

contrôle de la mitose. Comme récemment démontré avec la voie EGF/EGFR (*epidermal growth factor/receptor*) [14], ces travaux mettent en exergue le rôle du microenvironnement cellulaire dans la coordination de la mitose. De fait, un milieu extracellulaire enrichi en S1P pourrait accélérer la mitose et conduire à des défauts de ségrégation chromosomique (Figure 1), pouvant favoriser l'aneuploidie. Il sera important d'analyser dans le futur les conséquences d'une ségrégation incorrecte des chromosomes induite par la S1P et d'évaluer le potentiel ciblage thérapeutique de cette voie de signalisation pour inhiber la prolifération tumorale. ♦

Sphingosine 1-phosphate as a new regulator of mitosis

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été soutenus par La Ligue Nationale Contre le Cancer (Comité 31).

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Leong WL, Saba JD. S1P metabolism in cancer and other pathological conditions. *Biochimie* 2010 ; 92 : 716-23.
2. Cuvillier O. Sphingosine in apoptosis signaling. *Biochim Biophys Acta* 2002 ; 1585 : 153-62.
3. Brizuela L, Ader I, Mazerolles C, et al. First evidence of sphingosine 1-phosphate lyase protein expression and activity downregulation in human neoplasm: implication for resistance to therapeutics in prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2012 ; 11 : 1841-51.
4. Cuvillier O. SphingomabTM, un anticorps anti-sphingosine 1-phosphate pour inhiber l'hypoxie. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 964-7.
5. Cuvillier O. Downregulating sphingosine kinase-1 for cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2008 ; 12 : 1009-20.
6. Cuvillier O. Récepteurs sphingosine 1-phosphate : de la biologie à la physiopathologie. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 951-7.
7. Torres EM, Williams BR, Amon A. Aneuploidy: cells losing their balance. *Genetics* 2008 ; 179 : 737-46.
8. Igarashi N, Okada T, Hayashi S, et al. Sphingosine kinase 2 is a nuclear protein and inhibits DNA synthesis. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 46832-9.
9. Kim DS, Kim SY, Kleuser B, et al. Sphingosine-1-phosphate inhibits human keratinocyte proliferation via Akt/protein kinase B inactivation. *Cell Signal* 2004 ; 16 : 89-95.
10. Kotelevets N, Fabbro D, Huwiler A, Zangemeister-Wittke U. Targeting sphingosine kinase 1 in carcinoma cells decreases proliferation and survival by compromising PKC activity and cytokinesis. *PLoS One* 2012 ; 7 : e39209.
11. Andrieu G, Ledoux A, Branka S, et al. Sphingosine 1-phosphate signaling through its receptor S1P5 promotes chromosome segregation and mitotic progression. *Sci Signal* 2017 ; 10.
12. Brizuela L, Martin C, Jeannot P, et al. Osteoblast-derived sphingosine 1-phosphate to induce proliferation and confer resistance to therapeutics to bone metastasis-derived prostate cancer cells. *Mol Oncol* 2014 ; 8 : 1181-95.
13. Kasahara K, Goto H, Izawa I, et al. PI 3-kinase-dependent phosphorylation of Plk1-Ser99 promotes association with 14-3-3gamma and is required for metaphase-anaphase transition. *Nat Commun* 2013 ; 4 : 1882.
14. Mardin BR, Isokane M, Cosenza MR, et al. EGF-induced centrosome separation promotes mitotic progression and cell survival. *Dev Cell* 2013 ; 25 : 229-40.

NOUVELLE

Vésicules extracellulaires stromales et régulation des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques

Grégoire Stik^{1,2}, Laurence Petit¹, Pierre Charbord¹, Thierry Jaffredo¹, Charles Durand¹

¹Sorbonne université, UPMC université Paris 06, institut de biologie Paris-Seine (IBPS), CNRS UMR7622, Inserm U1156, laboratoire de biologie du développement, 9, quai Saint-Bernard, 75005 Paris, France.

