HAL
open science

Environnement de la moelle osseuse et domiciliation des cellules souches hématopoïétiques

Adlen Foudi, Yanyan Zhang, He Liang, Monika Wittner, Fawzia Louache

To cite this version:

Adlen Foudi, Yanyan Zhang, He Liang, Monika Wittner, Fawzia Louache. Environnement de la moelle osseuse et domiciliation des cellules souches hématopoïétiques. EMC Hématologie, 2018, 10.1016/S1155-1984(18)83282-4 . hal-02381110

HAL Id: hal-02381110

https://hal.science/hal-02381110v1

Submitted on 26 Nov 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

Titre

Environnement de la moelle osseuse et domiciliation des cellules souches hématopoïétiques

Adlen Foudi[1], Yanyan Zhang[2], He Liang[2], Monika Wittner[2,3], Fawzia Louache[2,3*]

[1]Paris-Saclay University, INSERM UMRS-935, Andre Lwoff Institute, Paul Brousse Hospital, Villejuif
[2]Paris-Saclay University, INSERM UMRS-1170, Gustave Roussy, Villejuif, France
[3]CNRS GDR 3697 MicroNiT

Résumé

La moelle osseuse est un tissu complexe peuplé par divers types cellulaires. Elle est le siège de l'hématopoïèse, processus selon lequel les cellules souches hématopoïétiques vont mener à la formation des cellules hautement spécialisées du sang. Comme pour tous les tissus des organismes multicellulaires, les CSH sont très rares mais en renouvellement constant ce qui leur permet une production des cellules hématopoïétiques tout au long de la vie de l'individu. Cette longévité est régulée par des facteurs moléculaires intrinsèques dont les facteurs de transcription et les régulateurs épigénétiques. Cependant, ces propriétés intrinsèques sont largement modulées par différents facteurs issus de leur environnement immédiat et produits à la fois par les cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques. En effet, en plus d'être le siège de l'hématopoïèse, la moelle osseuse abrite une multitude de populations cellulaires très diverses de type mésenchymateux, endothélial, myofibroblastique et nerveux formant des territoires où les CSH sont enclavées. Dans ces territoires, les molécules d'adhérence, les cytokines et les chimiokines déterminent la localisation spatiale des CSH qui se répartissent au niveau de structures anatomiques spécialisées appelés « niches ». Certaines de ces niches hébergent préférentiellement des CSH activées tandis que d'autres maintiennent le pool de CSH dans un état de quiescence. Au travers d'interactions cellules-cellules ou cellules-protéines de la matrice extracellulaire, les propriétés d'autorenouvellement et de différentiation peuvent ainsi perdurer tout au long de la vie de l'individu.

[*] Correspondance : Fawzia.LOUACHE@inserm.fr,
Inserm U1170, 114 rue Edouard Vaillant
94800 Villejuif
Tel : 00(33) 0142114200
Fax : 00(33) 0142115240

Mots clés :
Cellules souches hématopoïétiques SH
Cellules souches mésenchymateuses SM
Cellules endothéliales
Niche sinusoïdale
Niche péri-vasculaire
Niche péri-artériolaire
CXCL12/CXCR4
Hypoxie

Déclaration d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts.

Plan

Introduction 3

L'hématopoïèse et les CSH sont localisées dans un environnement osseux complexe chez l'adulte : le concept de niche 3

Les principaux composants moléculaires de régulation des CSH dans leurs niches 4

a Les molécules d'adhésion de la matrice extracellulaire 4

b La chimiokine CXCL12 et son récepteur CXCR4 4

c Les facteurs de croissance 5

d Les voies de signalisation TGFβ, Notch et Wnt 5

Les principaux composants cellulaires des niches des CSH 6

a Les cellules endothéliales 6

b Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) 7

c La descendance des CSM 9

d Les cellules hématopoïétiques 9

e Les composants cellulaires du système nerveux 10

f L'hypoxie dans le microenvironnement médullaire 11

Conclusion 12

Références 13

Introduction

En raison de la durée limitée de la majorité des cellules hématopoïétiques matures dans l'organisme et de la nécessité de compenser les pertes physiologiques journalières, le système hématopoïétique adulte doit produire chaque jour 2x10^11 hématies, 10^11 plaquettes et entre 5 à 10x10^10 polynucléaires neutrophiles. Cette production est liée à la présence de CSH douées d'immenses capacités de régénération dues à trois propriétés cardinales communes à toutes les cellules souches adultes : 1) l'autorenouvellement ; 2) la différenciation ; 3) la multipotentialité. La preuve de l'existence de ces cellules a été apportée chez l'homme et la souris par l'identification d'une cellule capable de reconstituer une hématopoïèse complète et à long-terme à l'échelon clonal après greffe dans une souris irradiée. Les CSH sont sollicitées durant le développement embryonnaire, tout le long de la vie de l'individu et également en cas de pertes pathologiques dues à des saignements ou différents stress hématopoïétiques induits par l'inflammation, l'irradiation ou la chimiothérapie.

Les CSH sont très rares et représentent environ 0,003 % des cellules mononuclées d'une moelle de souris adulte. Elles sont caractérisées par l'absence d'expression des marqueurs de surface spécifiques des cellules sanguines matures et sont ainsi comprises dans la fraction dite « lineage negative » (Lin-/faible ou Lin-) chez l'homme et chez la souris (Figure 1). Chez la souris, elles n'expriment pas les antigènes Flk2 (FLT3), CD41 (GPIIb) et CD48 (SLAMF2) tandis qu'elles sont positives pour Sca-1 (Ly6A/E), un membre de la superfamille des immunoglobulines, pour c-Kit, le récepteur à tyrosine kinase de la cytokine SCF/Steel/Kit-L (Stem Cell Factor, Kit-Ligand) [1] ainsi que pour CD150 (SLAMF1) [2]. Par ailleurs, les CSH adultes sont majoritairement CD34-/faible [3]. Chez l'homme, la fonction des CSH ne peut être étudiée qu'après reconstitution dans des souris immunodéficientes à l'aide d'un système de xénotransplantation. Malgré cet obstacle, différents travaux ont montré que la majorité des cellules humaines capables de reconstitution à long terme est de phénotype Lin-CD34+CD38- [4, 5]. Grace à leur meilleure caractérisation phénotypique, les CSH chez la souris ont pu être localisées au niveau de régions médullaires spécialisées appelées niches.

L'hématopoïèse et les CSH sont localisées dans un environnement osseux complexe chez l'adulte : le concept de niche

Les CSH adultes prennent naissance chez l'embryon dans le mésoderme de la plaque latérale différenciée appelé endothélium hémogénique [6-8]. Après une phase d'expansion massive dans le placenta [9] et le foie fœtal [10], elles migrent par voie hématogène vers la moelle osseuse qui va représenter leur domicile définitif dès la naissance. Dans l'environnement médullaire adulte, la production des cellules hématopoïétiques est principalement confinée au tissu spongieux des os plats et courts os sternal, les os iliaques et la tête du fémur (2). L'os spongieux, également appelé os trabéculaire, est formé de lamelles d'os cortical délimitant des logettes où les cellules immatures sont en contact avec l'environnement osseux. Ces unités élémentaires appelées hématons forment des amas cellulaires cohésifs ou grains lors des ponctions-aspirations de la moelle osseuse hématopoïétique humaine (myélogramme) [11]. L'interface entre l'os cortical et la moelle osseuse constitue l'endosteum et est composée principalement d'ostéoblastes, cellules responsables de la formation de l'os et d'ostéoclastes, cellules capables de résorber l'os. Les régions endostéales juxta-trabéculaires des os se répartissent entre la métaphyse, région proche de l'extrémité épiphysaire de l'os et la partie centrale ou diaphyse (Figure 2). Elles sont le siège d'une hématopoïèse active et sont plus riches que la moelle centrale en progéniteurs et en CSH.

Les précurseurs produits dans ces régions migrent vers le sinus pour leur libération dans la circulation sanguine. La répartition particulière des précurseurs hématopoïétiques immatures dans l'environnement de la moelle et la nécessité d'une présence de cellules nourricières médullaires pour leur maintien à long terme in vitro [12]ont conduit au concept de « niche hématopoïétique » [13]. Selon ce concept, la niche serait un espace anatomique dédié aux CSH et capable de générer des signaux décisifs nécessaires au maintien de leurs potentialités. Dans le microenvironnement médullaire, il existerait un espace de vie protecteur capable de limiter la prolifération et l'entrée en différenciation des CSH leur garantissant la capacité de produire des cellules matures tout au long de la vie de l'individu. Plusieurs décennies après, les constituants cellulaires et la localisation des CSH dans l'environnement médullaire sont mieux connus. Environ 30% des CSH sont localisées dans des zones proches de l'endostéum [14], appelées « niches endostéales ». Ces régions endostéales hébergeraient préférentiellement les CSH dormantes [8, 15]. L'autre partie des CSH est localisée dans des zones plus centrales de la moelle en association avec l'endothélium sinusoïdal [2]. Ces « niches sinusoïdales » hébergeraient préférentiellement les CSH en cours d'activation. Plus récemment, les CSH ont également été identifiées à proximité de vaisseaux spécialisés appelés « péri-artériolaires » [16]. En utilisant des souris transgéniques exprimant des rapporteurs fluorescents, il a été montré que les niches sinusoïdales et artériolaires diffèrent par leur composition cellulaire tant au niveau des cellules souches mésenchymateuses que de leurs descendances, les cellules endothéliales et nerveuses. Ces niches diffèrent également par leur composition en cellules hématopoïétiques comme les monocytes/macrophages ou les mégacaryocytes, et par la présence d'autres types cellulaires tels que les cellules nerveuses ou adipocytaires. De nombreux facteurs intracellulaires, membranaires ou sécrétés spécifiques ou redondants sont produits par les composants cellulaires des différentes niches des CSH et des progéniteurs.

