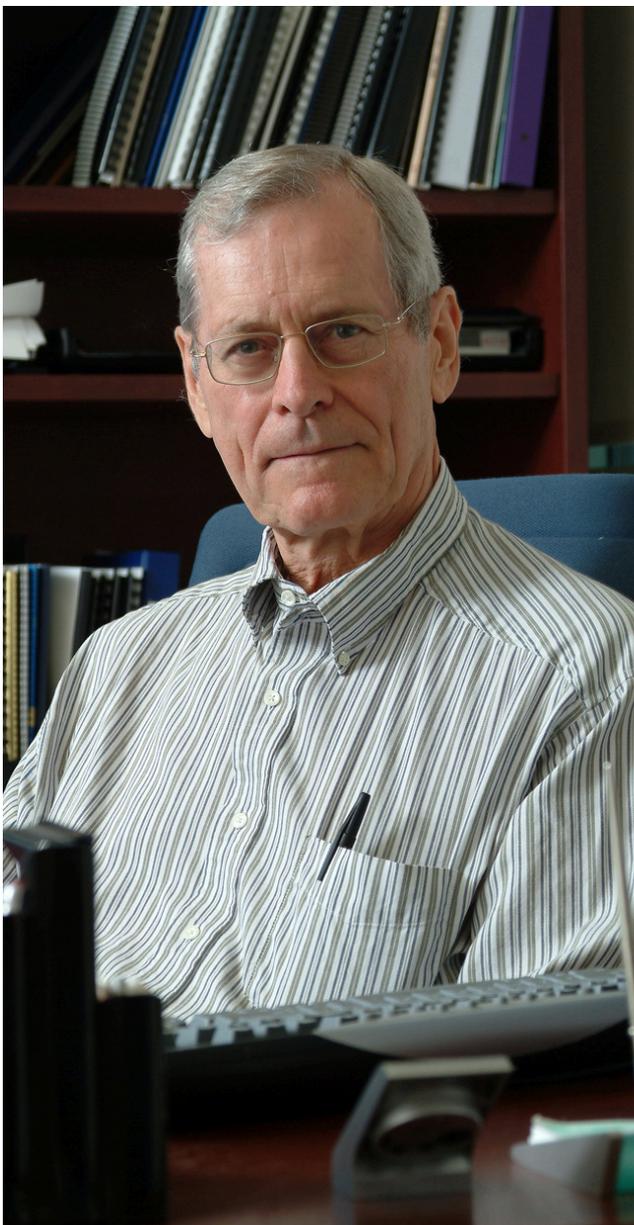




Un Hommage du Réseau

James Till et la découverte des cellules souches

Ronald Worton, ancien étudiant



Dr James Till

En 1965, je me suis inscrit au programme de doctorat de l'Université de Toronto, dans le nouveau Département de biophysique médicale situé à l'Institut ontarien du cancer (IOC), en haut de l'Hôpital Princess Margaret. L'IOC était un endroit unique où des médecins menaient des recherches cliniques et des physiciens appliquaient la méthodologie de la physique à des problèmes biologiques. Comme j'avais obtenu ma maîtrise ès sciences en physique des rayonnements, au Manitoba, le directeur du Département m'a attribué Jim Till comme directeur de thèse.

La radiothérapie était un élément crucial du traitement du cancer au Princess Margaret, et dans le cas de la leucémie, on procédait à une irradiation totale du corps pour tuer les cellules cancéreuses, suivie d'une greffe de moelle osseuse pour reconstituer le système de production sanguine. Jim avait été attiré par l'IOC en raison de son intérêt scientifique pour la nature de la survie cellulaire après l'exposition au rayonnement ionisant, et l'hématologue Ernest (Bun) McCulloch s'était joint à l'Institut pour étudier l'emploi des rayonnements pour traiter la leucémie.