²Adresse actuelle : CRG, PRBB, 08003, Barcelona, Espagne. charles.durand@upmc.fr

> Les cellules souches hématopoïétiques (CSH), localisées chez l'adulte dans la moelle osseuse, sont responsables du renouvellement continu des différentes populations de cellules sanguines. Les CSH sont intimement régulées par des cellules stromales qui constituent un microenvironnement (ou niche) essentiel à leur survie et leur auto-renouvellement. Actuellement, la caractérisation cellulaire de la niche médullaire des CSH fait l'objet d'intenses investigations. Sur

le plan moléculaire, le dialogue entre CSH et cellules de leur microenvironnement met notamment en jeu des molécules de signalisation (facteurs de croissance, cytokines, chimiokines et morphogènes) et des molécules d'adhérence cellulaire et de remodelage par synthèse et dégradation de la matrice extracellulaire. Comprendre la complexité du dialogue entre les CSH et leur niche représente donc un enjeu essentiel dans le domaine de la biologie des cellules souches et de

la médecine régénératrice compte tenu des applications importantes en thérapie cellulaire.

Les CSH et leur microenvironnement

L'élément cellulaire clé de la niche médullaire est la cellule stromale mésenchymateuse (CSM) qui établit avec les CSH une interface privilégiée au sein de la moelle osseuse. Ainsi, les CSM positives pour la nestine (nestine⁺), capables de s'auto-renouveler et de