Les principaux composants moléculaires de régulation des CSH dans leurs niches

a Les molécules d'adhésion de la matrice extracellulaire

Les cellules du microenvironnement de la moelle osseuse produisent de nombreuses protéines solubles et insolubles formant un réseau dense ou matrice extracellulaire (MEC) dont une des fonctions est de structurer le microenvironnement et permettre l'accrochage des CSH à l'environnement médullaire (Figure 3). Cette matrice se compose majoritairement de glycoprotéines d'adhérence dont différentes formes de collagène, la fibronectine, l'ostéopontine, la laminine et la tenascine C [17, 18]. Les protéines de la MEC interagissent avec les CSH et les progéniteurs au travers de différents récepteurs comme l'intégrine « Very Late Antigen » (VLA) - 4 ($\alpha4\beta1$/CD49d), VLA-5 ($\alpha5\beta1$/CD49e) et le CD44 [19-22]. En plus de ces protéines relativement ubiquitaires, il existe des protéines plus spécifiques de l'environnement de la moelle. C'est le cas de la N-cadhérine, une intégrine homophile calcium-dépendante et l'ostéopontine, toutes deux exprimées par les ostéoblastes immatures et matures et actrices de l'ancrage des CSH et des progéniteurs à l'environnement de la moelle [23, 24]. Les cellules stromales, les macrophages et les cellules hématopoïétiques synthétisent et libèrent au sein de la MEC des enzymes matricielles comme les métalloprotéases (Matrix Metalloproteinases ou MMP) [25] ou les sérines protéases [26] qui vont dégrader la MEC et permettre la migration dans l'environnement et la libération des cellules dans la circulation.

b La chimiokine CXCL12 et son récepteur CXCR4

La MEC agit aussi en présentant aux CSH différents facteurs de croissance (ou cytokines), des chimiokines et autres molécules impliquées dans leur quiescence et leur domiciliation dans la

moelle osseuse [27] (Figure 3). La chimiokine CXCL12/SDF-1 (CXC motif ligand 12/Stromal cell-derived factor-1) produite par les cellules du microenvironnement médullaire joue un rôle particulièrement important dans la régulation de l'hématopoïèse [28, 29]. Son invalidation ou celle de son récepteur CXCR4 (CXC motif receptor 4/CD184) exprimé par les cellules hématopoïétiques, entraine une perte des CSH et des progéniteurs médullaires due à leur circulation anarchique. Ces données montrent le rôle majeur du couple CXCR4/CXCL12 dans la rétention médullaire des CSH [30-33]. CXCL12 possède également une activité chimioattractante puissante liée à sa capacité d'activation des intégrines permettant la domiciliation ou « homing » des CSH et des progéniteurs au niveau de leurs niches hématopoïétiques respectives [34, 35]. Grâce à ces connaissances fondamentales sur les mécanismes de domiciliation des CSH, différents inhibiteurs de CXCR4 ont été développés et sont actuellement utilisés pour améliorer la récupération des CSH dans le sang périphérique lors des protocoles de mobilisation [36].
Au-delà de ces activités de rétention et de chimiotactisme, CXCL12 exerce une activité de promotion du cycle cellulaire des progéniteurs hématopoïétiques à faible dose [37] et inhibe la prolifération à forte concentration [38]. Enfin, au sein des niches hématopoïétiques, le couple CXCR4/CXCL12 protège les CSH des agressions induisant un stress oxydatif et l'apoptose [39].

c Les facteurs de croissance

Parmi les autres acteurs moléculaires majeurs présents au niveau de la MEC, la cytokine SCF (Stem cell Factor) joue un rôle particulièrement important. SCF codé par le locus Steel ou Sl, est le ligand du récepteur c-kit (CD117), lui-même fortement exprimé sur les CSH et les progéniteurs [40, 41]. Cette cytokine secrétée existe également sous forme membranaire et cette dernière joue un rôle tout particulier dans la domiciliation des CSH. En effet, les souris qui n'expriment pas cette forme membranaire (Sl/Sl-d ; Steel/Steel-dickie) ont un pool diminué de CSH lié à des défauts majeurs d'adhérence [42-44]. Néanmoins, la forme soluble de SCF a également un rôle fondamental. En effet, la présence de SCF dans des cultures liquides a un effet puissant sur la survie, la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques et potentialise l'action d'autres cytokines tels que le Flt3-L (ligand de FLK2 ou FLT3), la thrombopoïétine (Tpo) et différentes interleukines dont l'IL-3, IL-6 et IL-11 [40, 45-48]. De même, le SCF a une action synergique avec les « Colony Stimuling Factors » (CSF) qui stimulent la formation de colonies hématopoïétiques in vitro et sont nécessaires à la différentiation des CSH in vivo [49]. D'autres facteurs de croissance et leurs récepteurs régulent l'hématopoïèse en modulant la capacité d'auto-renouvellement des CSH. C'est le cas du facteur angiogénique « Vascular Endothelial Growth Factor » (VEGF) [50], de la thrombopoïétine (Tpo) [51, 52] ou de l'Angiopoietin-1 (ANG-1) [53]. A l'état homéostatique, la majorité des CSH adultes sont peu proliferatives dans l'environnement médullaire et seulement 15-20% d'entre elles se divisent une fois tous les 125-150 jours, ce qui correspond à environ 5 divisions durant toute la vie de la souris [54, 55].

d Les voies de signalisation TGFβ, Notch et Wnt

La voie du TGFβ tient une place particulièrement importante dans cette propriété de quiescence par l'induction de l'expression d'inhibiteurs de kinase dépendant des cyclines (CDKI) tels que p57Kip2 [56, 57]. Cependant, dans des conditions de stress, d'inflammation ou de saignement, les CSH sont activées par différents médiateurs dont l'interféron α et l'interféron γ ainsi que le tumor necrosis factor alpha (TNFα). De manière paradoxale, ces trois cytokines sont connues pour leur action antiproliférative dans des systèmes de culture in vitro. Ces résultats indiquent que le maintien à long terme des CSH nécessite un équilibre très fin entre dormance et activation

expliquant pourquoi les CSH ne peuvent pas être amplifiées ni maintenues ex vivo par une combinaison de cytokines solubles utilisées à des doses pharmacologiques. La présence de cellules stromales dans ces cultures permet leur maintien partiel démontrant leur capacité à apporter de manière plus physiologique et équilibrée les différentes cytokines nécessaires. De plus, les cellules stromales activent d'autres voies de manière paracrine. C'est le cas de la signalisation Notch connues pour son rôle important au cours du développement et dont les ligands Delta and Jagged peuvent induire de manière paracrine l'expansion des CSH et des progéniteurs in vitro [58-60]. De même, la voie de signalisation Wnt est un régulateur clé connu de différents types de cellules souches. In vitro, les membres de la famille Wnt et l'activation constitutive de la β-caténine permettent l'amplification des CSH humaines et murines [61-63]. Par contre in vivo, la suppression de cette protéine n'a pas d'effet évident sur les CSH [64, 65] suggérant que la signalisation canonique Wnt joue un rôle mineur dans le maintien des CSH. En revanche, la voie de signalisation non canonique Wnt pourrait avoir une incidence sur le nombre des CSH. En effet, la surexpression de Dkk1, un inhibiteur de la signalisation Wnt canonique et non canonique dans les ostéoblastes conduit à la perte de la quiescence des CSH et à leur réduction après transplantation [66]. De même, les « Bone Morphogenetic Proteins » (BMP), comme BMP-2 et BMP-7, induisent la quiescence des CSH tandis que BMP-4 assure leur maintien en culture [67].

