****

**Le nombre fait la force : amélioration des résultats des greffes de cellules souches**

***Recueilli en février 2017***

**Quel est l’objet de cette étude?**

**En bref…**

Avant une greffe, on peut augmenter le nombre de cellules contenues dans une unité de sang de cordon en les mettant dans un milieu de culture exposé à des cellules osseuses.

Les cellules souches hématopoïétiques présentes dans notre moelle osseuse sont à l’origine de toutes les cellules du système sanguin. Ce sont elles qui produisent, tout au long de notre vie, nos globules rouges, nos globules blancs et nos plaquettes. On peut les utiliser pour traiter les patients atteints de certains cancers ou de certains troubles sanguins. Une fois dans l’organisme du patient, elles s’installent dans la moelle osseuse – d’où le nom de greffe – où elles commencent à se multiplier et à produire les cellules du système hématopoïétique pour remplacer les cellules malignes ou défectueuses qui s’y trouvent.

Il existe trois façons de recueillir des cellules souches hématopoïétiques pour les greffer. Les deux méthodes les plus communes consistent à les prélever de la moelle osseuse ou du sang total d’un donneur adulte. La troisième consiste à les extraire du sang contenu dans le cordon ombilical et dans le placenta après l’accouchement. Cette dernière méthode présente plusieurs avantages, notamment en termes de disponibilité (le sang de cordon est normalement éliminé après l’accouchement) et de flexibilité. En effet, les cellules immunitaires présentes dans le sang de cordon n’étant pas encore arrivées à maturité, un patient qui ne trouve pas de donneur adulte compatible peut en trouver un grâce au sang de cordon.

Or, le sang de cordon ne contient pas beaucoup de cellules souches, ce qui peut retarder la greffe ou la faire échouer. Pour améliorer les chances de greffe, les chercheurs mettent au point des méthodes qui permettent d’augmenter le nombre de cellules souches avant leur administration aux patients. Bien que ces méthodes aient globalement permis d’améliorer les greffes de cellules souches, on rencontre encore des problèmes avec celles qui proviennent du sang de cordon, en particulier avec la régénération des plaquettes, qui sont essentielles à la coagulation sanguine.

Nicolas Pineault est chercheur en développement à la Société canadienne du sang. Il a mis au point une procédure qui permet de multiplier les cellules souches du sang de cordon et qui pourrait permettre de résoudre le problème de la régénération des plaquettes. Sa méthode utilise des ostéoblastes, qui sont des cellules produites par les os. Cultivés en laboratoire, les ostéoblastes relâchent des molécules dans le liquide dans lequel elles baignent, à savoir le milieu de culture. Ce milieu de culture peut ensuite être utilisé pour multiplier le nombre de cellules souches dans le sang de cordon. Cela fait déjà quelques années que M. Pineault a montré qu’un tel milieu de culture pouvait augmenter la prolifération des cellules souches issues du sang de cordon et favoriser la régénération plaquettaire chez des modèles de souris. Il a récemment entrepris de poursuivre ses recherches en optimisant la production de milieux de culture conditionnés par les ostéoblastes et en cherchant à déterminer les facteurs responsables de la prolifération des cellules souches.

**Comment les chercheurs ont-ils procédé?**

L’équipe de M. Pineault a obtenu des unités de sang de cordon par le programme *Sang de cordon pour la recherche* de la Société canadienne du sang pour essayer plusieurs moyens de produire un milieu de culture conditionné par les ostéoblastes et comprendre la façon dont celui-ci est capable de stimuler la croissance des cellules. Les chercheurs ont donc cultivé des ostéoblastes dans un milieu de culture, puis prélevé le milieu de culture conditionné au bout d’un, deux, trois et six jours. Pour savoir si la taille des molécules constituait un facteur dans l’activité du milieu de culture conditionné, ils ont filtré une partie du milieu pour en retirer les particules dont la taille était supérieure à 0,2 µm, puis comparer l’activité du milieu filtré à celle du milieu non filtré dans des conditions de contrôle – milieu de culture non exposé à des ostéoblastes.

Les chercheurs ont ensuite évalué la capacité du milieu de culture à stimuler la croissance des cellules souches en examinant les changements survenus dans les sous-populations de cellules de sang de cordon qui présentaient des combinaisons spécifiques de molécules à leur surface (par exemple, celles présentant les marqueurs CD34 et CD90, mais pas les marqueurs CD38 et CD45RA). Ils ont également réalisé des tests sur des cellules formant des colonies pour analyser la fonction biologique.