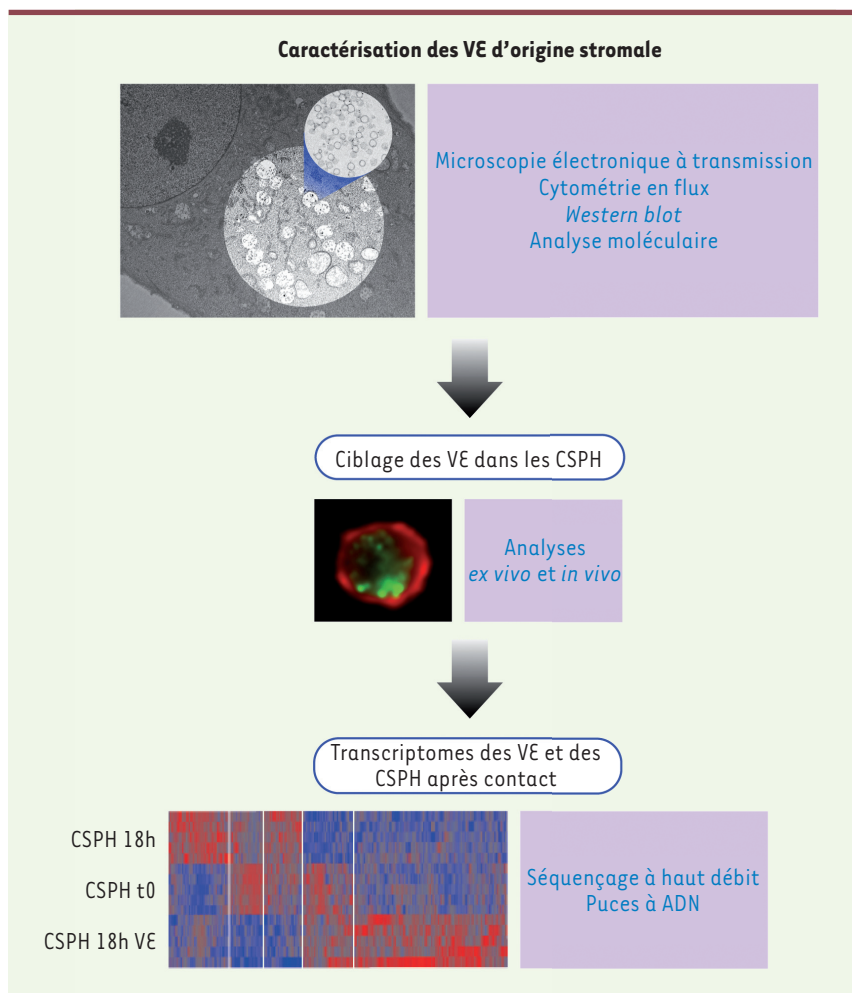


Figure 1. Caractérisation des vésicules extracellulaires d'origine stromale. Diverses approches expérimentales (la microscopie électronique à transmission, la cytométrie en flux, le *western blot* et l'analyse du contenu moléculaire) ont permis de montrer que les cellules stromales sécrètent des vésicules extracellulaires (VE). L'image du haut illustre le cytoplasme des cellules stromales soutenant de façon efficace les cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques (CSPH). Un agrandissement des corps multi-vésiculaires révèle la présence de vésicules de plus petite taille. Les VE sont capturées par les CSH *ex vivo* et *in vivo*. Dans l'image centrale, les VE ont été marquées avec un composé fluorescent (vert) et les CSH sont reconnus à l'aide d'un anticorps monoclonal qui marque leur membrane plasmique (en rouge). Des approches à haut débit montrent que les VE, dont la signature génétique est complexe, influencent le profil d'expression génique des CSH. L'image en bas représente le profil d'expression, révélé par hybridation de puces à ADN, des CSH après purification (CSPH t0) ou après 18 heures de culture en l'absence (CSPH 18h) ou en présence (CSPH 18h VE) des VE produites par les cellules stromales supportrices.

donner naissance à plusieurs types de cellules mésenchymateuses, sont physiologiquement associées aux CSH. Leur déplétion entraîne une diminution importante du nombre de CSH dans la moelle osseuse [1]. Les dérivés des CSM, tels que les ostéoblastes, les cellules endo-

théliales et les péricytes, sont également des composants essentiels de la niche médullaire (définissant respectivement une niche endostéale et une niche péri-vasculaire) [2]. Il est important de noter que la niche des CSH apparaît d'une grande complexité

dans la mesure où divers types cellulaires, incluant les cellules de Schwann non myélinisées, les macrophages et les mégacaryocytes, les cellules T régulatrices et les ostéoclastes, ont été décrits comme jouant un rôle de premier plan dans le contrôle des CSH [3]. À cette régulation locale s'ajoute, par ailleurs, une régulation systémique. En effet, les rythmes circadiens, le système nerveux sympathique et des hormones telles que les glucocorticoïdes, influencent également de façon critique la biologie des CSH et leur mobilisation dans le sang. De nombreuses études utilisant des lignées de souris génétiquement modifiées et des tests fonctionnels appropriés permettant de quantifier et d'analyser le potentiel des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques (CSPH) ont clairement souligné l'importance de la chimiokine CXCL12 (*C-X-C motif chemokine 12*) et de la cytokine SCF (*stem cell factor*) dans la régulation extrinsèque des CSH chez l'adulte. Plus récemment, nous avons développé une approche inspirée de la biologie des systèmes pour extraire le cœur moléculaire de la fonction stromale [4] (→).

La comparaison du profil d'expression génique de lignées de cellules stromales murines différant dans leur capacité à soutenir *ex vivo* des CSH nous a permis d'isoler un ensemble de gènes (inférieur à 500) dont nous avons pu montrer qu'il était à la fois représentatif et prédictif de la fonction de soutien des CSH [5].