Les principaux composants cellulaires des niches des CSH

a Les cellules endothéliales

Le tissu osseux contient un réseau vasculaire très riche qui occupe environ 30% du volume de la moelle avec des vaisseaux sanguins présents dans tous les territoires y compris l'os cortical [68]. Chez la souris adulte, plus de 60% des CSH de phénotype CD150+CD48-CD41- sont retrouvées à moins de 10 μm de la microvasculature [69] suggérant que les CE jouent un rôle important dans la biologie des CSH. Ce rôle régulateur est bien illustré chez l'embryon où les CSH se développent en lien étroit avec des cellules endothéliales « hémogéniques » de l'AGM [70]. Par ailleurs, l'infusion de progéniteurs endothéliaux accélère la reconstitution hématopoïétique lors de transplantation de CSH [71]. Enfin, la culture des CSH en présence de CE permet le maintien voire l'augmentation de leur activité de repopulation à long terme [58, 72-74]. Les expériences in vivo de délétion conditionnelle des régulateurs des CE confirment le rôle important des CE dans l'hématopoïèse. Ainsi, la délétion conditionnelle récepteur de type 2 du facteur angiogénique « Vascular Endothelial Growth Factor » (VEGFR2) chez la souris adulte entraine des défauts de régénération de l'endothélium sinusoïdal après irradiation sub-léthale et empêche la reconstitution hématopoïétique [75]. De même, la délétion de la gp130, une des sous unités du récepteur des membres des cytokines de la famille de l'IL6 entraine une hypo-cellularité des niches vasculaires médullaires probablement liée à une diminution des CE [76]. Les souris développent une splénomégalie avec une hématopoïèse extramédullaire suggérant que les CE de la moelle sont impliquées dans la rétention des CSH au niveau de leur niche médullaire. Au-delà de leur rôle de régulation des échanges cellulaires et de nutriments, les CE expriment à leur surface et produisent dans l'environnement médullaire des régulateurs importants de la prolifération et la quiescence des CSH. Parmi ces facteurs, la E-Sélectine exprimée sur l'endothélium des sinusoïdes médullaires est importante pour la mise en cycle des CSH et sa délétion entraine une augmentation de la quiescence des CSH [77]. Par ailleurs, les CSH de souris déficientes pour l'expression endothéliale de l'Angiopoietin-like protein 3 sont moins quiescentes et montrent une perte de leur propriété d'autorenouvellement [78]. Enfin, l'utilisation de souris transgéniques ayant soit une insertion du gène de la protéine fluorescente GFP au locus

SCF ou bien une invalidation de l'expression de CXCL12 spécifiquement dans les cellules endothéliales conduit à une perte massive du pool de CSH [79-81]. La vascularisation de la moelle se fait à partir d'artères nourricières et d'artérioles afférentes qui pénètrent les os longs au niveau de la tête du fémur ou du tibia. Ces artérioles se ramifient en un riche réseau de capillaires qui se connectent aux sinusoïdes eux-mêmes drainés par les veines centrales au niveau de la région diaphysaire de l'os (Figure 4). L'imagerie haute définition a montré que les capillaires de la métaphyse et de l'endostéum ont une organisation en colonnes avec peu de branchement. Ils sont appelés capillaires de type H car ils expriment fortement le CD31 et l'endomucine. Inversement, les capillaires sinusoïdaux sont majoritairement présents dans la cavité centrale médullaire et ont une organisation plus complexe, irrégulière, très branchée et beaucoup moins hiérarchique. Ils forment les capillaires de type L caractérisés par une expression faible du CD31 et l'endomucine [82, 83]. Au-delà des différences phénotypiques et structurales, les études in vivo chez la souris ont montré des différences fonctionnelles majeures. Ainsi, les sinusoïdes diffèrent des artérioles par une faible intégrité de leur paroi les rendant très perméables. De plus, les sinusoïdes expriment plus faiblement la protéine de jonctions adhérentes VE-cadherin et les molécules des jonctions serrées JAM-A et ZO-1. Ces différences expliquent pourquoi les sinusoïdes sont les sites exclusifs d'échanges des CSH et de progéniteurs vers et à partir de la moelle, processus appelés domiciliation (ou homing) et mobilisation, respectivement. Ce flux migratoire est facilité par l'expression endothéliale de facteurs clé comme CXCL12, la E-Selectine, le « Vascular Cell Adhesion Molecule-1 » (VCAM-1/CD106) ainsi que leurs récepteurs respectifs [84-86]. Par contre, les CE des artérioles sont beaucoup moins perméables et le flux sanguin ainsi que les forces de cisaillement y sont plus élevés. Ces caractéristiques suggèrent que la signalisation par les forces mécaniques au niveau des artères peut également intervenir dans la régulation des CSH comme cela a été montré chez l'embryon [87]. Au total, ces données indiquent que les CE sont des éléments clé des niches sinusoïdales et péri-artériolaires de par leur rôle fondamental dans la régulation du flux de CSH entre la périphérie et la moelle, ainsi que dans la régulation de leurs fonctions.

b Les cellules souches mésenchymateuses (CSM)

Les cellules souches mésenchymateuses ou cellules stromales mésenchymateuses (CSM) représentent des sous populations minoritaires dans le microenvironnement médullaire. Leur rôle majeur dans la régulation de l'hématopoïèse a été illustré par le fait que leur utilisation dans un système de co-culture avec des CSH préserve les capacités de reconstitution de ces dernières et que leurs co-injection in vivo améliore la reconstitution hématopoïétique. Ces populations qualifiées de cellules souches en raison de leur capacité à générer différents types de cellules stromales matures comme les adipocytes, les chondrocytes, les ostéoblastes et les fibromyocytes représentent des cellules à différents stades de développement [88, 89]. Comme les CSH, elles sont douées de capacité d'autorenouvellement in vivo chez la souris et la majorité d'entre elles expriment des gènes associés à la pluripotence comme Oct4, Sox2 et Nanog. A l'origine, elles ont été identifiées comme des cellules non hématopoïétiques, adhérentes au plastique, de forme fusiforme et douées de capacités à former des colonies in vitro ou CFU-F (Colony-Forming-Unit-Fibroblasts). Différents types de CSM médullaires ont été caractérisées et impliquées dans la régulation des CSH (Figure 5).

Ainsi, on distingue les CSM péri-sinusoïdales qui se trouvent juxtaposées avec l'endothélium sinusoïdal de la région centrale de la moelle. Une partie des CSH de phénotype CD150+CD48- est retrouvée à leur contact. Ces cellules, d'aspect réticulé, sont caractérisées par de longues extensions cytoplasmiques et une expression importante de CXCL12, ce qui leur a valu

l'appellation de cellules CAR (CXCL12 abundant reticular cells) [35]. Les CAR produisent également de grande quantité de la cytokine SCF. Un autre type de CSM médullaires exprime la nestine (CSM-N+) est retrouvé dans des zones exclusivement péri-vasculaires adjacentes à l'os et dans le parenchyme [90]. Tout comme les CAR, ces cellules sont caractérisées par une forte expression de facteurs de la niche dont CXCL12, SCF, Angiopoiétine-1, IL-7, et VCAM-1 [91].
D'autres CSM péri-vasculaires de la région endostéale ou à proximité des sinusoïdes expriment faiblement la nestine mais sont positives pour le récepteur de la leptine (CSM-LepR+) [92]. Ces dernières ont la particularité d'être associées à des terminaisons nerveuses sympathiques. Certaines de ces cellules et tout particulièrement celles qui entourent les sinusoïdes sont caractérisées par une forte production de SCF et de CXCL12 suggérant que les cellules LepR+ sont en partie redondantes avec les CSM-N+ et les CAR [16]. Plus récemment, l'utilisation de l'immunofluorescence en microscopie confocale associée à une modélisation bioinformatique a montré qu'une partie des CSH est localisée à proximité de petites artérioles de l'endosteum particulières par la présence de fibres nerveuses sympathiques et de cellules nerveuses de Schwann connues pour réguler la quiescence des CSH [92]. Ces structures vasculaires de petit calibre sont entourées de rares CSM exprimant le protéoglycane NG2 (nerve/glial antigen 2) [79]. Ces CSM dites péri-artériolaires (CSM-Peri) se distinguent des cellules CSM-N+ péri-sinusoïdales par une très forte expression de la nestine, une absence de récepteur de la leptine et ne représentent que 0,002% des cellules médullaires totales. Enfin, ces cellules expriment plus fortement les facteurs de la niche comme CXCL12, SCF, Angiopoiétine-1, VCAM-1 et l'Ostéopontine comparées aux autres populations de CSM. Ces résultats suggèrent l'existence de plusieurs types de CSM capables de servir de niche pour les CSH. Elles se distinguent par leur potentialité à générer les différents types de cellules mésenchymateuses, leur production de facteurs de la niche et leurs effets sur les propriétés des CSH. En accord avec cette notion, leur délétion impacte de manière différente les CSH. En effet, la déplétion des CAR entraine une perte partielle des CSH et la diminution de leur prolifération [91] tandis qu'une absence de CSM-N+ entraine une diminution de 90% des capacités de domiciliation des CSH dans la moelle de receveurs et leur mobilisation massive vers la rate [79]. Enfin, l'absence de CSM-Peri entraine une activation des CSH et réduit leur capacité de population à long-terme. Une délétion de CXCL12 au sein de ces dernières entraine une forte diminution du nombre de CSH et altère leur localisation, alors qu'une délétion de CXCL12 au niveau des CSM-LepR+ a peu d'impact sur le pool de CSH. Inversement, la délétion de SCF dans les CSM-Péri a peu d'impact sur les CSH alors que son absence au niveau des CSM-LepR+ diminue le nombre de CSH et entraine leur mobilisation dans la rate [79]. Ces résultats indiquent que les facteurs de la niche ont des effets différentiels en fonction des cellules qui les produisent.
Au total, la majorité des CSH sont localisées dans des niches péri-vasculaires de type péri-sinusoïdales ou péri-artériolaires composées de CSM spécifiques mais qui peuvent être fonctionnellement redondantes dans leurs capacités à contrôler les propriétés cardinales des CSH. Ces populations de CSM se distinguent non seulement par leur localisation dans la cavité médullaire et leur association avec différents types de vaisseaux sanguins mais également par leur multipotentialité et autorenouvellement. Quel que soit leur localisation, les CSM peuvent être isolées chez la souris par cytométrie en flux, à partir du fût de moelle ou de l'os digéré par traitement à la collagénase, au sein de populations non hématopoïétiques, dépourvues de marqueurs endothéliaux, et exprimant les marqueurs de cellules mésenchymateuses tels que CD51 et le récepteur du PDGF alpha (CD140a) [93]. Chez l'homme, les CSM se définissent par l'expression des marqueurs membranaires CD271, CD140a, CD105, CD73, et CD90 [89, 93] et

