctions communicantes appelées jonctions *gap*. Ce sont des canaux intercellulaires mettant en contact le cytoplasme de deux cellules voisines. Un canal est constitué par l'assemblage de deux demi-canaux appelés connexons, fournis chacun par l'une des deux cellules adjacentes. Chaque connexon résulte de l'association de six protéines, les connexines (Cxs), qui s'assemblent en délimitant un pore hydrophile. Les connexines constituent une famille multigénique dont les membres présentent une forte homologie, sauf au niveau de la boucle intracellulaire et de la terminaison carboxyle, qui diffèrent en longueur et séquence d'une connexine à l'autre. Ces variations confèrent aux jonctions communicantes des propriétés de conductance et de perméabilité différentes selon les connexines qui les composent. Elles permettent aussi de classer les connexines selon une nomenclature dérivée de leur poids moléculaire (de la plus petite de 23 kDa ou Cx23, à la plus grande de 62 kDa ou Cx62). Le génome des mammifères contient 21 gènes codant une connexine. Toutes les connexines ont une séquence, une structure tertiaire et une topographie intramembranaire similaires [1]. Au niveau des jonctions communicantes, les connexines de deux cellules s'apparient pour former des canaux membranaires qui mettent en communication le cytoplasme d'une cellule avec celui de la cellule adjacente, ce qui permet des échanges intercellulaires

d'ions et de petites molécules cytosoliques [2]. Selon le type de connexine, ce passage est plus ou moins important et sélectif. Par exemple, les canaux formés par la Cx43 ont des propriétés très différentes de ceux formés par la Cx32 [1, 3]. La présence des connexines dans quasiment tous les tissus de tous les organismes vivants suggère un rôle fondamental dans la coordination de populations multicellulaires. L'analyse de différents modèles cellulaires et animaux a en effet montré que la mutation, la suppression ou la surexpression de connexines spécifiques modifient de nombreuses fonctions cellulaires, y compris la sécrétion de diverses hormones [4]. L'importance de cette régulation est suggérée par l'identification d'un nombre croissant de maladies humaines dues à des connexines [5]. En clinique, les causes de l'hypertension artérielle restent obscures dans la plupart des cas. Des études récentes indiquent que les connexines sont importantes dans le contrôle de la tension artérielle au niveau de l'appareil juxta-glomérulaire du rein, un ensemble de divers types cellulaires qui interagissent les uns avec les autres pour évaluer la concentration de Na<sup>+</sup>, ainsi que le débit et la pression sanguine, dans le cortex rénal. En fonction de ces paramètres, l'appareil juxta-glomérulaire règle la sécrétion de rénine, une hormone qui, en activant le système angiotensine, régule la pression sanguine [6, 7]. Cela implique une coordination précise des cellules de l'artériole afférente de l'appareil juxta-glomérulaire qui, *in situ*, sont couplées par les Cx40, Cx37 et Cx43 [8]. Pour évaluer l'influence de ces protéines dans le contrôle de la tension artérielle, nous avons pratiqué

chez des rongeurs un rétrécissement chirurgical d'une artère rénale qui, en diminuant la perfusion du rein, entraîne une augmentation de la sécrétion de rénine et une hypertension analogues à celles observées chez des patients présentant une sténose de l'artère rénale. À terme, les animaux chroniquement hypertendus développent, comme les patients, une hypertrophie compensatoire du myocarde. Nous avons observé une augmentation des Cx40 et Cx43 dans la paroi aortique des animaux hypertendus [6, 9, 10]. Partant de l'hypothèse que la Cx43 est indispensable pour adapter la paroi artérielle aux conditions hémodynamiques imposées par l'hypertension [8], nous avons étudié des souris transgéniques (KI32) dans lesquelles la Cx43 est remplacée par la Cx32 [3]. Le promoteur natif de la Cx43 étant préservé chez ces souris, l'expression de la Cx32 s'y fait en lieu et place de la Cx43 native, notamment au niveau des vaisseaux du cortex rénal et du myocarde (Figure 1). Les animaux homozygotes, chez lesquels ce remplacement est complet, ont montré une tension artérielle normale et comparable à celle de la fratrie hétérozygote, coexprimant la Cx43 et la Cx32, et de la fratrie sauvage, n'exprimant pas la Cx32 au niveau du système cardio-vasculaire (Figure 1). Après rétrécissement d'une artère rénale, les animaux sauvages et hétérozygotes sont devenus hypertendus et ont montré l'augmentation attendue de la rénine circulante et du volume du myocarde. Étonnamment, la fratrie homozygote maintient des taux de rénine plasmatiques bas qui permettent à ces animaux de rester normotendus [3].

