

Le cœur moléculaire de la fonction de la niche des cellules souches hématopoïétiques

Pierre Charbord^{1,3}, Thierry Jaffredo^{2,3}, Charles Durand^{2,3}

► Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont localisées chez l'adulte dans la moelle osseuse. Du fait de leurs propriétés d'autorenouvellement et de différenciation, les CSH sont responsables de la production continue des différentes lignées de cellules sanguines. Les CSH constituent non seulement un modèle d'exception pour l'étude de la biologie des cellules souches, mais elles ont aussi un intérêt thérapeutique de premier plan puisqu'elles sont utilisées depuis des décennies en transplantation pour le traitement de maladies du système sanguin telles que les leucémies. L'autorenouvellement et la différenciation vers les lignages hématopoïétiques des CSH sont intimement régulés par des cellules dites stromales, qui constituent un microenvironnement, encore appelé niche, dans lequel résident les CSH¹. Ainsi, comprendre la diversité cellulaire et la complexité moléculaire de la niche des CSH constitue un enjeu essentiel tant en biologie fondamentale qu'en médecine régénérative.

État de l'art sur la niche des CSH

Les premières CSH naissent dans l'embryon au niveau de l'aorte dorsale *via* un processus, conservé au cours de l'évolution des vertébrés, impliquant la transition de cellules endo-

théliales spécialisées dites hémogéniques en cellules hématopoïétiques [1, 2, 15] (→). Les CSH migrent ensuite dans le foie fœtal où elles s'amplifient

activement, et finalement colonisent la moelle des os où elles seront maintenues tout au long de la vie chez l'adulte [3]. Ainsi, au cours du développement, les CSH résident dans des microenvironnements distincts assurant successivement leur production, leur amplification et leur maintenance.

D'un point de vue historique, la mise au point de systèmes de culture *in vitro* de cellules mésenchymateuses primaires, puis l'établissement de lignées de cellules stromales issues de différents sites hématopoïétiques, ont joué un rôle essentiel dans notre compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans le contrôle de l'hématopoïèse [4]. Plus récemment, des avancées significatives sur la nature de la niche médullaire *in vivo* ont été réalisées, notamment grâce à la combinaison d'approches de transgénèse conditionnelle chez la souris, au développement de techniques d'imagerie et à l'utilisation de tests biologiques appropriés pour identifier fonctionnellement les cellules souches et/ou progéniteurs hématopoïétiques [5]. Ces études ont montré que les CSH sont étroitement associées aux vaisseaux sanguins de la moelle osseuse (sinusoïdes et artérioles) ; elles ont aussi révélé le rôle essentiel joué par les cellules endothéliales et les cellules périavasculaires (telles que les cellules exprimant le récepteur de la lep-

¹Inserm U972, bâtiment Gregory Pincus, hôpital de Bicêtre, 80, avenue du Général Leclerc, 94276 Le Kremlin Bicêtre Cedex, France ;

²Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06, Institut de biologie Paris-Seine (IBPS), UMR 7622, laboratoire de biologie du développement, 75005 Paris, France ;

³CNRS, UMR 7622, Inserm U1156, IBPS, laboratoire de biologie du développement, 75005 Paris, France.

pierre.charbord@inserm.fr

thierry.jaffredo@upmc.fr

charles.durand@upmc.fr

tine LepR⁺, les péricytes et les cellules vasculaires musculaires lisses générées par les cellules souches mésenchymateuses) dans le maintien des CSH [6-10]. Le système nerveux sympathique et des facteurs physicochimiques tels que le taux d'oxygène apparaissent également comme des constituants importants de la niche des CSH dans la moelle osseuse. Sur le plan moléculaire, il est maintenant bien établi que la régulation des CSH met en jeu des facteurs extrinsèques incluant des cytokines (KITL, thrombopoïétine), des chémokines (CXCL12), des composants de la matrice extracellulaire (le collagène de type 1a [Col1a1], la périostine [Postn], *secreted phosphoprotein 1* [Spp1]) et des voies de signalisation impliquées dans de multiples processus développementaux et pathologiques (Wnt, Hh [hedgehog] et Notch) [11]. Néanmoins, si des molécules clés de la régulation des CSH ont été identifiées, une représentation intégrée du contrôle moléculaire faisait encore défaut.

Développement d'une nouvelle méthode d'exploration pour extraire le cœur moléculaire de la fonction stromale

Afin d'identifier une signature moléculaire qui puisse être représentative et prédictive du rôle de support des cellules stromales vis-à-vis des CSH, nous avons mis au point une nouvelle approche de biologie intégrative combinant des études de transcriptomique à haut débit

¹ Voir à ce propos le numéro thématique de *médecine/sciences* consacré aux « cellules souches mésenchymateuses » et publié en mars 2012.