comme chez la souris, elles sont capables de produire des facteurs impliqués dans le maintien des CSH notamment CXCL12 et SCF.

c La descendance des CSM

L'impact de la délétion d'une ou l'autre des populations de CSM peut s'exercer au travers de l'absence de production des types cellulaires qui en dérivent. Ainsi, les ostéoblastes sont générés par la différentiation des MSC. Leur rôle spécifique a été étudié chez la souris par l'analyse des effets de l'augmentation de leur nombre après activation par l'hormone parathyroidienne ou l'invalidation du récepteur morphogénique de l'os BMPR1A. Ces stratégies entrainent une augmentation parallèle du nombre de progéniteurs hématopoiétiques qui se retrouvent associés à des ostéoblastes immatures appelés cellules SNO (spindle-shaped N-cadherin+ osteoblastic) [94]. Les cellules SNO expriment la N-cadhérine permettant l'adhérence des progéniteurs tandis que la production d'ostéopontine et d'angiopoiétine favorise leur quiescence. Par ailleurs, la déplétion conditionnelle des ostéoblastes entraine une déplétion des progéniteurs lymphoïdes, érythroides et myéloïdes sans toutefois affecter de manière significative le compartiment des CSH [95, 96]. De manière similaire, il a été montré que l'invalidation de CXCL12 dans les ostéoblastes n'a pas de conséquences sur le pool de CSH, mais induit une diminution significative des progéniteurs lymphoïdes [81]. Ces résultats illustrent comment l'environnement osseux participe à la régulation de l'immunité en contrôlant le pool de progéniteurs lymphoïdes.

Les cavités de moelle osseuse contiennent un tissu hématopoïétique actif appelé moelle rouge. Très précocement dans l'enfance, la moelle rouge est remplacée progressivement par un tissu dit « moelle jaune » constitué de cellules non hématopoïétiques adipocytaire accumulant des gouttelettes lipidiques. Le rôle des adipocytes a récemment été mis en lumière par l'utilisation d'un modèle murin de lipoatrophie caractérisé par une absence total d'adipocytes [97] et par la démonstration qu'ils représentent une source importante de SCF médullaire [98]. De manière intéressante, la reconstitution hématopoïétique chez ces souris lipoatrophiées est accélérée par rapport aux contrôles ce qui corrobore le lien entre les altérations hématopoïétiques du sujet âgé ou obèse et la présence du nombre élevé d'adipocytes chez ces individus. Un des mécanismes par lequel les adipocytes inhiberaient l'hématopoïèse est la production excessive de Dipeptidyl peptidase-4, une protéase qui clive divers substrats nécessaires à la domiciliation et la survie des CSH notamment CXCL12 [99]. Toutefois, ces résultats semblent en contradiction avec les données récentes montrant un rôle protecteur des adipocytes sur les CSH par la sécrétion de SCF notamment au cours de l'hématopoïèse de stress après irradiation [98]. Le rôle précis des adipocytes dans la régulation des CSH, au sein des niches médullaires reste donc à clarifier.

d Les cellules hématopoïétiques

Les cellules hématopoïétiques matures représentent plus de 99 % des cellules de la moelle rouge des os. Ces cellules sont des éléments importants de régulation des CSH non seulement par leur omniprésence qui contribue à la cohésion du tissu hématopoïétique mais également par leur production de facteurs capables d'influencer directement les CSH ou les cellules qui leur servent de niche. Parmi les cellules hématopoïétiques, des macrophages particuliers exprimant le CD169 jouent un rôle important dans la domiciliation des CSH et des progéniteurs. En effet, la déplétion sélective de ces cellules chez des souris transgéniques exprimant le récepteur de mort FAS ou suite à l'administration de particules lipidiques contenant du chlodronate entraine une forte réduction des ostéoblastes de l'endosteum [15]. La diminution de l'expression médullaire de CXCL12, de SCF, de VCAM-1 et de l'Angiopoiétine-1 qui s'ensuit induit alors le détachement des CSH et leur mise en circulation [100]. Les macrophages CD169+ induisent aussi la

production de CXCL12, de VCAM-1 et de SCF par les CSM-N+. En accord avec un rôle important des cellules dérivées de la différentiation macrophagique, l'activation des ostéoclastes, cellules responsables avec les ostéoblastes de l'homéostasie osseuse, entraine une résorption osseuse accompagnée d'une augmentation des CSH dans le sang [101]. Ces résultats indiquent que le remodelage osseux est important pour la rétention médullaire des CSH. Les ions calciques produits lors de ce remodelage pourraient en être les médiateurs. En effet, l'invalidation du récepteur senseur du calcium (CaR) normalement exprimé par les CSH ou son inhibition pharmacologique entraine une circulation des CSH et une hématopoïèse extramédullaire [102].
Les polynucléaires neutrophiles et leurs précurseurs sont également une population importante dans la régulation de l'hématopoïèse et contribuent tout particulièrement aux processus de migration et rétention médullaire des CSH et des progéniteurs. En réponse à différentes cytokines comme le G-CSF ou certaines chimiothérapies, les CSH et les progéniteurs sont libérés dans la circulation sanguine. Cette mobilisation est en partie liée à l'activation des polynucléaires et de leurs précurseurs médullaires en réponse au G-CSF ou à une chimiothérapie. Cette activation est associée à la production de différentes protéases comme la cathepsine G, l'élastase, MMP-2 et MMP-9 qui vont entrainer la dégradation protéolytique de CXCR4 et la perte de sa fonction de rétention [103]. Durant cette cascade protéolytique, plusieurs autres substrats sont également clivés notamment le SCF membranaire, le ligand de l'intégrine VLA-4, la protéine VCAM-1 et CXCL12.
Un des mécanismes par lesquels les CSH perdurent à long terme est leur état de quiescence quasi permanent. Cette quiescence les protège à la fois contre l'accumulation de mutations potentiellement oncogéniques mais également des pertes de potentialités souvent associées à leur division. Les mégacaryocytes, cellules à l'origine des plaquettes sanguines, sont une source importante de TGF-β, un inhibiteur bien connu de la prolifération des CSH. En faveur d'un rôle de cette cytokine dans la quiescence des CSH, l'invalidation conditionnelle du TGF-β dans les mégacaryocytes entraine une augmentation de leur prolifération. Les mégacaryocytes produisent également la chimiokine CXCL4, aussi appelée PF4, connue pour inhiber la prolifération des CSH. La déplétion des mégacaryocytes dans des modèles de souris est associée à une augmentation de la prolifération des CSH [104]. Ces données indiquent que les mégacaryocytes constituent un des éléments de la niche des CSH et qu'ils contribuent au maintien de leur quiescence par l'intermédiaire de la sécrétion de TGF-β et de CXCL4.

e Les composants cellulaires du système nerveux

Comme pour tous les autres tissus, l'hématopoïèse est fortement connectée avec le système nerveux par l'intermédiaire de terminaisons nerveuses. Ces fibres nerveuses traversent l'os et pénètrent dans la moelle en étroite association avec l'espace vasculaire apportant ainsi différents neuromédiateurs dans l'environnement médullaire. La branche sympathique du système nerveux autonome est retrouvée à proximité des ostéoblastes et des ostéoclastes qui bordent l'endosteum ainsi que dans des régions péri-artériolaires caractérisées par la présence des CSM-N+. Ces fibres forment des synapses avec les cellules péri-vasculaires autour d'un sous-ensemble de vaisseaux sanguins médullaires formant un complexe dit « neuroreticulaire ». Ces fibres produisent de grandes quantités de catécholamines, comme la dopamine, la norepinephrine et l'epinephrine, de puissants neuromédiateurs capables de stimuler les CSM au travers des récepteurs β3-adrenergiques inhibant ainsi la différenciation ostéoblastique. Ces neuromédiateurs peuvent également se lier sur les récepteurs adrénergiques exprimés par les ostéoblastes, altérant leur prolifération, la formation osseuse et menant à une organisation anormale des niches. Par ailleurs,

l'administration de catécholamines comme la norepinephrine est accompagnée par une augmentation de CXCL12 circulant et une rapide mobilisation des CSH confortant le rôle important des neuromédiateurs adrénergiques sur les niches des CSH. De plus, l'absence de catécholamines empêche la diminution de la production de CXCL12 par les ostéoblastes médullaires et inhibe la mobilisation induite par le G-CSF [105]. Le comportement des CSH peut également être directement influencé par le système nerveux sympathique. En effet, les progéniteurs humaines et murins expriment les récepteurs β2-adrenergiques et leur expression est induite par le G-CSF suggérant que les signaux adrénergiques peuvent réguler à la fois l'hématopoïèse basale et celle associée au stress hématopoïétique [106]. En plus des fibres nerveuses sympathiques, d'autres types cellulaires dérivés de la crête neurale régulent l'homéostasie des CSH. C'est le cas des cellules de Schwann non myélinisées dont la présence à proximité des CSH préserve leur quiescence à travers l'activation du TGF-β et de la signalisation SMAD [107]. La dénervation des nerfs autonomes entraine une diminution significative des cellules de Schwann dans la moelle osseuse et une augmentation drastique de la prolifération des CSH. Enfin, l'horloge moléculaire qui coordonne les réponses circadiennes joue un rôle important dans la migration et la rétention des CSH et des progéniteurs au niveau de la moelle osseuse [108]. Les CSH et les progéniteurs entrent en circulation selon un rythme cyclique régulé par la lumière. Ces fluctuations sont dépendantes de signaux sympathiques et s'exercent au travers des récepteurs β3-adrénergiques exprimés par les cellules stromales de la moelle et dont la stimulation conduit à une diminution de l'expression de CXCL12. Ces oscillations circadiennes sont dépendantes de l'horloge moléculaire et entrainées par la lumière. Parallèlement à la régulation de CXCL12, l'expression membranaire de CXCR4 est également soumise à des fluctuations circadiennes. Ces données suggèrent que le système nerveux sympathique représente un élément régulateur important des niches des CSH.

f L'hypoxie dans le microenvironnement médullaire

Bien que la moelle osseuse soit fortement vascularisée, la pression d'O2 y est relativement faible par rapport aux autres organes [109]. Les réponses à l'hypoxie sont médiées essentiellement par les facteurs hypoxia inducible factor-1α (HIF) et HIF-2α. Ces deux gènes maitres des réponses hypoxiques sont bien exprimés dans les CSH et contrôlent l'expression de plusieurs gènes importants pour leur biologie. C'est le cas des CDKI (cyclin dependent kinase inhibitors) p27Kip1 et p57Kip2 dont l'expression est induite en réponse à l'hypoxie. Ces résultats indiquent que la stabilisation des facteurs HIF dans l'environnement médullaire joue un rôle important dans l'induction de la quiescence des CSH [110]. L'hypoxie contribue également à la régulation de la migration et de la mobilisation. En effet, le récepteur CXCR4 est régulé positivement par HIF-1α et sa stabilisation dans les progéniteurs par un inhibiteur de PHD améliore la migration et la prise de greffe.

La production aberrante d'espèces réactives d'oxygène (ROS), dérivés de la phosphorylation oxydative mitochondriale, entrave non seulement la survie et la capacité de différenciation des CSH mais également leur capacité de reconstitution à long terme [111]. Dans ce contexte, la faible teneur en oxygène moléculaire des niches peut en soit être un paramètre de la réduction de la production des ROS par les CSH. De plus, les facteurs HIF jouent un rôle actif dans cette régulation. En effet, HIF-1α active la glycolyse et supprime l'afflux de métabolites glycolytiques. Enfin, HIF-1 induit l'expression de CXCR4 qui en retour limite la production des ROS [39].

L'effet de l'hypoxie ne se limite pas seulement aux CSH mais également aux cellules du microenvironnement. C'est le cas des CSM pour lesquelles la stabilisation de HIF-1α entraine la répression de la transcription du facteur RUNX2 (runt-related transcription factor 2), régulateur

clé de l'ostéogenèse [112]. L'hypoxie contribue donc au maintien des potentialités des CSM. De même l'invalidation de HIF-1α dans la lignée ostéogénique entraine des défauts de formation des trabécules osseuses [113]. Plus directement, la stabilisation de HIF dans les cellules stromales de la moelle régule les différents facteurs de la niche dont SCF, CXCL12 et VEGF. Ces résultats indiquent que l'hypoxie dans l'environnement médullaire régule activement les propriétés à long terme des CSH par une action directe mais également en modulant les propriétés des cellules qui leur servent de niche.

Conclusion

Après plusieurs décennies, le concept de niche a été validé par des données expérimentales essentiellement obtenues chez l'animal dont la souris ou le poisson zèbre. Grace à des progrès techniques tant en imagerie à haute résolution en temps réel qu'en ingénierie génétique, la nature moléculaire et cellulaire des niches médullaires des CSH est mieux connue et la liste des facteurs qui régulent leurs propriétés ne cesse de s'allonger. Maintenant qu'il est possible d'obtenir des modèles animaux où des populations cellulaires d'intérêt peuvent être invalidées spécifiquement, les ambiguïtés sur le chevauchement des populations de cellules stromales pourront être levées et la fonction d'un gène dans une population précise pourra être connue. Par ailleurs, bien que le phénotype des CSH soit mieux caractérisé, il reste cependant important d'identifier un ou plusieurs marqueurs spécifiques capables de les localiser avec davantage de précision dans leurs niches in situ. En effet, une meilleure connaissance de leur localisation a déjà permis et pourra aider à identifier de nouvelles niches et/ou de nouveaux acteurs. De même, les différentes niches des CSH ne sont actuellement définies que par la combinaison de plusieurs marqueurs. Des progrès dans ce sens permettraient de comparer anatomiquement les niches des CSH et leurs fonctions au cours du développement. Ainsi, une meilleure connaissance des niches du foie fœtal connues pour être favorables à l'expansion des CSH permettrait de développer des stratégies visant à amplifier les CSH in vitro pour des transplantations et dans des protocoles de transfert de gènes à visée thérapeutique. De même, ces progrès sont essentiels pour identifier des moyens de préserver l'intégrité de l'hématopoïèse sous stress ou en réponse au vieillissement. Enfin, il reste à déterminer comment les niches médullaires participent au développement de pathologies impliquant les CSH telles que les aplasies médullaires ou les leucémies [114].

Références

1. Ikuta, K. and I.L. Weissman, Evidence that hematopoietic stem cells express mouse c-kit but do not depend on steel factor for their generation. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. 89(4): p. 1502-6.
2. Kiel, M.J., et al., SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. Cell, 2005. 121(7): p. 1109-21.
3. Wilson, N.K., et al., Combined Single-Cell Functional and Gene Expression Analysis Resolves Heterogeneity within Stem Cell Populations. Cell Stem Cell, 2015. 16(6): p. 712-24.
4. Majeti, R., C.Y. Park, and I.L. Weissman, Identification of a hierarchy of multipotent hematopoietic progenitors in human cord blood. Cell Stem Cell, 2007. 1(6): p. 635-45.
5. Notta, F., et al., Isolation of single human hematopoietic stem cells capable of long-term multilineage engraftment. Science, 2011. 333(6039): p. 218-21.
6. Ivanovs, A., et al., Human haematopoietic stem cell development: from the embryo to the dish. Development, 2017. 144(13): p. 2323-2337.
7. Medvinsky, A. and E. Dzierzak, Definitive hematopoiesis is autonomously initiated by the AGM region. Cell, 1996. 86(6): p. 897-906.
8. Nombela-Arrieta, C., et al., Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment. Nat Cell Biol, 2013. 15(5): p. 533-43.
9. Gekas, C., et al., The placenta is a niche for hematopoietic stem cells. Dev Cell, 2005. 8(3): p. 365-75.
10. Migliaccio, G., et al., Human embryonic hemopoiesis. Kinetics of progenitors and precursors underlying the yolk sac----liver transition. J Clin Invest, 1986. 78(1): p. 51-60.
11. Blazsek, I., et al., Hematon: a multicellular functional unit in primary hematopoiesis. Biomed Pharmacother, 1988. 42(10): p. 661-8.
12. Dexter, T.M. and N.G. Testa, In vitro methods in haemopoiesis and lymphopoiesis. J Immunol Methods, 1980. 38(3-4): p. 177-90.
13. Schofield, R., The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. Blood Cells, 1978. 4(1-2): p. 7-25.
14. Nilsson, S.K., H.M. Johnston, and J.A. Coverdale, Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: inferences for the localization of stem cell niches. Blood, 2001. 97(8): p. 2293-9.
15. Winkler, I.G., et al., Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. Blood, 2010. 116(23): p. 4815-28.
16. Kunisaki, Y., et al., Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. Nature, 2013. 502(7473): p. 637-43.
17. Gattazzo, F., A. Urciuolo, and P. Bonaldo, Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. Biochim Biophys Acta, 2014. 1840(8): p. 2506-19.
18. Nilsson, S.K., et al., Immunofluorescence characterization of key extracellular matrix proteins in murine bone marrow in situ. J Histochem Cytochem, 1998. 46(3): p. 371-7.
19. Coulombel, L., et al., Expression and function of integrins on hematopoietic progenitor cells. Acta Haematol, 1997. 97(1-2): p. 13-21.
20. Ghaffari, S., et al., CD44 isoforms in normal and leukemic hematopoiesis. Exp Hematol, 1999. 27(6): p. 978-93.
21. Humphries, J.D., A. Byron, and M.J. Humphries, Integrin ligands at a glance. J Cell Sci, 2006. 119(Pt 19): p. 3901-3.