Rôles des vésicules extracellulaires d'origine stromale

Les vésicules extracellulaires (VE) apparaissent aujourd'hui comme des médiateurs clés de la communication cellulaire à courte et longue distance dans des contextes aussi bien physiologiques que pathologiques [6]. Les VE sont délimitées par une bicouche lipidique. Elles peuvent contenir des protéines et différents types d'ARN codants et non

(→) Voir la Nouvelle de P. Charbord et al., *m/s* n° 1, janvier 2015, page 12

codants. Plusieurs types de VE ont été identifiés selon, principalement, leurs diamètres et leurs voies de biogenèse. Les microparticules sont le résultat de bourgeonnements à partir de la membrane plasmique. Les exosomes qui sont de plus petite taille et de diamètre inférieur à 150 nm, sont eux retrouvés à l'intérieur des cellules dans des corps multi-vésiculaires et sont libérés dans le milieu extracellulaire après fusion avec la membrane plasmique [6]. Tirant avantage de deux lignées de cellules stromales établies à partir du foie fœtal de souris et différant sur le plan fonctionnel dans leur capacité à soutenir les CSPH *ex vivo* (l'une de ces lignées présente une forte activité de soutien, l'autre en est dépourvue), nous avons récemment montré que ces cellules stromales contenaient de nombreux corps multi-vésiculaires et qu'elles sécrétaient des VE [7]. Nous avons observé que les CSPH exprimant les antigènes c-kit (*stem cell factor receptor*) et Sca-1 (*stem cell antigen-1*), et négatives pour l'expression des marqueurs de différenciation des lignages érythroïde, myéloïde et lymphoïde (*lineage negative*) capturaient spécifiquement les VE produites par les cellules stromales ayant une forte activité de soutien. Cette internalisation s'accompagne d'un maintien du potentiel clonogénique des

CSPH (probablement en empêchant les cellules ciblées par les VE de progresser vers l'apoptose) et modifie leur profil d'expression génique. Des expériences de séquençage à haut débit ont révélé, par ailleurs, que les VE exprimaient une signature moléculaire complexe différente de celle des cellules dont elles sont issues [7].

Perspectives

Cette étude, en accord avec de récents travaux sur le rôle des VE délivrées par les CSM [8, 9], révèle que les VE constituent un composant essentiel du dialogue entre les CSPH et les cellules de leur microenvironnement. Des analyses protéomiques sont actuellement menées pour tenter d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans l'adressage spécifique des VE vers les CSPH. Ces recherches pourraient permettre à terme de transférer dans les CSPH normales et leucémiques des molécules d'intérêt thérapeutique et/ou des facteurs permettant de les amplifier *ex vivo* à des fins de thérapie cellulaire. ◆

Regulation of hematopoietic stem and progenitor cells by stroma-derived extracellular vesicles

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 la Fondation pour la Recherche Médicale (DEQ20100318258) et de l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR/CIRM 0001-02).

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- 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.
- Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature* 2014 ; 505 : 327-34.
- Crane GM, Jeffery E, Morrison SJ. Adult haematopoietic stem cell niches. *Nat Rev Immunol* 2017 ; 17 : 573-90.
- Charbord P, Jaffredo T, Durand C. Le cœur moléculaire de la fonction de niche des cellules souches hématopoïétiques. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 12-4.
- 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.
- Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell* 2016 ; 164 : 1226-32.
- Stik G, Crequit S, Petit L, et al. Extracellular vesicles of stromal origin target and support hematopoietic stem and progenitor cells. *J Cell Biol* 2017 ; 216 : 2217-30.
- Wen S, Dooner M, Cheng Y, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles rescue radiation damage to murine marrow hematopoietic cells. *Leukemia* 2016 ; 30 : 2221-31.
- De Luca L, Trino S, Laurenzana I, et al. MiRNAs and piRNAs from bone marrow mesenchymal stem cell extracellular vesicles induce cell survival and inhibit cell differentiation of cord blood hematopoietic stem cells: a new insight in transplantation. *Oncotarget* 2016 ; 7 : 6676-92.

Bon de commande

À retourner à EDP Sciences, 109, avenue Aristide Briand - 92541 Montrouge Cedex
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Cancers de l'hypopharynx - Carcinomes épidermoïdes de la pyramide nasale** :
35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de **EDP Sciences**

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | | | |