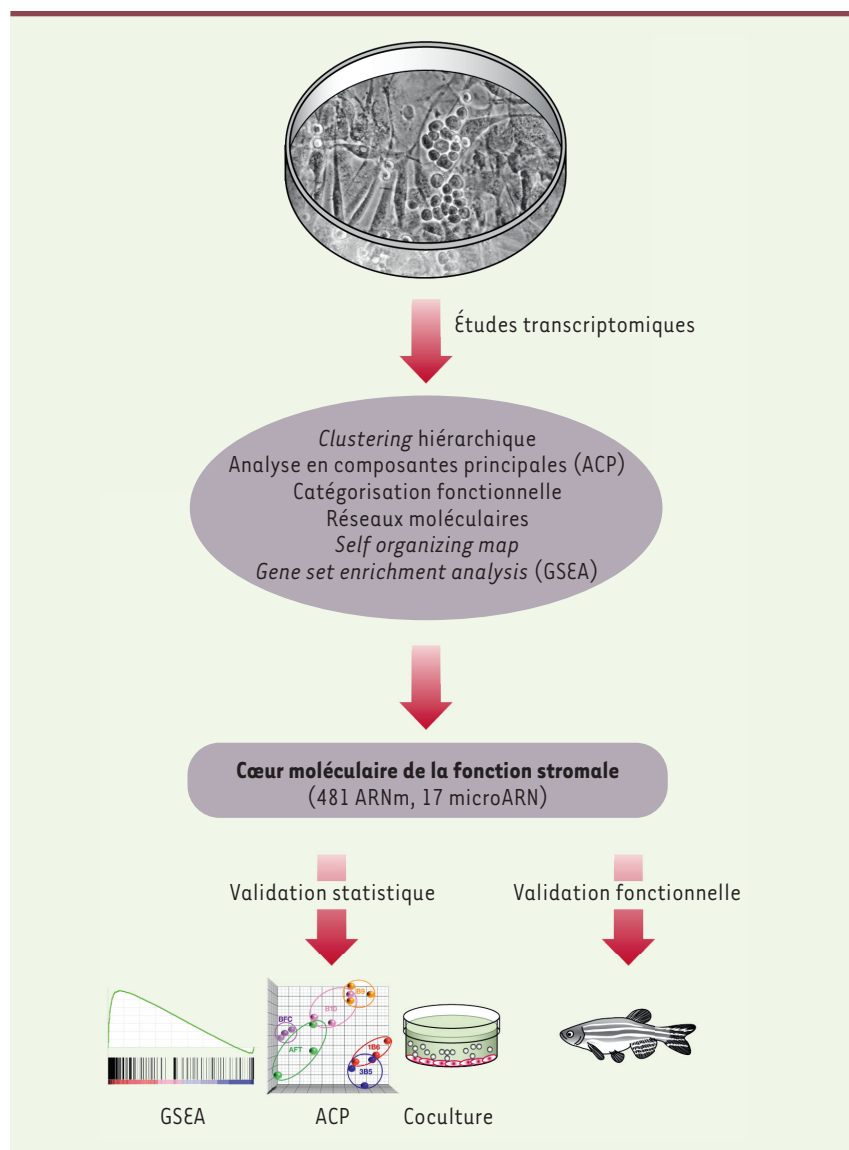


Figure 1. Une nouvelle approche expérimentale pour extraire le cœur moléculaire de la fonction stromale. Cette approche est basée sur l'analyse du transcriptome de lignées de cellules stromales ayant une action de support différentielle vis-à-vis des cellules souches et/ou des progéniteurs hématopoïétiques. Cette capacité des cellules stromales est illustrée ici par la présence de cellules hématopoïétiques d'aspect charbonneux enchâssées sous les cellules stromales adhérentes. La comparaison du profil d'expression génique des différentes lignées stromales, combinée à différentes méthodes bioinformatiques et statistiques, ont permis d'isoler une signature moléculaire constituée de 481 ARNm et 17 microARN et représentative de la fonction stromale. L'analyse d'échantillons biologiques non initialement inclus dans notre étude et la mise au point d'un système de coculture de cellules stromales et de populations cellulaires de moelle osseuse enrichies en cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques ont permis de tester la valeur prédictive de cet ensemble d'ARNm. De nouveaux régulateurs des CSH ont aussi pu être identifiés par des approches de perte de fonction chez l'embryon de poisson zèbre.

(ARNm et microARN) et des analyses bioinformatiques et statistiques complémentaires [12] (Figure 1). Nous avons

débuté ce travail avec des lignées de cellules stromales issues des sites principaux de l'hématopoïèse (la région

