

RENOUVELLEMENT ET DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE.

I. Généralités.

1. Potentialités cellulaires.

Toutes les cellules ont hérités de la même information génétique → œuf fécondé.

Mais, les cellules ont différencié par l'expressivité de leurs gènes, pas par leur génome.

Pour la formation d'un individu, les cellules doivent devenir différenciées.

2. Régulation.

Développement embryonnaire: différenciation et croissance.

Le plus souvent (mammifères, oiseaux), la croissance s'arrête sauf poissons, crustacés, végétaux.

Si la croissance stoppe il faut assurer le renouvellement cellulaire et la prolifération cellulaire doit continuer mais avec un équilibre pour la mort cellulaire programmée (= apoptose).

3. Maintien de l'état différencié.

Mémoire cellulaire: mécanismes ?

Transmission héréditaire.

Adaptation de l'environnement mais restent déterminé.

II. Les cellules souches.

1. Définition.

Cellule non différenciée.

Capable de générer des cellules différenciées.

Deux cellules filles= une souche et une différenciée.

Auto-renouvellement: capacité illimitée de division cellulaire.

2. Fonctions.

Maintien de l'intégrité tissulaire.

3. Quatre types de cellules souches: CS.

3.1. CS unipotente → un seul type de cellule différenciée: les kératinocytes souches= CS adulte.

3.2. CS multipotentes → plusieurs types de cellules différenciées.

Cellules hématopoïétiques: CS adulte.

3.3. CS pluripotentes= CS embryonnaire= CSE (qui n'existe que chez embryon).

Blastocyte de 40 cellules (5e jour).

Peuvent se différencier en plus de 200 types de cellules différentes.
À l'origine de n'importe quelle cellule, de n'importe quel organe.
Mais peuvent être à l'origine de cancer si transplantation.

3.4. CS totipotentes: CSE.

4e jour → 8 cellules → un organisme.

4. Fabrication de chimères

4.1. Par fusion de deux embryons (N et B) au stade 8 cellules provenant de 4 parents différenciés et implantation dans mère adoptive= chimère NB normale et saine.

4.2 Par injection de CSE (← embryon B).

Cellules dans un embryon au stade 8 cellules et implantation dans mère adoptive= chimère normale et saine.

4.4 Si séparation dans CSE → tératome et implantation dans un milieu approprié "embryonnaire"= CSE qui gardent leur capacité de différenciation si réimplantation dans un embryon (chimère).

Ex: Une souris "Knock out" ou transgénique: implantation de CSE mutantes pour un gène: délétion ou insertion.

→ importance de l'environnement embryonnaire et des interactions entre les CSE dans le développement embryonnaire.

4.5 CSE disponibles dans les embryons surnuméraires mais c'est interdit par la loi française d'y toucher.

5. CS adultes.

-Multipotentes: capable de différencier en quelques types cellulaires.

-Unipotentes: faible nombre, difficulté de prélèvement.

6. Autorenewement des CS.

Cf cellules tumorales.

= activité télomérase +++ (longueur constante des chromosomes).

7. Facteurs de différenciation des CSE.

-nécessité de couches de fibroblastes nourriciers pour maintien état indifférencié des CSE.

-facteur(s) fibroblastique(s) ?? LIF (pas chez l'homme).

-facteur de transcription Got4: produit par embryon mais 8 cellules.

8. Dogme.

Existence dans chaque tissu post-natal de CS adultes (CSA) spécifiques multipotentes pour le maintien à long terme de cellules différenciées et fonctionnelles en quantité constante.

Différenciation dirigée spécifique d'un tissu et immuable.

Et dans certains organes, l'activité de ces CS cessait à l'âge adulte.

9. Remise en question du dogme.

Génération locale de cellules neuronales (par les CSA de l'hippocampe).

Par différenciation de cellules différenciées adultes en autres types tissulaires.

Ex: 1997, Dolly par introduction de noyaux de cellules spécialisées (glande mammaire) dans ovocyte → naissance d'un animal complet et sain = réversibilité d'un état différencié.

Ex: transplantation CSH (CSA).

Cellules épidermiques différenciées = capable de se dédifférencier en cellules souches pluripotentes.

(Lancet: 2001) sous l'influence du facteur des croissances épidermiques.

Recombinant humain: rEGF.

10. Hypothèses.

Plasticité et pluripotentialité des CSA.

OU

Persistance de CSE commune à plusieurs tissus dont le potentiel de différenciation serait réactivé en fonction de l'environnement cellulaire = CS universelle.

OU

Transdifférenciation.

11. Perspectives de recherche.

Caractériser les CSE ou A.

(marqueur):

-isolement: culture.

-optimisation: la transdifférenciation (régulation: 1-5+ chez la souris = insuffisant).

12. Application thérapeutiques.

Greffe de moëlle.

III. Prolifération cellulaire.

Nécessité de:

1. Facteur de croissance.

Culture cellule sur caillot sanguin.

Puis milieu reconstitué: vit, aa, glucose, mais toujours sérum.

FC non spécifique PDGF, EGF.

FC spé: EPO.

TGF β : +/-.

= synthèse protéique.

Croissance cellules (G0) différent de la prolifération cellulaire (G1).

Récepteurs transmembranaires.

Importance des signaux intracellulaire.

IV. Renouvellement tissulaire.

1. Tissu à cellule permanentes.

Multiplication suffisante pendant vie embryonnaire.

Ne semblent jamais se diviser pendant la vie adulte.

Non renouvellement si perte.

Espérance de vie très longue et milieux protégés.

Ex:

Cellules nerveuses.

Cellules musculaires du cœur.

Cellules auditives ciliées de l'oreille.

Cellules du cristallin.

2. Renouvellement par duplication.

À partir de cellules différenciées.

Vitesse de renouvellement variable.

Les hépatocytes:

La perte des cellules hépatiques stimule la prolifération.

Si - 2/3 du foie d'un rat → régénération.

Les cellules endothéliales.

Usure par le flux sanguin et réparation des tissus (apport O₂, et nutriments).

Mécanismes de l'angiogenèse: Bourgeonnement.

Les cellules endothéliales: la perte cellulaire stimule la prolifération.

Ex: les tumeurs.

Mésangiogenèse car dépendance ++ dans les cellules tumorales vis à vis des réseaux capillaires.

Densité vasculaire tumorale: facteur pronostique.

La néovascularisation permet l'accès dans les cellules tumorales à la circulation générale= métastase.

La tumeur initiale contrôle sa vascularisation.

Facteur angiogéniques: VEGF.

3. Renouvellement par fusion: muscle strié squelettique.

-Embryon: myoblastes. Cellules satellites= cellules musculaires souches adultes, situées au niveau basal, unipotente.

-Fusion des myoblastes.

Cellules musculaires:

-multinucléées= syncytium.

Allongées ++= fibres musculaires.

Plus de réplication de l'ADN.

-Mais synthèse protéique ++= différenciation en types cellulaires différents au sein du même muscle.

-Modulation de l'expression génique.

-Cellules musculaires rouges.

Myoglobine ++ (fixation d'O₂) à contraction lente, se fatigue peu, et résiste aux efforts prolongés: myosine ++.

-Cellules musculaires blanches.

Myosine -, myoglobine -, contraction rapide, se fatigue plus vite, adaptées aux mouvements rapide.

-Cellules intermédiaires.

Développement musculaire:

Par fusion de myoblastes, avant la naissance.

À partir des cellules musculaires différenciées: fusion des myoblastes avec cellules musculaires multinucléées= croissance en longueur.

Croissance en volume, par augmentation de la taille + nombre dans de myofibrilles contractiles musculaires.

-Réparation musculaire.

4. Renouvellement par cellules souches tissulaires adultes.

-Pluripotentes (CSH) ou unipotentes (épiderme, intestin, muscle,...).

-Non différenciées mais déterminées non identiques.

Souche → une souche + une fille.

V. Hématopoïèse.

C'est l'ensemble des mécanismes assurant le renouvellement des cellules sanguines.

Localisation: tissu médullaire.

-GR: 150 à 250x10⁹ GR/j.

1/2 vie de trois mois.

→ fixation d'O₂.

-Plaquettes: 75 à 150x10⁹ plaquettes/j.

1/2 vie de une semaine.

→ coagulation.

-GB: plusieurs dizaines de milliards/j.

1/2 vie courte.

-lutte anti-infectieuse.

Par qui? CSH pluripotentes.

B. Compartiments intra-médullaire= 3:

-CSH, CD34+ (qui permet de les isoler).

-Progéniteurs ou précurseurs: CFC ou CFU. Amplification.

-Cellules différenciées majoritaires.