Dr James Till et Dr Ernest McCulloch

En 1961, Bun et Jim ont uni leurs forces pour étudier des souris ayant subi un rayonnement ionisant, puis une greffe de moelle osseuse. Jim mesurait le rayonnement, tandis que Bun examinait les souris à la recherche de signes de dommages biologiques. À plusieurs reprises, ce dernier a observé que les souris qui avaient reçu une dose létale de rayonnement, mais avaient survécu grâce à la greffe, présentaient une rate plus grosse et couverte de bosses. On savait que la rate était un lieu d'hématopoïèse, il était donc possible que son grossissement soit dû à la division des cellules transplantées et à la production de nouvelles cellules sanguines dans cet organe. Jim a alors analysé les bosses et a remarqué qu'elles ressemblaient aux colonies de cellules habituellement observées dans une boîte de culture durant ses expériences de traitement de cultures cellulaires par le rayonnement. Il s'est donc demandé si chaque bosse n'était pas une colonie de cellules. Il ne s'agissait pas d'une grande découverte, celle-ci est survenue trois ans plus tard.

Cette observation a plutôt suscité de nombreuses questions. Les bosses n'étaient peut-être pas des colonies issues d'une cellule unique, mais plutôt des microenvironnements localisés de la rate dans lesquels les conditions favorisaient la croissance cellulaire, qui donnait naissance à ces bosses. Ou peut-être que les bosses étaient créées par le développement d'un groupe de cellules piégées dans l'architecture de la rate. Bun se questionnait sur ce que pouvaient contenir ces bosses. Étaient-elles réellement constituées de cellules? Si oui, de quel type? S'il s'agissait de cellules sanguines, appartenaient-elles toutes au même type ou à des types différents, caractéristiques de la moelle osseuse?

Voici les dix opérations essentielles qui ont mené au modèle de cellules souches de l'hémopoïèse à base de cellules souches.

1. Bun a agi comme un hématologue : il a examiné les coupes histologiques des bosses et a constaté que chacune était constituée d'un mélange de cellules sanguines immatures et différenciées, caractéristiques de celles que l'on trouve normalement dans la moelle osseuse.
2. Jim a agi comme un physicien : il a compté le nombre de bosses chez des souris ayant reçu un nombre variable de cellules de moelle osseuse. Il a constaté une relation parfaitement linéaire entre l'injection de cellules et la production de bosses, ce qui signifiait que chaque bosse provenait d'une même cellule de moelle.



3. Andy Becker, un étudiant de Jim, a greffé chez des souris irradiées des cellules de moelle osseuse qui avaient été légèrement irradiées pour produire des anomalies chromosomiques spontanées uniques et a constaté que la plupart des bosses possédaient des cellules mitotiques à chromosomes normaux, mais que certaines contenaient des cellules en phase de division présentant une anomalie chromosomique unique et différente de toute anomalie chromosomique associée à d'autres bosses, ce qui prouvait l'origine clonale de chaque bosse.
4. Alan Wu, un étudiant de Bun, a répété l'expérience et montré que les clones portant un marqueur chromosomique unique contenaient des cellules mitotiques ayant des caractéristiques érythroïdes, granulocytaires et monocytaires, prouvant ainsi le potentiel de différenciation multipotente de chaque cellule formant une colonie.¹

En 1963, il était clair que les bosses étaient des colonies dérivées d'une même cellule et composées de nombreux types de cellules sanguines présentes dans la moelle osseuse. Jim et Bun se sont finalement mis d'accord pour appeler les bosses des « colonies spléniques ». Le terme « cellule souche » était un concept mal défini de cellule présentant (i) une capacité étendue de division cellulaire, (ii) une capacité d'autorenouvellement afin de générer de nouvelles cellules souches et (iii) une capacité de différenciation en un ou plusieurs types de cellules. Mais comme ils n'avaient démontré que le caractère (iii), *ils n'étaient pas encore prêts à appeler la cellule initiatrice « cellule souche »; ils l'ont donc appelée « CFU », pour colony forming unit (unité formant une colonie).*

5. Un collègue, Lou Siminovitch, a suggéré une expérience pour vérifier l'autorenouvellement : une double greffe. Il s'agissait de procéder à une première greffe sur une souris pour générer des colonies spléniques, puis de vérifier la présence d'UFC dans chaque colonie après une seconde greffe. Comme prévu, la plupart des colonies spléniques contenaient de nombreuses UFC prouvant leur autorenouvellement.

