



Alexandre Hertig

→ LES PERSPECTIVES pour les maladies rénales génétiques

ALEXANDRE HERTIG - UPMC, Sorbonne Universités, Paris

Chaque année en France, parmi les 2 à 3 millions de personnes souffrant d'une maladie rénale, tous stades confondus, ce sont environ 10 000 patients qui parviennent au stade terminal de l'insuffisance rénale (chiffres issus des rapports annuels publics du registre REIN : Réseau, Epidémiologie, Information, Néphrologie). Pour eux, aujourd'hui, il n'existe qu'une seule alternative : la dialyse ou la transplantation rénale. Et encore la greffe n'est-elle pas la panacée, puisque la médiane de la durée d'un greffon est actuellement de l'ordre de 12 ans seulement, après quoi il faut soit reprendre la dialyse, soit être à nouveau greffé.

La majorité des malades en insuffisance rénale terminale aura perdu sa fonction rénale progressivement, à cause d'une pathologie vasculaire chronique (hypertension artérielle, et/ou diabète) ou d'une maladie inflammatoire. Même si ces patients-là sont l'exemple de l'échec d'une approche thérapeutique conventionnelle (par exemple, par le traitement de l'hypertension artérielle, la correction du diabète, ou la prescription d'un traitement immunosuppresseur), il est improbable qu'ils soient les meilleurs candidats à une approche non conventionnelle, visant à régénérer le rein (et donc à restaurer une fonction rénale) par l'administration de cellules souches. En tout cas ils ne seront pas les premiers candidats, car un rein détruit par une maladie chronique est un rein fibreux, cicatriciel, qui n'est pas a priori un terrain propice à une régénérescence.

Une minorité de patients (moins de 10%), mais une minorité nombreuse compte tenu de la prévalence générale des maladies rénales, développe lentement mais sûrement une insuffisance rénale en raison d'une mutation constitutionnelle de leur code génétique. La maladie la plus fréquente est la polykystose rénale, qui est causée par la mutation d'un gène codant pour une protéine exprimée sur le cil primaire. Ce dernier est une sorte de poil unique dressé à la surface de toutes nos cellules ou presque.

Dans le rein, schématiquement, l'urine est formée en filtrant le plasma dans des structures vasculaires microscopiques qu'on appelle des glomérules, et le produit de la filtration est traité et acheminé vers l'extérieur par de longs tuyaux microscopiques eux aussi, que l'on appelle des tubules. Lorsque le cil des tubules fonctionne mal à cause d'une mutation, des kystes – petites poches contenant du liquide – apparaissent avec l'âge, qui petit à petit déforment les reins et les détruisent littéralement. Une autre maladie est la maladie d'Alport, où une mutation sur le gène codant pour le collagène aboutit à une inflammation chronique des glomérules.

C'est, à notre avis, pour ces deux catégories de patients, dont le diagnostic est établi longtemps avant la détérioration de la fonction (parfois plusieurs décennies avant), que les cellules souches devront d'abord montrer leur efficacité pour avoir un avenir en médecine. Il faut y rajouter certains patients nés sans mutation mais dont l'ADN des cellules rénales a été endommagé de façon irréversible par des produits de chimiothérapie, et qui se retrouvent brutalement sans fonction rénale. Pour tous ceux là, l'intérêt de fournir des cellules « souches » (capables de régénérer un système de cellules rénales) et génétiquement indemnes est évident. Mais avant de discuter des différentes cellules souches qui offrent une perspective thérapeutique, il faut expliquer la façon qu'a le rein de se régénérer spontanément, « naturellement », après une agression.