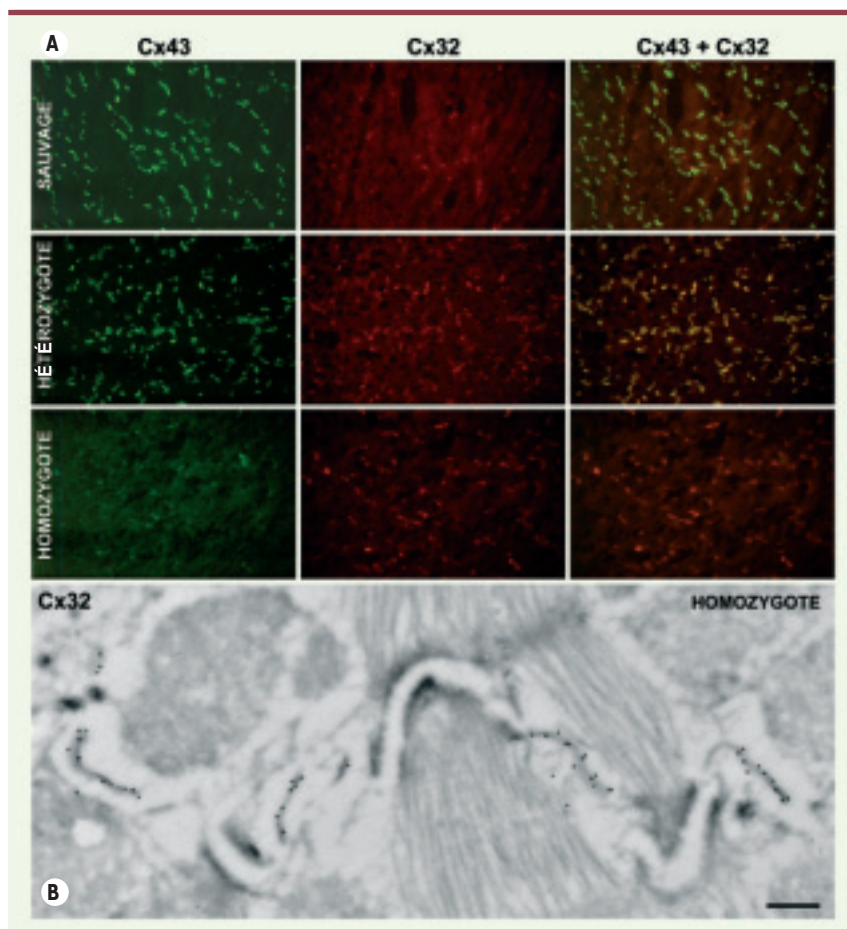
J.A. Haefliger : Département de Médecine, Faculté de Biologie et Médecine, Université de Lausanne, CHUV, 1011 Lausanne, Suisse.

[Jacques-Antoine.Haefliger@chuv.ch](mailto:Jacques-Antoine.Haefliger@chuv.ch)

P. Meda : Département de Physiologie Cellulaire et Métabolisme, Faculté de Médecine, Université de Genève, CMU, 1211 Genève 4, Suisse.

[Paolo.Meda@medecine.unige.ch](mailto:Paolo.Meda@medecine.unige.ch)





**Figure 1.** La Cx32 remplace la Cx43 dans le myocarde des souris K132. **A.** L'immunofluorescence révèle la Cx43 au niveau des jonctions *gap* du myocarde des souris de type sauvage. Cette protéine est colocalisée avec la Cx32 dans le myocarde de la fratrie hétérozygote. Chez les animaux homozygotes, seule la Cx32 est exprimée au niveau des traits scalariformes. **B.** La microscopie électronique confirme qu'au niveau de ces structures, la Cx32 est restreinte aux jonctions de type *gap*. Barre de grossissement : 50  $\mu$ m (A) et 250 nm (B).