6. On a ensuite réalisé une simple extension de l'expérience de Siminovitch en prélevant des cellules dans les colonies spléniques secondaires et en les retransplantant sur une troisième réceptrice afin de produire une troisième génération de colonies splénique. Après trois opérations, chacune générant des colonies spléniques contenant plus d'un million de cellules et quelques centaines de nouvelles UFC, il était clair que les UFC présentaient une grande capacité de prolifération. *Jim et Bun, avec l'aide de Lou, ont finalement convenu de les appeler « cellules souches ». C'était en 1964.*

7. L'expérience de Siminovitch visant à prouver l'autorenouvellement a révélé que l'ampleur de celui-ci au sein d'une colonie splénique était très variable, certaines colonies contenant des centaines, voire des milliers d'UFC, tandis que d'autres n'en contenant qu'une poignée, voire aucune. Cela a conduit Jim à analyser la distribution statistique et à l'adapter à un modèle stochastique, et il en a conclu qu'il était très probable que la décision d'une cellule souche de s'autorenouveler ou de se différencier était aléatoire. Un concurrent avait suggéré que la répllication ou la différenciation des cellules souches était déterminée par leur micro-environnement dans la moelle ou la rate, qu'il avait baptisé « micro-environnement inductif hémapoïétique ». Jim a lui appelé son modèle « hématopoïèse engendrée aléatoirement ». *Il a toujours dit qu'il préférerait ce terme à celui de micro-environnement inductif hémapoïétique.*

¹Ce texte contenait lors de sa publication originale des erreurs aux points 3. et 4., attribuant aux recherches d'Alan Wu la démonstration de l'origine unicellulaire de chaque bosse. Le contenu a désormais été corrigé.

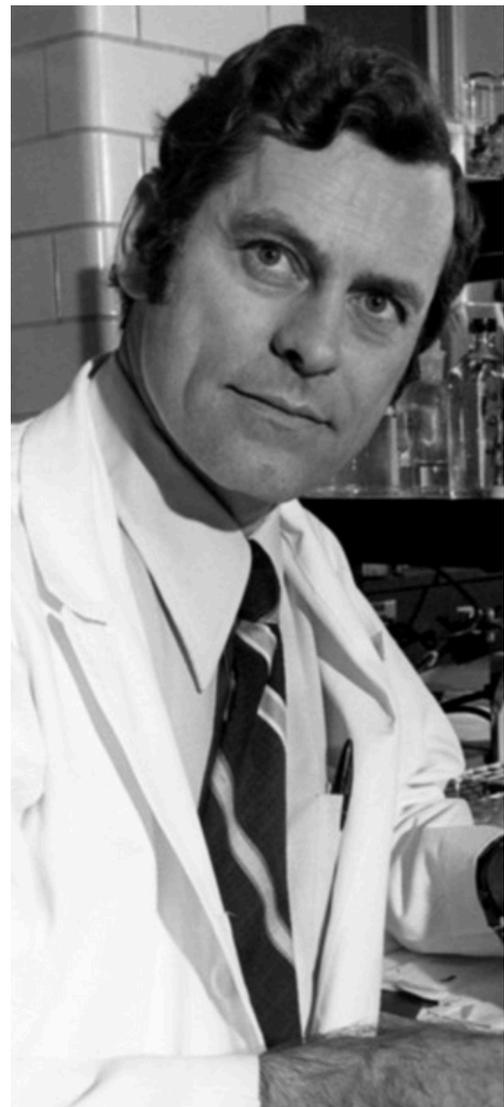


Lorsque je me suis joint au laboratoire, d'autres chercheurs venaient de mettre au point une méthodologie permettant de cultiver des cellules de moelle osseuse dans des boîtes afin de former des colonies de cellules sanguines myéloïdes différenciées. Jim a sauté sur l'occasion et a entamé ses propres expériences pour déterminer la nature de ces colonies et leur origine. Le défi que je devais relever consistait à déterminer si les UFC spléniques (UFC-S) étaient identiques ou différentes des UFC de culture (UFC-C). Constatant l'énorme succès de la séparation des macromolécules selon la densité ou la vitesse de sédimentation, Jim a suggéré de suivre une approche similaire pour séparer les types de cellules les uns des autres.

