

Du nouveau dans la thérapie cellulaire : cloner pour soigner

FRANÇOISE SAINTENY | 05/12/2013

Une équipe de chercheurs américains est en passe de faire franchir une étape clé à la thérapie cellulaire. La dernière génération de cellules souches qu'ils ont produite grâce au clonage d'un embryon pourrait fournir à chacun un stock inépuisable de cellules souches personnalisées pour réparer n'importe quel organe.

Pour la première fois au monde, des chercheurs ont réussi le clonage d'un embryon humain. A partir de cet embryon développé *in vitro*, ils ont pu produire des cellules souches pluripotentes personnalisées génétiquement identiques à l'individu cloné. Ce résultat peut s'avérer révolutionnaire pour la thérapie cellulaire.

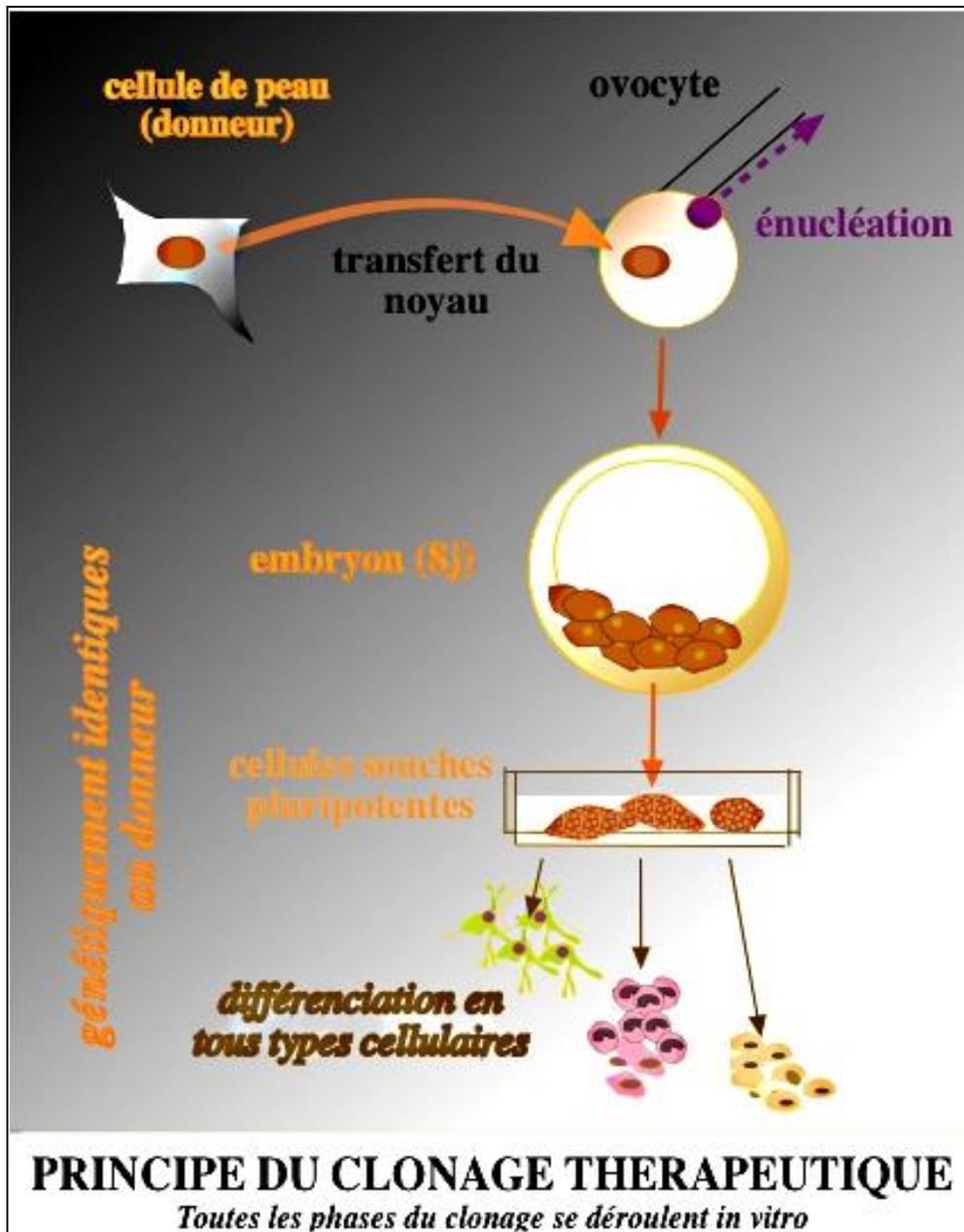
Le principe de la thérapie cellulaire est de réparer des tissus malades ou endommagés au moyen de cellules qui sont à l'origine même de ces tissus, les cellules souches. Certaines d'entre-elles, les cellules souches pluripotentes, constituent par leurs propriétés uniques, une réserve inépuisable de ressources biologiques. Capables de se diviser indéfiniment en cellules parfaitement identiques, elles sont immortelles. Elles sont aussi pluripotentes, c'est à dire aptes à se différencier en n'importe lequel des tissus de l'organisme.