22. Papayannopoulou, T., et al., The VLA4/VCAM-1 adhesion pathway defines contrasting mechanisms of lodgement of transplanted murine hemopoietic progenitors between bone marrow and spleen. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. 92(21): p. 9647-51.
23. Nilsson, S.K., et al., Osteopontin, a key component of the hematopoietic stem cell niche and regulator of primitive hematopoietic progenitor cells. Blood, 2005. 106(4): p. 1232-9.
24. Klamer, S. and C. Voermans, The role of novel and known extracellular matrix and adhesion molecules in the homeostatic and regenerative bone marrow microenvironment. Cell Adh Migr, 2014. 8(6): p. 563-77.
25. Heissig, B., et al., Contribution of the fibrinolytic pathway to hematopoietic regeneration. J Cell Physiol, 2009. 221(3): p. 521-5.
26. Ou, X., H.A. O'Leary, and H.E. Broxmeyer, Implications of DPP4 modification of proteins that regulate stem/progenitor and more mature cell types. Blood, 2013. 122(2): p. 161-9.
27. Mohle, R. and L. Kanz, Hematopoietic growth factors for hematopoietic stem cell mobilization and expansion. Semin Hematol, 2007. 44(3): p. 193-202.
28. Nagasawa, T., et al., Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. Nature, 1996. 382(6592): p. 635-8.
29. Zou, Y.R., et al., Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. Nature, 1998. 393(6685): p. 595-9.
30. Foudi, A., et al., Reduced retention of radioprotective hematopoietic cells within the bone marrow microenvironment in CXCR4-/- chimeric mice. Blood, 2006. 107(6): p. 2243-51.
31. Levesque, J.P., et al., Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. J Clin Invest, 2003. 111(2): p. 187-96.
32. Ma, Q., D. Jones, and T.A. Springer, The chemokine receptor CXCR4 is required for the retention of B lineage and granulocytic precursors within the bone marrow microenvironment. Immunity, 1999. 10(4): p. 463-71.
33. Tzeng, Y.S., et al., Loss of Cxcl12/Sdf-1 in adult mice decreases the quiescent state of hematopoietic stem/progenitor cells and alters the pattern of hematopoietic regeneration after myelosuppression. Blood, 2011. 117(2): p. 429-39.
34. Peled, A., et al., Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. Science, 1999. 283(5403): p. 845-8.
35. Sugiyama, T., et al., Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. Immunity, 2006. 25(6): p. 977-88.
36. Hoggatt, J., et al., Rapid Mobilization Reveals a Highly Engraftable Hematopoietic Stem Cell. Cell, 2017.
37. Lataillade, J.J., et al., Stromal cell-derived factor 1 regulates primitive hematopoiesis by suppressing apoptosis and by promoting G(0)/G(1) transition in CD34(+) cells: evidence for an autocrine/paracrine mechanism. Blood, 2002. 99(4): p. 1117-29.
38. Nie, Y., Y.C. Han, and Y.R. Zou, CXCR4 is required for the quiescence of primitive hematopoietic cells. J Exp Med, 2008. 205(4): p. 777-83.
39. Zhang, Y., et al., CXCR4/CXCL12 axis counteracts hematopoietic stem cell exhaustion through selective protection against oxidative stress. Sci Rep, 2016. 6: p. 37827.
40. Lennartsson, J. and L. Ronnstrand, Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. Physiol Rev, 2012. 92(4): p. 1619-49.
41. Thoren, L.A., et al., Kit regulates maintenance of quiescent hematopoietic stem cells. J Immunol, 2008. 180(4): p. 2045-53.

42. Barker, J.E., Sl/Sld hematopoietic progenitors are deficient in situ. Exp Hematol, 1994. 22(2): p. 174-7.
43. Driessen, R.L., H.M. Johnston, and S.K. Nilsson, Membrane-bound stem cell factor is a key regulator in the initial lodgment of stem cells within the endosteal marrow region. Exp Hematol, 2003. 31(12): p. 1284-91.
44. Kodama, H., et al., Involvement of the c-kit receptor in the adhesion of hematopoietic stem cells to stromal cells. Exp Hematol, 1994. 22(10): p. 979-84.
45. Dick, J.E., et al., Assay of human stem cells by repopulation of NOD/SCID mice. Stem Cells, 1997. 15 Suppl 1: p. 199-203; discussion 204-7.
46. Gammaitoni, L., et al., Ex vivo expansion of human adult stem cells capable of primary and secondary hemopoietic reconstitution. Exp Hematol, 2003. 31(3): p. 261-70.
47. Miller, C.L. and C.J. Eaves, Expansion in vitro of adult murine hematopoietic stem cells with transplantable lympho-myeloid reconstituting ability. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. 94(25): p. 13648-53.
48. Zandstra, P.W., et al., Cytokine manipulation of primitive human hematopoietic cell self-renewal. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. 94(9): p. 4698-703.
49. Lemieux, M.E., et al., Differential ability of flt3-ligand, interleukin-11, and Steel factor to support the generation of B cell progenitors and myeloid cells from primitive murine fetal liver cells. Exp Hematol, 1997. 25(9): p. 951-7.
50. Gerber, H.P. and N. Ferrara, The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. J Mol Med (Berl), 2003. 81(1): p. 20-31.
51. Hitchcock, I.S. and K. Kaushansky, Thrombopoietin from beginning to end. Br J Haematol, 2014. 165(2): p. 259-68.
52. Yoshihara, H., et al., Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. Cell Stem Cell, 2007. 1(6): p. 685-97.
53. Arai, F., et al., Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. Cell, 2004. 118(2): p. 149-61.
54. Foudi, A., et al., Analysis of histone 2B-GFP retention reveals slowly cycling hematopoietic stem cells. Nat Biotechnol, 2009. 27(1): p. 84-90.
55. Wilson, A., et al., Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. Cell, 2008. 135(6): p. 1118-29.
56. Blank, U. and S. Karlsson, TGF-beta signaling in the control of hematopoietic stem cells. Blood, 2015. 125(23): p. 3542-50.
57. Yamazaki, S., et al., TGF-beta as a candidate bone marrow niche signal to induce hematopoietic stem cell hibernation. Blood, 2009. 113(6): p. 1250-6.
58. Butler, J.M., et al., Endothelial cells are essential for the self-renewal and repopulation of Notch-dependent hematopoietic stem cells. Cell Stem Cell, 2010. 6(3): p. 251-64.
59. Karanu, F.N., et al., The notch ligand jagged-1 represents a novel growth factor of human hematopoietic stem cells. J Exp Med, 2000. 192(9): p. 1365-72.
60. Ohishi, K., B. Varnum-Finney, and I.D. Bernstein, Delta-1 enhances marrow and thymus repopulating ability of human CD34(+)CD38(-) cord blood cells. J Clin Invest, 2002. 110(8): p. 1165-74.
61. Austin, T.W., et al., A role for the Wnt gene family in hematopoiesis: expansion of multilineage progenitor cells. Blood, 1997. 89(10): p. 3624-35.
62. Reya, T., et al., Wnt signaling regulates B lymphocyte proliferation through a LEF-1 dependent mechanism. Immunity, 2000. 13(1): p. 15-24.