REGENERATION NATURELLE DES REINS APRES UNE AGRESSION

Pour certains organes ou ensemble de cellules (le sang, la peau, l'intestin), la mort est un événement quotidien et massif, et le renouvellement est logiquement assuré par des cellules souches. Par exemple, un globule rouge ne vit que quatre mois, un globule blanc parfois seulement 24 heures, et notre moelle osseuse est remplie de progéniteurs qui assurent constamment leur renouvellement, dans ce cas précis pour assurer

le transport de l'oxygène et la défense contre les bactéries, respectivement. Dans le rein, la situation est très différente. L'épithélium, c'est-à-dire le tissu de cellules qui borde les glomérules et les tubules, a une espérance de vie très longue (on doit à la vérité de dire que ce temps « très long » n'est pas précisément connu), et le renouvellement est assuré à un rythme très lent par les cellules voisines, survivantes. En d'autres termes, le principe selon lequel il serait possible de régénérer le tissu rénal par des cellules souches est un principe par définition « artificiel ». Mais cela n'exclut pas, bien sûr, qu'il soit efficace. Nous allons maintenant discuter des observations qui ont justifié que l'on explore le potentiel thérapeutique de cellules « souches » pour les maladies rénales.

OBSERVATIONS A L'ORIGINE D'UN ESPOIR SUR L'INTERET DE CELLULES SOUCHES POUR LA REGENERATION DU TISSU RENAL

A la fin des années 1990, il a été rapporté par une équipe de Pittsburgh aux Etats-Unis que des cellules dérivées de la moelle osseuse pouvaient être localisées dans le foie, et s'être différenciées en cellules du foie, dans un modèle animal d'agression hépatique. Dans la foulée, un groupe de New-York a montré qu'il était possible de trouver des cellules « mâles » (ayant un chromosome Y) dans le foie malade (hépatite C, cirrhose) de femmes autopsiées après qu'elles ont reçu une greffe de moelle d'un donneur de sexe masculin pour traiter une maladie sanguine. Ces cellules mâles exprimaient des marqueurs caractéristiques des hépatocytes, c'est-à-dire de cellules différenciées en cellules du foie. Cette observation était significative, au-delà de la preuve de concept, car la proportion d'hépatocytes dérivés de la moelle osseuse était grande, au maximum de 43%. Partant, il était raisonnable de postuler que le rein pourrait lui aussi bénéficier du potentiel « régénératif » de cellules souches dérivées de la moelle osseuse. Et de fait, l'examen de reins féminins transplantés à des hommes en insuffisance rénale terminale a permis de faire une observation très similaire : jusqu'à 20% de cellules épithéliales des tubules ont en leur sein un chromosome Y, c'est-à-dire que le rein féminin a été « colonisé » (réparé ?) par des cellules qui initialement n'étaient pas rénales mais extra-rénales. Ces travaux ont suscité un vif enthousiasme dans la communauté scientifique, et à l'évidence un fort espoir dans la population des malades. Cet enthousiasme a cependant été refroidi lorsque des techniques plus élaborées (étude au microscope confocal, ou encore au microscope 3D à déconvolution) ont été utilisées

pour confirmer chez l'homme ces observations, et aussi lorsque des modèles animaux employant des rongeurs génétiquement manipulés ont été utilisés pour permettre de « voir » l'incorporation de cellules extra-rénales dans le rein, et leur différenciation en cellules rénales. Ces données là, publiées au milieu des années 2000, ont finalement conclu qu'une toute petite fraction de cellules dérivait de cellules souches dérivées de la moelle osseuse dans un rein malade : moins de 1%. Cela confirme, comme expliqué plus haut dans les conditions physiologiques, que la capacité du rein à se régénérer en conditions pathologiques repose naturellement et, disons, à 99%, sur les cellules rénales survivantes ou génétiquement indemnes. Un contre-exemple est rarement cité, qui est qu'une maladie rénale génétique ne récidive jamais sur un greffon rénal. Or, si les cellules d'un receveur atteint de polykystose rénale par exemple, pouvaient coloniser le greffon d'un donneur évidemment indemne de mutation, il serait probablement observé des kystes dans ce même greffon : à notre connaissance, cela n'a jamais été rapporté et le dogme est que les maladies rénales génétiques ne récidivent jamais sur un greffon qui ne porte pas la mutation génétique.

Il faut ici discuter un point un peu technique, mais qui relativise encore l'observation, même marginale, que des cellules rénales soient pleinement dérivées de cellules de la moelle osseuse : il est possible que les images observées reflètent peut-être non pas une différenciation, mais une fusion de deux types cellulaires (cellule souche et cellule épithéliale).