Les cellules souches pluripotentes, des cellules à tout faire

La première génération de cellules souches pluripotentes a été dérivée de l'embryon de souris en 1981. Il faudra attendre presque vingt ans pour que les mêmes cellules soient produites chez l'homme, en 1998. Mais leur utilisation en thérapie cellulaire imposait, pour éviter les rejets de greffe, la création de banques de cellules souches à l'image des banques d'organes.

La thérapie cellulaire dite personnalisée vise à supprimer ces obstacles immunologiques. Elle implique de disposer de cellules souches pluripotentes génétiquement identiques à celles du patient à traiter. En 2006, la découverte des cellules souches pluripotentes induites (iPS pour induced Pluripotent Stem Cells) avait ouvert cette voie. Grâce à une manipulation génétique, une cellule adulte pouvait « rajeunir » et retourner à l'état de cellule souche pluripotente. Chaque patient se trouvait donc en position d'être la source de ses propres cellules souches. L'obstacle immunologique était levé, mais les répercussions possibles et encore mal définies des [manipulations génétiques](#) utilisées pour produire les iPS restaient un frein à leur utilisation clinique.

Les travaux de S. M. Mitapilov (Université des Sciences et de la Santé de l'Orégon) et de ses collaborateurs, publiés dans la revue Cell (*), offrent une alternative aux iPS. Les cellules souches de dernière génération qu'ils viennent de créer, dérivées du clonage, présentent un double avantage. Elles abolissent les incertitudes liées aux manipulations génétiques dont résultent les iPS. Et comme les iPS, elles sont issues du patient, évitant les incompatibilités immunologiques.



Un bond pour la médecine régénérative

La démarche adoptée par l'équipe pour obtenir ces cellules souches pluripotentes de troisième génération est celle du clonage thérapeutique. Tout en reposant sur la même méthodologie que le clonage reproductif inauguré par la naissance, en 1996, de la célèbre brebis Dolly, le clonage thérapeutique ne vise pas à produire un individu. L'objectif est d'obtenir un très jeune embryon pourvoyeur de cellules assignées à la médecine régénérative.

Le clonage consiste à reproduire un individu à partir d'une de ses cellules (généralement une cellule de peau). Le principe est de remplacer le noyau d'un ovocyte non fécondé par celui de la cellule de peau de l'individu à reproduire. C'est le cytoplasme de l'ovocyte qui va orchestrer la reprogrammation du noyau transplanté pour donner naissance à un embryon qui lui sera génétiquement identique. Toutes les étapes qui conduisent à la formation de l'embryon se déroulent *in vitro*. Lorsque il est introduit dans une femelle porteuse, cet embryon est susceptible de donner naissance à un individu parfaitement identique au donneur de noyau, à l'instar de la brebis Dolly.

Cette technique est déjà ancienne. Elle a été mise au point par John Gurdon qui, dès 1962 a réussi le clonage d'un amphibien. Depuis, de nombreuses espèces animales, y-compris des mammifères, ont été clonées. Mais les essais chez l'humain avaient toujours échoué. Sans qu'on puisse l'expliquer, l'embryon se révélait incapable de se diviser au delà de huit cellules.