aorte-gonade-mésonephros [AGM], le foie fœtal et la moelle osseuse) et différenciant dans leur capacité de support des cellules souches et/ou des progéniteurs hématopoïétiques *ex vivo*. En effet, si certaines lignées expriment de façon robuste une telle capacité, d'autres sont moins efficaces. Nous avons émis l'hypothèse que les gènes essentiels pour cette fonction de support d'origine stromale devraient être exprimés au moins dans deux des trois sites hématopoïétiques. Cette approche nous a ainsi conduits à identifier une liste de 481 ARNm et 17 microARN différentiellement exprimés par les cellules stromales. La méthode WGCNA (*weighted gene correlation network analysis*) développée par Steve Horvath, qui permet de reconstruire des réseaux de régulation sur la base de la corrélation de l'expression des gènes [13, 14], nous a permis d'établir pour la première fois, à partir de la liste de 481 ARNm, un réseau génique composé de plusieurs modules corrélés ou anti-corrélés à la fonction de support des CSH. Nous avons pu montrer que cet ensemble de gènes non seulement regroupait les fonctions biologiques associées au soutien des CSH et actives dans les différents sites hématopoïétiques (telles que la communication cellulaire et le remodelage de la matrice extracellulaire), mais également permettait de prédire la capacité de support de cellules stromales primaires et de lignées cellulaires que nous n'avions pas initialement incluses dans notre étude. Une caractéristique importante de cette liste de 481 ARNm est qu'elle contient de nombreux régulateurs connus de l'hématopoïèse, mais aussi un grand nombre de nouveaux candidats. Nous avons pu valider fonctionnellement le rôle de certains d'entre eux. En effet, grâce à une collaboration étroite avec l'équipe de David Traver (*University of California, San Diego, États-Unis*), des expériences de perte de fonction chez l'embryon de poisson zèbre ont révélé le rôle clé de nouvelles molécules dans la régulation des CSH au cours du développement [12].

Perspectives

Cette étude nous a donc permis d'extraire le cœur moléculaire de la fonction stromale. Ces nouvelles données permettent ainsi de mieux comprendre et d'intégrer les mécanismes moléculaires impliqués dans le maintien des propriétés des CSH. Elles ouvrent aussi de nouvelles perspectives en médecine régénératrice, notamment dans la modélisation de la niche des CSH *ex vivo*, ce qui permettrait ainsi d'optimiser les protocoles visant à produire et/ou amplifier des CSH à partir de cellules souches pluripotentes. Par ailleurs, ce travail conforte la notion ancienne, mais récemment réactivée par l'étude du stroma des tumeurs, selon laquelle les interactions entre cellules stromales et CSH sont bidirectionnelles, le stroma qui contrôle l'activité des CSH étant lui-même éduqué par les CSH (normales ou pathologiques). Aussi, comprendre la dynamique du dialogue moléculaire entre les CSH et leur niche dans des contextes physiologiques ou leucémiques pourrait permettre des avancées

majeures en hématologie et en cancérologie dans un futur proche. ♦

Extracting the molecular core of the hematopoietic stem cell niche

LIENS D'INTÉRÊT

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

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Sophie Gournet (Institut de biologie Paris Seine, UMR 7622, Paris) pour son aide précieuse dans la préparation de la Figure 1. Cette étude a bénéficié du soutien financier de l'Agence nationale pour la recherche (ANR/CIRM 0001-02).

RÉFÉRENCES

1. Drevon C, Richard C, Lempereur A, et al. Dialogue inter-tissulaire et modulation de la voie Notch contrôlent l'induction de l'hématopoïèse aortique. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 946-8.
2. Boisset JC, Robin C. Origine endothéliale des cellules souches hématopoïétiques. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 875-81.
3. Medvinsky A, Rybtsov S, Taoudi S. Embryonic origin of the adult hematopoietic system: advances and questions. *Development* 2011 ; 138 : 1017-31.
4. Charbord P, Casteilla L. La biologie des cellules souches mésenchymateuses d'origine humaine. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 261-7.
5. Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature* 2014 ; 505 : 327-34.
6. Ding L, Morrison SJ. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature* 2013 ; 495 : 231-5.
7. Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature* 2012 ; 481 : 457-62.
8. Kunisaki Y, Bruns I, Scheiermann C, et al. Arterial niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. *Nature* 2013 ; 502 : 637-43.
9. Mendez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010 ; 466 : 829-34.
10. Lataillade JJ, Brunet de la Grange P, Uzan G, Le Bousse-Kerdiles MC. Les cellules souches ont-elles l'âge de leur niche ? *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 582-5.
11. Morrison SJ, Spradling AC. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell* 2008 ; 132 : 598-611.
12. Charbord P, Pouget C, Binder H, et al. A systems biology approach for defining the molecular framework of the hematopoietic stem cell niche. *Cell Stem Cell* 2014 ; 15 : 376-91.
13. Langfelder P, Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 2008 ; 9 : 559.
14. Horvath S. *Weighted network analysis. Applications in genomics and systems biology*. New York : Springer, 2011.
15. Pouget C, Kobayashi I. Le somite : l'organe central de l'hématopoïèse aortique. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 25-7.

First European Meeting on Bone Marrow Adiposity (1^{re} réunion européenne sur l'adiposité médullaire)

28-29 août 2015

Faculté dentaire, Lille, France

*Adiposité médullaire et son environnement
Caractérisation et imagerie, physiopathologie et perspectives thérapeutiques*

Site : <http://bma2015.sciencesconf.org/>



Contacts :

Pierre Hardouin, M.D., Ph.D.
Physiopathologie des Maladies Osseuses
Inflammatoires, Lille 2, ULCO, IFR 114
E-mail : pierre.hardouin@univ-littoral.fr

Pierre J. Marie, Ph.D., D.Sc.
UMR-1132 Inserm et Université Paris Diderot,
Sorbonne Paris Cité
E-mail : pierre.marie@inserm.fr