63. Van Den Berg, D.J., et al., Role of members of the Wnt gene family in human hematopoiesis. Blood, 1998. 92(9): p. 3189-202.
64. Cobas, M., et al., Beta-catenin is dispensable for hematopoiesis and lymphopoiesis. J Exp Med, 2004. 199(2): p. 221-9.
65. Koch, U., et al., Simultaneous loss of beta- and gamma-catenin does not perturb hematopoiesis or lymphopoiesis. Blood, 2008. 111(1): p. 160-4.
66. Fleming, H.E., et al., Wnt signaling in the niche enforces hematopoietic stem cell quiescence and is necessary to preserve self-renewal in vivo. Cell Stem Cell, 2008. 2(3): p. 274-83.
67. Bhatia, M., et al., Bone morphogenetic proteins regulate the developmental program of human hematopoietic stem cells. J Exp Med, 1999. 189(7): p. 1139-48.
68. Crock, H.V., A Revision of the Anatomy of the Arteries Supplying the Upper End of the Human Femur. J Anat, 1965. 99: p. 77-88.
69. Lo Celso, C., et al., Live-animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche. Nature, 2009. 457(7225): p. 92-6.
70. Boisset, J.C. and C. Robin, Imaging the founder of adult hematopoiesis in the mouse embryo aorta. Cell Cycle, 2010. 9(13): p. 2489-90.
71. Zeng, L., et al., Infusion of endothelial progenitor cells accelerates hematopoietic and immune reconstitution, and ameliorates the graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. Cell Biochem Biophys, 2012. 64(3): p. 213-22.
72. Tavassoli, M., The marrow-blood barrier. Br J Haematol, 1979. 41(3): p. 297-302.
73. Ohneda, O., et al., Hematopoietic stem cell maintenance and differentiation are supported by embryonic aorta-gonad-mesonephros region-derived endothelium. Blood, 1998. 92(3): p. 908-19.
74. Wang, Q.R., et al., Long-term culture of murine bone-marrow-derived endothelial cells. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 1998. 34(6): p. 443-6.
75. Hooper, A.T., et al., Engraftment and reconstitution of hematopoiesis is dependent on VEGFR2-mediated regeneration of sinusoidal endothelial cells. Cell Stem Cell, 2009. 4(3): p. 263-74.
76. Yao, L., et al., Bone marrow dysfunction in mice lacking the cytokine receptor gp130 in endothelial cells. Blood, 2005. 106(13): p. 4093-101.
77. Winkler, I.G., et al., Vascular niche E-selectin regulates hematopoietic stem cell dormancy, self renewal and chemoresistance. Nat Med, 2012. 18(11): p. 1651-7.
78. Zheng, J., et al., Angiopoietin-like protein 3 supports the activity of hematopoietic stem cells in the bone marrow niche. Blood, 2011. 117(2): p. 470-9.
79. Asada, N., et al., Differential cytokine contributions of perivascular haematopoietic stem cell niches. Nat Cell Biol, 2017. 19(3): p. 214-223.
80. Ding, L., et al., Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. Nature, 2012. 481(7382): p. 457-62.
81. Ding, L. and S.J. Morrison, Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. Nature, 2013. 495(7440): p. 231-5.
82. Ramasamy, S.K., et al., Regulation of Hematopoiesis and Osteogenesis by Blood Vessel-Derived Signals. Annu Rev Cell Dev Biol, 2016. 32: p. 649-675.
83. Kusumbe, A.P., S.K. Ramasamy, and R.H. Adams, Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. Nature, 2014. 507(7492): p. 323-328.
84. Avecilla, S.T., et al., Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. Nat Med, 2004. 10(1): p. 64-71.

85. Jin, L., et al., CXCR4 up-regulation by imatinib induces chronic myelogenous leukemia (CML) cell migration to bone marrow stroma and promotes survival of quiescent CML cells. Mol Cancer Ther, 2008. 7(1): p. 48-58.
86. Kopp, H.G., et al., The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. Physiology (Bethesda), 2005. 20: p. 349-56.
87. North, T.E., et al., Hematopoietic stem cell development is dependent on blood flow. Cell, 2009. 137(4): p. 736-48.
88. Frenette, P.S., et al., Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine. Annu Rev Immunol, 2013. 31: p. 285-316.
89. Kobolak, J., et al., Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. Methods, 2016. 99: p. 62-8.
90. Méndez-Ferrer, S., et al., Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. Nature, 2010. 466(7308): p. 829-34.
91. Omatsu, Y., et al., The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. Immunity, 2010. 33(3): p. 387-99.
92. Zhou, B.O., et al., Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow. Cell Stem Cell, 2014. 15(2): p. 154-68.
93. Pinho, S., et al., PDGFRalpha and CD51 mark human nestin+ sphere-forming mesenchymal stem cells capable of hematopoietic progenitor cell expansion. J Exp Med, 2013. 210(7): p. 1351-67.
94. Zhang, J., et al., Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. Nature, 2003. 425(6960): p. 836-41.
95. Calvi, L.M., et al., Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. Nature, 2003. 425(6960): p. 841-6.
96. Greenbaum, A., et al., CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. Nature, 2013. 495(7440): p. 227-30.
97. Naveiras, O., et al., Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. Nature, 2009. 460(7252): p. 259-63.
98. Zhou, B.O., et al., Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and haematopoiesis by secreting SCF. Nat Cell Biol, 2017. 19(8): p. 891-903.
99. Ambrosi, T.H., et al., Adipocyte Accumulation in the Bone Marrow during Obesity and Aging Impairs Stem Cell-Based Hematopoietic and Bone Regeneration. Cell Stem Cell, 2017. 20(6): p. 771-784 e6.
100. Chow, A., et al., Bone marrow CD169+ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche. J Exp Med, 2011. 208(2): p. 261-71.
101. Kollet, O., et al., Osteoclasts degrade endosteal components and promote mobilization of hematopoietic progenitor cells. Nat Med, 2006. 12(6): p. 657-64.
102. Adams, G.B., et al., Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor. Nature, 2006. 439(7076): p. 599-603.
103. Tay, J., J.P. Levesque, and I.G. Winkler, Cellular players of hematopoietic stem cell mobilization in the bone marrow niche. Int J Hematol, 2017. 105(2): p. 129-140.
104. Zhao, M., et al., Megakaryocytes maintain homeostatic quiescence and promote post-injury regeneration of hematopoietic stem cells. Nat Med, 2014. 20(11): p. 1321-6.
105. Katayama, Y., et al., Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. Cell, 2006. 124(2): p. 407-21.

106. Spiegel, A., et al., Catecholaminergic neurotransmitters regulate migration and repopulation of immature human CD34+ cells through Wnt signaling. Nat Immunol, 2007. 8(10): p. 1123-31.
107. Yamazaki, S., et al., Nonmyelinating Schwann cells maintain hematopoietic stem cell hibernation in the bone marrow niche. Cell, 2011. 147(5): p. 1146-58.
108. Mendez-Ferrer, S., et al., Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. Nature, 2008. 452(7186): p. 442-7.
109. Spencer, J.A., et al., Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. Nature, 2014. 508(7495): p. 269-73.
110. Rouault-Pierre, K., A. Hamilton, and D. Bonnet, Effect of hypoxia-inducible factors in normal and leukemic stem cell regulation and their potential therapeutic impact. Expert Opin Biol Ther, 2016. 16(4): p. 463-76.
111. Mantel, C.R., et al., Enhancing Hematopoietic Stem Cell Transplantation Efficacy by Mitigating Oxygen Shock. Cell, 2015. 161(7): p. 1553-65.
112. Yang, D.C., et al., Hypoxia inhibits osteogenesis in human mesenchymal stem cells through direct regulation of RUNX2 by TWIST. PLoS One, 2011. 6(9): p. e23965.
113. Shomento, S.H., et al., Hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha exert both distinct and overlapping functions in long bone development. J Cell Biochem, 2010. 109(1): p. 196-204.
114. Konopleva, M.Y. and C.T. Jordan, Leukemia stem cells and microenvironment: biology and therapeutic targeting. J Clin Oncol, 2011. 29(5): p. 591-9.

Points essentiels

1) Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) ont des propriétés uniques de régénération des cellules sanguines dûes à leur capacité d'autorenouvellement, de multipotentialité et de différenciation. Leur espace de vie dans la moelle osseuse appelé niche génère des signaux nécessaires au maintien de ces potentialités en limitant leur prolifération, leur entrée en différenciation et leur exposition au stress oxydatif.

2) Les régions endostéales juxta-trabéculaires des os sont le siège d'une hématopoïèse active et sont plus riches que la moelle centrale en progéniteurs et en CSH.

3) Le tissu osseux contient un réseau vasculaire très riche comprenant des artères nourricières et des artérioles afférentes qui se ramifient en capillaires et en sinusoïdes. Il est également fortement connecté avec le système nerveux par l'intermédiaire cellules nerveuses et de terminaisons nerveuses qui pénètrent dans la moelle en étroite association avec le réseau vasculaire apportant ainsi différents neuromédiateurs dans l'environnement médullaire.

4) La majorité des CSH sont localisées dans des niches péri-vasculaires en contact étroit avec des cellules endothéliales, des cellules souches mésenchymateuses (CSM) et des composants du système nerveux.

5) Les CSH localisées dans les niches endostéales péri-artériolaires sont maintenues en quiescence tandis que les CSH présentes dans les régions centrales de la moelle dites niches sinusoïdales sont des CSH activées.

6) Les niches péri-artériolaires et les niches sinusoïdales sont différentes par le type de CSM de cellules endothéliales et de cellules hématopoïétiques qui les composent.