Les chercheurs dirigés par S. M. Mitapilov ont voulu élucider les causes de ces échecs. Ils ont commencé par tenter le clonage d'un primate, le singe rhésus, avec une double conviction. D'abord, que la mise au point du protocole de clonage du singe les aiderait à identifier les facteurs d'échec du clonage humain. Ensuite, qu'un succès chez le singe préfigurerait la faisabilité du clonage chez l'humain. En 2007, ils parviennent à obtenir un embryon de singe issu du clonage et réussissent à en dériver des cellules souches pluripotentes.

Ces travaux chez le singe sont cruciaux pour la suite. En analysant systématiquement chaque étape du clonage du singe rhésus, les chercheurs ont acquis la certitude que les obstacles au clonage humain résident dans la qualité du cytoplasme de l'ovule. Les manipulations intrusives qu'il subit - son énucléation, suivie du transfert du noyau de la cellule de peau - affecteraient la qualité du cytoplasme de l'ovocyte. Ces manipulations abrègeraient notamment la très courte phase durant laquelle le cytoplasme orchestre la reprogrammation cellulaire.

S. M. Mitapilov et son équipe vont chercher à stabiliser cette phase chez l'humain en modifiant le protocole établi pour le singe. Ils pratiquent l'énucléation de l'ovocyte en présence de caféine et rajoutent une impulsion électrique au protocole d'activation du cytoplasme. Ces modifications s'avèrent efficaces. Elles vont permettre le développement d'un embryon humain jusqu'au stade précis (huit jours) où l'on peut en dériver des cellules souches pluripotentes.

Le succès du clonage dépend aussi de la qualité de l'ovocyte. Les ovocytes sont produits par stimulation ovarienne chez des femmes donneuses volontaires. Le taux de réussite du clonage varie énormément d'une cohorte d'ovocytes à l'autre. Il peut aller de 0% à 23%. Une composante génétique intervient également. L'une des donneuses a fourni des ovules de qualité exceptionnelle, avec un taux de réussite de 63%.

Les lignées de cellules souches pluripotentes que les chercheurs ont réussi à dériver de ces embryons issus du clonage ont été soumises à une batterie de tests. Leur identité génétique est bien celle du noyau cellulaire parental. Leur caryotype est normal. On ne décèle pas d'anomalies chromosomiques. Ces cellules souches personnalisées ont les mêmes propriétés que les cellules souches de première génération. Elles sont immortelles

et capables de se différencier en une grande variété de tissus. Par exemple en cellules contractiles de myocarde, ce qui démontre bien leur énorme potentiel pour la médecine régénérative.

L'incontournable débat éthique.

Il va falloir maintenant comparer minutieusement les avantages et les inconvénients de ces nouvelles cellules souches pluripotentes à ceux des cellules souches pluripotentes induites (iPS). Parce qu'elles sont produites à partir d'une cellule adulte, les iPS échappent au débat éthique soulevé par la manipulation de l'embryon. Mais elles présentent une certaine instabilité génomique dont les risques ne sont pas encore maîtrisés. Si la communauté scientifique ne parvient pas à mieux évaluer ces risques, la thérapie cellulaire personnalisée reposant sur le clonage de l'embryon deviendra la solution. Mais les débats éthiques autour des dérives possibles de ce procédé seront nécessairement très nourris. Même si les auteurs se veulent rassurants en affirmant que les embryons issus du clonage ne survivent pas suffisamment longtemps *in vitro* pour être réimplantés chez une femme.

*Masahito Tachibana, Paula Amato, Michelle Sparman, Nuria Marti Gutierrez, Rebecca Tippner-Hedges, Hong Ma, Eunju Kang, Alimujiang Fulati, Hyo-Sang Lee, 6, Hathaitip Sritanaudomchai, Keith Masterson, Janine Larson, Deborah Eaton, Karen Sadler-Fredd, David Battaglia, David Lee, Diana Wu, Jeffrey Jensen, Phillip Patton, Sumita Gokhale, Richard L. Stouffer, 2, Don Wolf, Shoukhrat Mitalipov : *Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer*. Cell, vol. 153 N° 6, pp. 1228–1238 (6 June 2013).