**Quelles sont les conclusions de l’étude?**

* Le milieu de culture conditionné par les ostéoblastes a permis de stimuler la croissance des cellules souches issues du sang de cordon, dont plusieurs types de sous-populations de cellules souches hématopoïétiques.
* Le milieu de culture ayant été le moins exposé aux ostéoblastes, soit un jour, a donné de meilleurs résultats pour ces sous-populations.
* La filtration du milieu de culture conditionné par les ostéoblastes a grandement permis de réduire ou de supprimer son activité stimulante, ce qui suggère que les particules les plus efficaces ont une taille supérieure à 0,2 µm. Toutefois, le fait que le milieu de culture filtré ait conservé une certaine activité stimulante suggère que les petites particules comme les facteurs de croissance jouent également un rôle dans les effets observés.
* L’irradiation ou la congélation n’a eu aucune répercussion sur l’activité du milieu de culture conditionné par les ostéoblastes.

**Comment utiliser les résultats de cette étude?**

Cette étude a permis d’optimiser la méthode de production d’un milieu de culture conditionné par des ostéoblastes et d’améliorer la compréhension du mécanisme d’action d’un tel milieu sur la croissance des cellules souches hématopoïétiques issues du sang de cordon. Par ailleurs, la filtration du milieu de culture pour en séparer les divers composants a permis à l’équipe de M. Pineault de déterminer les facteurs les plus pertinents dans l’augmentation de la croissance des cellules souches hématopoïétiques.

Les problèmes de régénération plaquettaire à la suite d’une greffe de cellules souches hématopoïétiques issues du sang de cordon constituent un obstacle majeur à la greffe de ces cellules souches. Or, il y a plusieurs années, M. Pineault a déjà montré qu’un milieu de culture enrichi par des ostéoblastes pouvait augmenter la régénération plaquettaire chez un modèle de souris. Des essais cliniques doivent donc être réalisés pour déterminer si ce type de milieu de culture pourrait résoudre ce problème chez les receveurs humains de greffes de cellules souches. Par ailleurs, ce type de milieu de culture pourrait également s’avérer utile pour la recherche scientifique de base, car il est plus simple à utiliser comparé à d’autres méthodes de multiplication des cellules souches, telles que les systèmes de co-culture. Il pourrait donc être utilisé dans des systèmes de modèles cellulaires complexes, tels que les bioréacteurs. Enfin, l’activité du milieu de culture n’ayant pas été altérée par l’irradiation, il est possible d’utiliser cette procédure pour réduire les risques biologiques.

Bien que cette étude ait permis de révéler certains des mécanismes sous-jacents à l’activité stimulatrice d’un milieu de culture conditionné par des ostéoblastes sur les cellules souches, on ne connaît pas encore avec certitude les facteurs responsables de cette activité. D’autres études doivent être réalisées afin d’élucider ces mécanismes. L’identification des facteurs principaux pourrait permettre d’améliorer les méthodes de culture et, par conséquent, les méthodes de multiplication des cellules souches hématopoïétiques issues du sang de cordon.

Si ces résultats venaient à être confirmés chez des modèles de souris et, par la suite, lors d’essais cliniques, on pourrait améliorer les résultats obtenus avec une greffe de cellules souches du sang de cordon et augmenter la proportion de dons de sang de cordon destinés à la greffe.

**À propos de l’équipe de recherche : Nicolas Pineault** est professeur dans le département de biochimie, de microbiologie et d’immunologie de l’Université d’Ottawa, ainsi que chercheur en développement à la Société canadienne du sang. **Ahmad Abu-Khader** bénéficiait d’une bourse de perfectionnement postdoctoral dans le laboratoire de M. Pineault. **Roya Pasha** est assistante de recherche principale. **Gwendoline Ward** était technicienne de recherche et **Gavin Boisjoli** était un étudiant du programme de spécialisation de premier cycle qui bénéficiait d’une bourse de stage d’été de la Société canadienne du sang.

**Le contenu de ce *Concentré de recherche* est tiré de la publication suivante :**

1. Abu-Khader A, Pasha R, Ward GC, Boisjoli G, Pineault N. Characterization of the Growth Modulatory Activities of Osteoblast Conditioned Media on Cord Blood Progenitor Cells. *Cytotechnology* 2016; 68: 2257-69.

**Remerciements :** Cette étude a bénéficié du financement de la Société canadienne du sang (Subventions de fonctionnement de la Société canadienne du sang et des Instituts de recherche en santé du Canada) et de Santé Canada. La Société canadienne du sang est financée par le gouvernement fédéral (Santé Canada) et les ministères provinciaux et territoriaux de la Santé. Les opinions exprimées ici ne reflètent pas nécessairement celles des gouvernements fédéral, provinciaux ou territoriaux du Canada. La Société canadienne du sang remercie les donneurs de sang de cordon qui ont permis de mener cette étude.

**Mots-clés :** sang de cordon, cellules souches hématopoïétiques, cellules progénitrices, ostéoblastes, multiplication *ex vivo*, milieu de culture conditionné

**Vous voulez en savoir plus?** Communiquez, par courriel, avec Nicolas Pineault, à nicolas.pineault@blood.ca.