7) Le couple CXCR4/CXCL12 joue un rôle unique dans la rétention médullaire des CSH dans les niches. CXCL12 possède une activité chimioattractante puissante liée à sa capacité d'activation des intégrines permettant la domiciliation ou « homing » des CSH et des progéniteurs au niveau de leurs niches hématopoïétiques respectives. CXCL12 est également impliquée dans le maintien en quiescence des CSH et leur protection contre le stress oxydatif.

8) La cytokine SCF (Stem cell Factor) existe sous forme secrétée ou membranaire. Son récepteur c-kit (CD117) est fortement exprimé sur les CSH et les progéniteurs. Ce couple permet la domiciliation des CSH et leur autorenouvellement.

9) La voie du TGFβ maintient les propriétés de quiescence des CSH par l'induction de l'expression d'inhibiteurs de kinase dépendant des cyclines (CDKI) tels que p57Kip2.

10) Bien que la moelle osseuse soit fortement vascularisée, la pression d'O2 y est relativement faible par rapport aux autres organes. Cette hypoxie contribue à la régulation de la migration des CSH, à leur quiescence par l'intermédiaire des gènes maitres des réponses hypoxiques HIF-1α et HIF-2α. La faible teneur en oxygène moléculaire des niches participe à la réduction du stress oxydatif dans les CSH et régule l'ostéogenèse.

11) Il est possible d'améliorer la récupération des CSH dans le sang périphérique en inhibant leurs interactions adhésives avec leurs niches médullaires.

Légendes des figures

Figure 1 : Caractérisation phénotypique des CSH
Le développement de la technologie de cytométrie en flux a permis de mieux caractériser les CSH chez l'homme (panel de gauche) et chez la souris (panel de droite). Cette caractérisation repose sur l'expression de marqueurs phénotypiques (cluster de différenciation CD). Les CSH se distinguent des lignages matures par l'absence des marqueurs qui apparaissent au cours de la différenciation. Les CSH sont donc nommées lignage négative (Lin-). Par ailleurs, elles expriment des marqueurs qui leurs sont propres (CD34 chez l'homme et CD150 chez la souris). Elles ont également été caractérisées par leur capacité à effluer les drogues telles que le Hoechst 33342 ou la rhodamine 123 (side-population). Chez la souris, les CMP sont Lin-K+-Sca$^-$/IL7R$^-$/CD34$^+$/CD16/CD32$^-$), les GMP sont Lin-K+-Sca$^-$/IL7R$^-$/CD34$^+$/CD16/CD32$^+$) et les MEP sont Lin-K+-Sca$^-$/IL7R$^-$/CD34$^+$/CD16/CD32$^-$

Figure 2 : **Localisation des CSH et des progéniteurs dans la moelle osseuse chez l'adulte.**
Dans l'environnement médullaire adulte, l'**hématopoïèse** a lieu dans l'os trabéculaire formé par les lamelles d'os cortical et qui délimite des logettes où les cellules immatures sont en contact avec l'environnement osseux. L'interface entre l'os cortical et la moelle osseuse constitue l'endosteum. Les régions endostéales juxta-trabéculaires des os se répartissent entre la métaphyse, région proche de l'extrémité épiphysaire de l'os et la partie centrale ou diaphyse.

Figure 3 : Principaux composants moléculaires de la niche hématopoïétique
La matrice extracellulaire forme un réseau dense de soutien et est composé de différentes formes de collagène, de fibronectine, d'ostéopontine, de laminine et de tenascine C qui vont interagir avec les CSH et les progéniteurs au travers de différents récepteurs comme l'intégrine VLA-4, VLA-5 et le CD44. La MEC présente aux CSH différents facteurs de croissance comme SCF ou FLT3L. La chimiokine CXCL12 est produite par les cellules du microenvironnement et interagit avec son récepteur CXCR4 pour permettre la rétention des CSH dans l'environnement médullaire.

Figure 4 : **Vascularisation de la cavité osseuse**
Le réseau vasculaire occupe environ 30% du volume de la moelle avec des vaisseaux sanguins présents dans tous les territoires y compris l'os cortical. La vascularisation se fait à partir d'artères nourricières et d'artérioles afférentes qui pénètrent les os longs au niveau de la tête du fémur ou du tibia. Ces artérioles se ramifient en un riche réseau de capillaires qui se connectent aux sinusoïdes eux-mêmes drainés par les veines centrales au niveau de la région diaphysaire de l'os. Les capillaires de la métaphyse et de l'endostéum sont organisés en colonnes et sont appelés capillaires de type H car ils expriment fortement le CD31 et l'endomucine. Les capillaires sinusoïdaux majoritairement présents dans la cavité centrale médullaire ont une organisation irrégulière et branchée. Ils forment les capillaires de type L.

Figure 5 : **Différentes populations de CSM peuplent la moelle osseuse.**
La population des CSM périsinusoidales appelée CAR est juxtaposée à l'endothélium sinusoïdal

de la région centrale de la moelle. Les longues extensions cytoplasmiques des CAR expriment fortement CXCL12 et SCF. Les CSM médullaires qui expriment la nestine (CSM-N+) sont distribuées dans des zones exclusivement périvasculaires adjacentes à l'os et dans le parenchyme de la moelle. Ces cellules expriment fortement les facteurs de la niche (CXCL12, SCF, Angiopoiétine1, IL-7, et VCAM-1). Les CSM exprimant le récepteur de la leptine (CSM-LepR+) et expriment faiblement la nestine sont strictement périvasculaires et s'associent à des fibres nerveuses sympathiques. Les CSM périartériolaires (CSM-Peri) sont proches des petites artérioles de l'endoste et sont associées à des fibres nerveuses sympathiques et à des cellules de Schwann non myélinisées. Ces CSM expriment le protéoglycan (NG2 neural/glial antigen 2) et produisent des niveaux élevés de CXCL12, SCF, Angiopoiétine 1, V-CAM et l'ostéopontine.

QCM 1
Concernant les cellules souches hématopoïétiques :
A Elles sont pluripotentes.
B Elles peuvent donner naissance à des cellules souches identiques.
C Elles ont une grande capacité proliférative.
D Elles ont la capacité de différentiation.
E Elles peuvent être quiescentes ou activées.

QCM 2
Concernant la niche hématopoïétique :
A Elle fait intervenir plusieurs types cellulaires.
B Elle est au contact des vaisseaux intramédullaires.
C Elle est au contact de l'os.
D Elle est contrôlée par le système nerveux sympathique.
E Elle est contrôlée par le système nerveux para-sympathique.

QCM 3
Les cellules suivantes sont des constituants de la niche hématopoïétique :
A Les cellules hématopoïétiques.
B Les cellules stromales mésenchymateuses.
C Les cellules endothéliales.
D Les cellules musculaires.
E Les cellules nerveuses.

QCM 4
Concernant le microenvironnement médullaire :
A Sa composition varie avec l'âge.
B Sa composition est altérée par certaines conditions pathologiques.
C Il contient plusieurs types de vaisseaux sanguins.
D Les radicaux libres ont un rôle positif sur l'hématopoïèse.
E La pression d'oxygène y est la même que dans la circulation sanguine.

QCM 5
Les facteurs suivants jouent un rôle important dans la niche hématopoïétique :
A La chimiokine CXCL12.
B La cytokine SCF.
C L'acide gamma-aminobutyrique (GABA).
D La beta-Caténine.
E Le récepteur NOTCH.

Réponses aux QCM (Réponses justes en Rouge)

QCM 1
Concernant les cellules souches hématopoïétiques :
A Elles sont pluripotentes.
B Elles peuvent donner naissance à des cellules souches identiques.
C Elles ont une grande capacité proliférative.
D Elles ont la capacité de différentiation.
E Elles peuvent être quiescentes ou activées.

QCM 2
Concernant la niche hématopoïétique :
A Elle fait intervenir plusieurs types cellulaires.
B Elle est au contact des vaisseaux intramédullaires.
C Elle est au contact de l'os.
D Elle est contrôlée par le système nerveux sympathique.
E Elle est contrôlée par le système nerveux para-sympathique.

QCM 3
Les cellules suivantes sont des constituants de la niche hématopoïétique :
A Les cellules hématopoïétiques.
B Les cellules stromales mésenchymateuses.
C Les cellules endothéliales.
D Les cellules musculaires.
E Les cellules nerveuses.

QCM 4
Concernant le microenvironnement médullaire :
A Sa composition varie avec l'âge.
B Sa composition est altérée par certaines conditions pathologiques.
C Il contient plusieurs types de vaisseaux sanguins.
D Les radicaux libres régulent l'hématopoïèse.
E La pression d'oxygène y est la même que dans la circulation sanguine.

QCM 5
Les facteurs suivants jouent un rôle important dans la niche hématopoïétique :
A La chimiokine CXCL12.
B La cytokine SCF.
C L'acide gamma-aminobutyrique (GABA).
D La beta-Caténine.
E Le récepteur NOTCH.