C. Les CSH.

-0,01 à 0,05% des cellules médullaires.

-divisions rares.

-cellules filles souches + cellules filles qui va proliférer et se différencier.

-existent dans le sang périphérique. CD34+.

-CSH myéloïde et lymphoïde.

D. Les progéniteurs= précurseurs= CFC= CFU.

-divisions rapides et fréquentes (50% en cycle).

-capacité de former des colonies= CFU ou CFC.

-existent dans le sang périphérique.

-irréversiblement déterminées.

Les CFU mixtes= myéloïdes.

(Cellules souches myéloïdes?)

CFU-E → érythroblastes → érythrocytes → réticulocytes= GR.

CFU-MEG → plaquettes.

CFU-GM.

→ CFU-Mc → monocytes → macrophages.

→ CFU-G → PNN.

CFU-Baso → PNB → mastocytes.

CFU-Eo → PNE.

E. Les cellules différenciées.

Ne se divisent plus et durée de vie limitée.

Les GR ou érythrocytes.

Les plaquettes (= bourgeonnement des mégacaryocytes).

Les GB ou leucocytes:

-les granulocytes= PNN, PNB, PNE.

-les monocytes → macrophages.

-LT-LB.

F. Facteurs de croissance hématopoiétiques.

1. Introduction.

Durée de vie limitée dans cellules sanguines et nombre constant.

Production ajustée et contrôlée par des facteurs de croissance et des cytokines.

-CSF sécrétés par les cellules stromales.

-IL sécrétés par les cellules stromales et cellules sanguines périphériques.

Trois groupes essentiels de FC selon le mode d'action:

-Multipotents.

-Spécifiques.

-Non spécifiques: activation des cellules....

2. Facteurs multipotents.

Large spectre d'action: 2F (GM-CSF et IL3).

a. Granulocytes-macrophages-CSF.

Sécrété par fibroblastes, cellules endothéliales (LT).

Action:

-stimule GFC mixtes.

-stimule GM-CFC.

-stimule PN et macrophages.

Utilisation thérapeutique pour les neutrocytes < 500/mm³, ou chimiothérapie, ou pour le VIH....

b. IL3.

Synthétisée par LT, mastocytes....

Gène sur chromosome 5.

Récepteur R-cytokine.

Lignée GFC-Eo, baso, GM....

c. IL 1 α .

→ induit l'expression de cofacteurs.

G. Facteurs spécifiques de lignées.

a. L'EPO.

Stimule la lignée rouge.

En 83, gène séquencé, en 85, par génie génétique on parvient à le synthétiser, 88

→ médicament contre anémie.

R-cytokine.

Action sur CFC-E (pas d'Hb) → GR (Hb).

Si hypoxie,...

→ augmentation d'EPO dans le sang.

-fixation sur R dans CFC-E.

b. G-CSF.

-synthèse par fibroblastes, macrophages, cellules endothéliales.

-gène chromosome 17.

-R-cytokine.

-l'action stimule CFC-GM et PNN.

(Prolifération des PNN et stimule leur fonctions-également utilisé en thérapeutique si $< 500/\text{mm}^3$.

c. M-CSF.

-synthèse par fibroblastes, macrophages, cellules endothéliales.

-gène sur chromosome 5.

-R-tyrosine kinase.

-action: stimule CFC-GM et macrophages.

d. TPO.

-gène sur chromosome 3.

-R-MG et plaquettes.

-action: stimule les précurseurs mégacaryocytaires.

3. Les non spécifiques.

A. Les IL.

a. IL-1.

Synthétisée par cellules différenciées matures, macrophages activés par agent infectieux.

Actions:

-stimule les LT-helper, CD4 → IL2 et R-IL2 donc s'autostimule.

-recrutement des PN sur le site de l'infection par chimiotactisme.

b. IL-2.

-synthétisée par LT-helper.

-stimule les LT-helper et les LT-cytotoxiques (CD8).

IL4: mastocytes, PNB.

IL5: PNE.

IL6: PNN.

B. Autres facteurs.

-TNF α (facteur nécrosant des tumeurs).

Action: stimule LT-helper et la production d'IL2, LT-cytotoxiques, LB(→ anticorps).

Favorise l'adhérence des granulations par chimiotactisme, mais effets secondaires → fièvre, amaigrissement.

-PDGF:

Synthétisé par MG.

Stimule les fibroblastes, les cellules musculaires lisses.