Ceci étant dit, il n'est pas exclu, encore une fois, qu'il soit possible dans le futur de forcer la nature en injectant des cellules souches en contexte pathologique. Ici, pas d'exemple en médecine humaine, bien sûr, mais des données ont été publiées chez l'animal, que nous allons maintenant expliquer.

INTERET DE CELLULES SOUCHES « MEDICAMENT » DANS LES MALADIES RENALES GENETIQUES : LA PREUVE PAR LES MODELES ANIMAUX

A notre connaissance, il existe un seul exemple chez l'animal qu'un modèle de polykystose rénale puisse être atténué, ou que le rein polykystique puisse être réparé, par l'injection de cellules dites « souche ». Ainsi, le groupe de Takashi Tada au Japon a réussi à réduire la fréquence des kystes rénaux chez des souris portant la mutation pathogène, en leur injectant

au tout premier stade embryonnaire des cellules souches pluripotentes de type iPS (voir plus loin) au sein desquelles la mutation avait été spontanément effacée grâce à des phénomènes naturels mais rares de recombinaison homologe. Il faut maintenant attendre que ces premiers résultats prometteurs soient reproduits par des équipes indépendantes.

Des travaux plus nombreux sont disponibles pour le modèle murin de la maladie d'Alport. Ils sont très contradictoires.

En 2006, deux groupes, l'un en Angleterre, l'autre aux Etats-Unis, ont rapporté que l'injection de cellules dérivées de la moelle osseuse aboutissait à l'incorporation de ces cellules dans les glomérules de souris ayant une prédisposition génétique à la maladie d'Alport, à leur différenciation en podocytes (cellules épithéliales du glomérule) et à leur fabrication du collagène manquant.

Ces deux études ont là aussi soulevé un énorme enthousiasme, mais il faut expliquer deux points qui les privent d'une portée immédiate chez l'homme. D'une part, les auteurs n'ont pas rapporté que les cellules souches retardaient la survenue de l'insuffisance rénale terminale (qui est un critère dur d'efficacité, et le seul susceptible d'intéresser les malades) et d'autre part, une étude effectuée par un groupe indépendant a démontré que l'effet bénéfique était probablement lié à l'irradiation corps entier que les souris avaient subies avant l'injection.

Cette irradiation a été en effet utilisée chaque fois, pour remplacer la moelle native par une moelle génétiquement intacte et ainsi faire en sorte que les cellules souches circulantes soient toutes capables de régénérer un tissu. Il n'est pas certain que cette irradiation était nécessaire, chez la souris en tous cas, puisque les souches de souris utilisées sont souvent « syngéniques », mais c'est le protocole qui a été suivi. Dans un article d'une violence exceptionnelle pour une revue scientifique, intitulé « the hype beyond the hope » (littéralement, chic et branché mais à l'origine de faux espoirs) un consortium d'experts de la maladie d'Alport a ensuite reproché aux deux premières équipes d'avoir inutilement suscité de l'espoir chez les patients porteurs de cette mutation.

Une des deux équipes a réagi en répétant l'expérience mais sans irradiation, et en étudiant la survie rénale (qui était prolongée). La controverse n'est pas encore éteinte, mais au jour d'aujourd'hui, il est juste de dire que l'effet bénéfique des cellules dérivées de la moelle osseuse pour réparer le rein au cours des maladies rénales génétiques n'a pas été unanimement observé par des équipes indépendantes.



Il faut maintenant discuter de deux autres sources potentielles de cellules souches : les cellules souches dérivées du liquide amniotique (appelées ASF pour Amniotic Fluid derived Stem cells, et les cellules pluripotentes générées à partir de cellules différenciées (appelées iPS pour induced Pluripotent Stem cells), isolées à partir des patients eux-mêmes. Il va de soi que cette stratégie ne concerne pas les patients souffrant de maladie rénale d'origine génétique, puisque les mutations à l'origine des maladies rénales sont présentes dans tous les types cellulaires, rénales comme souches. Ici, le concept est de tenter une réparation rénale ou sa régénération en réinjectant des cellules « souches » intactes, mais autologues (ne venant pas d'un donneur extérieur).