Le mécanisme responsable de cet effet doit encore être élucidé. L'hypothèse est que le remplacement de la Cx43 par la Cx32 perturbe la perception par les

endothéliales du rein des changements de pression artérielle engendrés dans le rein sténosé. La Cx32, ayant des propriétés différentes de la Cx43, ne peut pas trans-

mettre les informations chargées d'activer les mécanismes assurant la stimulation de la sécrétion de la rénine [4].

En montrant l'implication des connexines dans le fonctionnement des cellules à rénine, ces travaux élucident l'un des mécanismes qui prédispose à l'hypertension artérielle et à ses conséquences chroniques. Ils laissent espérer que des agents pharmacologiques agissant sur les connexines pourraient permettre une prise en charge plus ciblée de cette affection courante.  $\diamond$

### Connexins, renin and hypertension

### RÉFÉRENCES

1. Sohl G, Willecke K. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc Res* 2004 ; 62 : 228-32.
2. Meda P. Connexines, canaux jonctionnels et communications cellulaires. *Med Sci (Paris)* 1996 ; 12 : 909-20.
3. Haefliger JA, Krattinger N, Martin D, et al. Connexin43-dependent mechanism modulates renin secretion and hypertension. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 405-13.
4. Michon L, Nlend Nlend R, Bavarian S, et al. Involvement of gap junctional communication in secretion. *Biochim Biophys Acta* 2005 ; 1719 : 82-101.
5. Allagnat F, Krattinger N, Nicod P, et al. Gap functions and diseases. *Rev Med Suisse* 2005 ; 1 : 1126-32.
6. Haefliger JA, Demotz S, Braissant O, et al. Connexins 40 and 43 are differentially regulated within the kidneys of rats with renovascular hypertension. *Kidney Int* 2001 ; 60 : 190-201.
7. Zhang J, Hill CE. Differential connexin expression in preglomerular and postglomerular vasculature: accentuation during diabetes. *Kidney Int* 2005 ; 68 : 1171-85.
8. Haefliger JA, Nicod P, Meda P. Contribution of connexins to the function of the vascular wall. *Cardiovasc Res* 2004 ; 62 : 345-56.
9. Haefliger JA, Castillo E, Waerber G, et al. Hypertension increases connexin43 in a tissue-specific manner. *Circulation* 1997 ; 95 : 1007-1014.
10. Haefliger JA, Meda P, Formenton A, et al. Aortic connexin43 is decreased during hypertension induced by inhibition of nitric oxide synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999 ; 19 : 1615-22.



Tarifs d'abonnement M/S - 2006

**Abonnez-vous  
à Médecine/Sciences**

> Depuis 20 ans, grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement  
page 791 dans ce numéro de m/s



## La fée Nanog ou le retour dans les limbes

Laure Coulombel



► Dès 1961, la possibilité de fusion spontanée entre des cellules de mammifères était connue [1] et, en 1976, la revue *Cell* décrivait la formation d'hybrides entre des cellules de tétrocarcinomes et des thymocytes ou des érythroblastes adultes [2]. À l'époque, la question était celle de l'extinction du potentiel pluripotent par un génome diploïde adulte. Aujourd'hui, elle est inverse : des noyaux somatiques adultes peuvent-ils ré-acquérir un potentiel de cellules pluripotentes de type embryonnaire par leur fusion avec des cellules ES ? L'alternative étant le transfert de noyaux somatiques dans des ovocytes énucléés. L'enjeu est donc scientifique mais aussi « politique ». Le groupe d'Austin Smith avait montré en 2002 la faisabilité de cette stratégie chez la souris [3], les hybrides tétraploïdes formés étant dotés de l'éventail des propriétés de cellules ES. Des résultats similaires ont été publiés en 2005 avec des cellules humaines [4]. Les hybrides se comportent comme des cellules ES et perdent leurs attributs de cellules adultes comme en attestent leur comportement en culture et la reprogrammation génétique des noyaux somatiques, authentifiée par la perte des marqueurs d'inactivation d'un des deux chromosomes X dans les cellules somatiques XX, ou l'activation de gènes déterminant le statut pluripotent des cellules ES et normalement éteints dans les cellules adultes, ou, plus rarement, la contribution à un tissu après leur injection dans un blastocyste réimplanté ensuite *in vivo*. Ainsi, très rapidement après leur fusion, les noyaux somatiques activent le promoteur *Oct-4* qui contrôle l'expression d'un gène indicateur (*GFP* ou