2e modèle: Le tissu intestinal.

-unistratifié.

-villosités et cryptes.

-les cellules souches sont dans les cryptes.

-division et migration.

-différenciation des cellules → spécifiques de la fonction intestinale avant de mourir dans la lumière intestinale.

VI. L'épiderme.

(Derme: contient du TC.)

-épithélium malpighiens stratifiés (90% des kératinocytes).

-2-5% de mélanocytes (pigmentation de la peau).

-2-5% de cellules de Langerhans.

-cellules de Merkel.

Organisation en 4 compartiments superposés (chacun composé d'une ou plusieurs couches d'entérocytes)= stades successifs de la différenciation.

La couche basale: unicellulaire (cellules multipotentes).

-Potentiel prolifératif important, lent, très adhérent, activité stonogénique +/- spécifique.

Se trouvent dans la zone interfolliculaire ou dans la protubérance pileaire, glandes sébacées.

Marqués par la protéines P63, kératine 19, intégrines.

Une cellule souche → une cellule souche + une cellule fille appelée kératinocyte.

Un kératinocyte= compartiment modérateur, processus de régulation (14j pour qu'elle part de la lame basale jusqu'à la surface, 14j délais de cicatrisation).

Les cellules filles: compartiment de cellules amplificatrices qui vont se différencier peu à peu, donc il y a un gradient entre la capacité de prolifération maximal (qui correspond à la différenciation minimal= cellule souche) et vice-versa.

Sous la dépendance de facteurs de croissance.

Comment sont caractérisées les cellules amplificatrices:

Intégrine, protéine delta +, forte expression de transférines.

Trois catégories cellulaires qui ont trois potentiels différents:

-holoclone= stade souche.

-paraclone= transition entre cellule souche et kératinocyte (totalement différenciée).

-méroclone= cellule intermédiaire.

Les fonctions des différents marqueurs:

- β intégrine (récepteur transmembranaire), responsable de l'adhérence cellulaire entre matrice et couche basale.

-La β -caténine: protéine qui permet à la cellule souche de se fixer.

-La voie notch-delta: intervient dans la communication intercellulaire, capacité d'adhérence, induction de la différenciation de la cellule souche.

-4e type de signal: la voie Myk: proton homogène: stimule la différenciation de la cellule souche.

-Protéine P63: marqueur spécifique des cellules souches épidermiques. Facteur de la transcription. Il n'est pas exprimé par les autres kératinocytes.

Couche épineuse: 5-10 couches.

Stratum granulosum: également pluristratifié.

Les kératinocytes commencent à se différencier (deux sortes de granules: de Odland...).

Stratum corneum: également pluristratifié. =cornéocytes (plus de noyaux).

Les 4 couches:

Cytosquelette/kératinocytes.

Structure en hélice α .

Type 1 et 2 au niveau cutané.

Type 4, spécifique des neurofilaments.

Type 5: laminines: un peu partout.

Type 6: deskinine.

Kératinocytes= kératine acide et basique donc type 1 et 2 → dimère.

Les gènes du chromosome 17 → kératine 1 (acide): K9 à K20.

Les gènes du chromosome 12 → kératine 2 (basique): K1 à K8.

Domaine α central:

Constitué de 4 segments α : séparés par des peptides de liaison.

Variation topographique: en basale: K5 et K14.
Couches supra-basales: K1 et K10.

Les structures d'adhérence:

Desmosomes reliés à K5-K14 dans cytoplasme.

Kératinocytes supra-basaux K1-K10.

-Cornéocytes: cornéodesmosomes avec cornéodesmosine.

Les espaces intercellulaires sont bourrés de lipides.

Les grains de kératohyaline: profilagrine (protéine riche en histidine, phosphorylée), va être déphosphorylée et donner la filagrine grâce à l'enzyme de dégradation: LEKTI.

4e aspect de la différenciation: l'enveloppe cornée.

Riche en lipides et protéines.

Résistante aux agressions extérieures. Protéines intracytoplasmiques calcium dépendante.

Enveloppe cornée: les protéines vont être peu à peu incorporé dans la membrane: -volucrine, l'oricrine (proviennent du corps de Odland.).

Barrière lipidique:

Protection dans la perte en eau:

Composition:

-lipides extracellulaire qui proviennent des corps de Odland.

-disques lamellaires qui proviennent des corps de Odland.

Fusionnent leur membrane plasmique.