LES CELLULES SOUCHES DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

Environ 1% des cellules circulant dans le liquide amniotique ont en fait la propriété de se diviser de façon clonale et ont une forte capacité à se différencier en de nombreux types cellulaires (on parle de pluripotence). Une seule étude publiée en 2010 a montré que ces AFS pouvaient incorporer les tubules (et se différencier) dans un modèle de nécrose tubulaire chez la souris. Il est important de noter que l'injection à but thérapeutique d'AFS était réalisée deux heures après l'agression.

Leur effet a été très bénéfique, avec une forte atténuation de l'insuffisance rénale. Il est donc permis de penser qu'il serait utile, dès aujourd'hui, de collecter à la naissance les AFS de chaque individu, pour les stocker, pour le cas où, dans la vie future de cet individu, le problème se pose d'une défaillance d'organe, aiguë ou chronique, qu'il faudrait corriger. Les données sont encore très rares, et rien ne dit que cette stratégie sera payante, mais la question est bel et bien posée.

LES CELLULES IPS

Il n'y a encore que très peu de preuve chez l'animal, et aucune chez l'homme évidemment, que les iPS peuvent aider à la régénérescence rénale, mais c'est une véritable source d'espoir. La technologie iPS consiste à restaurer un état de pluripotence à partir de cellules adultes et différenciées (extraites par exemple de la peau, ou d'autres types de cellules), par transgénése, et souvent à l'aide de vecteurs viraux.

Ce n'est pas le lieu pour discuter des difficultés, et des dangers, liés à cette technologie, mais en théorie, il est envisageable que l'on parvienne dans le futur à créer des cellules ayant un potentiel de différenciation

en cellules rénales, à partir de cellules non rénales, pour le cas où ces dernières auraient été détruites, et dans l'objectif de recréer du tissu rénal sain.

CONCLUSIONS

C'est avec un enthousiasme encore modéré que l'on appréhende aujourd'hui les perspectives de thérapie cellulaire pour la régénérescence rénale, a fortiori dans le contexte de maladies génétiques. Pour l'instant, il n'y a pas de preuve indiscutable que les cellules souches, quelque soit leur origine ou leur mode de fabrication, puissent intégrer une structure rénale pathologique, et s'y différencier en cellules rénales fonctionnelles au point de rétablir une fonction rénale efficace. Les cellules souches dérivées de la moelle font déjà l'objet d'essais cliniques, pour tester leur sécurité d'utilisation, et dans le but de prévenir l'insuffisance rénale aiguë au décours de la chirurgie cardiaque.

Ces essais seront examinés avec énormément d'attention. Ils postulent que ces cellules pourraient, par un effet paracrine (exercé depuis une distance relativement proche des structures endommagées, mais pas en leur sein), aider à la régénérescence. Il est encore permis d'espérer que des progrès seront réalisés qui augmenteront le potentiel de cellules souches à intégrer tout de même le rein, et à le réparer.

Dans cette perspective, la question est posée (pas seulement pour le rein, mais pour tous les organes, y compris pour la moelle elle-même) de l'intérêt de prélever et stocker à vie les cellules souches circulant dans le sang du cordon d'un individu à sa naissance, pour le cas où la technologie serait disponible à l'avenir pour réparer un rein, un foie, ou guérir une leucémie survenant chez ce même individu. Enfin, imaginer que l'on puisse prélever une cellule souche ou rendue souche, y corriger une mutation génétique, et la réimplanter pour régénérer un rein ou un autre organe, relève aujourd'hui de la science-fiction. Mais qui sait... ■

Correspondance

Pr. Alexandre Hertig

Urgences Néphrologiques et Transplantation Rénale
Hôpital Tenon, 4 rue de la Chine, 75020 Paris, France

Tel : 01 56 01 66 95 - Fax : 01 56 01 79 68

Email : alexandre.hertig@tnn.aphp.fr