résistance à un antibiotique). Ce même groupe d'Austin Smith révèle dans *Nature* le rôle primordial (mais pas suffisant) de la protéine Nanog dans ce processus de reprogrammation des noyaux somatiques adultes [5]. Nanog est, avec *Oct-4* et *Sox2*, l'une des trois protéines assurant le maintien épigénétique de l'état pluripotent des cellules ES, par une orchestration subtile de répres-

(→) *m/s* 2003, n° 8-9, p. 798

seurs (→).

Trois éléments semblent essentiels à la reprogrammation « embryonnaire » des noyaux somatiques dans les hétérocaryons : en premier lieu, la concentration de la protéine Nanog dans la cellule ES. Le nombre d'hétérocaryons viables est très augmenté si l'on utilise des cellules ES surexprimant Nanog, mais Nanog n'est cependant pas suffisante pour reprogrammer à elle seule une cellule somatique, et le contexte cellulaire de la cellule ES est requis. Les deux autres paramètres concernent le cycle cellulaire et le statut ontogénique de la cellule somatique utilisée comme partenaire de fusion : les cellules de neurosphères, proliférant activement, sont plus efficaces que les thymocytes, eux-mêmes supérieurs aux fibroblastes. On constate les mêmes différences dans l'efficacité de la reprogrammation après transfert de ces noyaux somatiques dans des ovocytes. Lorsqu'on éteint Nanog (élimination de la cassette *Nanog-lox* par *cre*), les hybrides enclenchent un processus de différenciation dans les lignées mésodermiques, endodermiques et ectodermiques, comme le font des cellules ES sevrées de leur milieu d'amplification. Une fusion réussie reste

Inserm U602, Hôpital Paul Brousse,  
12, avenue Paul Vaillant Couturier,  
94817 Villejuif Cedex, France.  
[laure.coulombel@wanadoo.fr](mailto:laure.coulombel@wanadoo.fr)

cependant un événement rare et, pour de multiples raisons, 96 % des hétérocaryons formés (fréquence de  $1 \times 10^{-5}$  ou  $1 \times 10^{-4}$ ) ne survivent pas. Le défi est maintenant de trouver quelle combinaison de molécules peut reprogrammer une cellule somatique sans la contrainte d'une étape d'hétérocaryon tétraploïde, instable et sans avenir thérapeutique. Duel américano-Japonais ? Une équipe japonaise a récemment montré (congrès ISCS, Toronto, Canada<sup>1</sup>) que la transfection de quatre ADNc dans des kératinocytes murins adultes leur conférait toutes les propriétés de cellules ES [6]... Ils ont donné trois noms, *Oct4*, *Sox2*, *Myc*, gardant secret celui du quatrième larron, mais il est peu probable que ce soit Nanog. Les paris sont lancés... ♦

### Nanog and the magic wand

### RÉFÉRENCES

1. Sorieul S, Ephrussi B. Karyological demonstration of hybridization of mammalian cells *in vitro*. *Nature* 1961 ; 190 : 653-4.
2. Miller RA, Ruddle F. Pluripotent teratocarcinoma-thymus somatic cell hybrids. *Cell* 1976 ; 9 : 45-55.
3. Ying QL, Nichols J, Evans CP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002 ; 416 : 545-8.
4. Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005 ; 309 : 1369-73.
5. Silva J, Chambers I, Pollard S, Smith A. Nanog promotes transfer of pluripotency after cell fusion. *Nature* 2006 ; 441 : 997-1001.

### NOTE AJOUTÉE AUX ÉPREUVES

Le suspense vient d'être levé dans *Cell*... voir Brèves « Des cellules en état de crise identitaire... », page 835 de ce numéro.

<sup>1</sup> *International Stem Cell Society*, juin 2006.