8. En 1967, j'ai utilisé la centrifugation en gradient de densité pour montrer que les CFU-S et les CFU-C présentaient des profils de densité distincts, puis j'ai utilisé la sédimentation à gravité unitaire dans une chambre de sédimentation (mise au point par un stagiaire d'été nommé Alan Bernstein) pour montrer que les CFU-S et les CFU-C avaient également une taille différente, établissant ainsi que les CFU-C n'étaient pas des cellules souches de type CFU-S.

9. De son côté, Alan Wu a montré que les colonies spléniques dérivées d'une cellule souche chromosomiquement marquée contenaient des CFU-C générant des colonies cultivées avec la même anomalie chromosomique, ce qui prouvait que les CFU-C pouvaient être dérivées par différenciation avec les CFU-S. C'est sur cette base que les manuels scolaires décrivent les « cellules souches » pluripotentes donnant naissance à des « cellules progénitrices » unipotentes.

10. Dans une extension de l'expérience d'Alan, Jim a découvert le même marqueur chromosomique dans les cellules du thymus et dans les ganglions lymphatiques immunologiquement compétents. Ce constat portait fortement à croire que le système immunitaire était dérivé de la même cellule souche que le système hématopoïétique, ou que les deux systèmes étaient issus d'un précurseur commun de la cellule formatrice de colonies spléniques.



Dr James Till

En 1970, la découverte des cellules souches était en grande partie achevée. Jim et Bun ont passé la décennie suivante à appliquer la culture cellulaire à l'étude de la leucémie chez l'humain et aux divers facteurs qui régulent la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques.

En 1980, Jim s'est rendu compte qu'il devait donner une nouvelle direction à ses recherches et a commencé à collaborer avec des chercheurs cliniques, des biostatisticiens et des méthodologistes. Son premier article a porté sur la nécessité de suivre de nouvelles approches pour la conception des essais cliniques, lesquelles pouvant notamment inclure des mesures de la qualité de vie. Par la suite, ses publications se sont penchées sur l'évaluation de la qualité de vie des patients, par exemple sur l'obtention de la valeur qu'ils accordaient aux résultats des options thérapeutiques, et sur l'évaluation du désir des patients atteints de cancer d'être informés et sur leur participation à la prise de décision. Avec l'avènement d'Internet, Jim est devenu un fervent défenseur de la publication en libre accès, et a présidé un comité des Instituts de recherche en santé du Canada qui a élaboré en 2008 la politique de libre accès de l'organisme. Internet devenant une source d'information pour les patients, Jim a commencé à plaider en faveur de normes de création, d'évaluation et de communication des données probantes afin de favoriser la prise de décision rationnelle par ceux-ci. Il n'y a pas de meilleure preuve de la réalisation de cet objectif que l'intronisation en 2021 de son ancienne étudiante au doctorat, Annette O'Connor, au Temple de la renommée médicale canadienne pour son travail de pionnière sur les aides à la décision des patients, lesquelles fournissent des renseignements fondés sur des données probantes au sujet des options et des résultats et comprennent des méthodes implicites de clarification des valeurs personnelles. Jim n'a pas participé aux travaux internationalement reconnus d'Annette, mais celle-ci affirme que ses conseils, son orientation, ses encouragements et son soutien (entre 1982 et 1986) ont stimulé son intérêt pour la recherche tout au long de sa carrière, laquelle a consisté à aider les patients à prendre avec leurs praticiens des décisions éclairées fondées sur leurs valeurs.

Un géant a quitté ce monde après avoir, pendant des décennies, réalisé des études scientifiques et humanitaires afin de rendre le monde meilleur. Fait intéressant, il avait également démontré que balayer la glace devant une pierre de curling permettait à celle-ci de parcourir de 3 à 6 pieds de plus. Il avait lui-même joué au curling jusqu'à 88 ans, âge auquel la COVID l'avait contraint à arrêter.

Remerciements : *Merci à Annette O'Connor de m'avoir aidé à passer en revue les publications de Jim après 1980, une entreprise que je n'aurais pas pu mener à bien seul.*



Ronald Worton, Ph. D. est président-directeur général émérite et ancien directeur scientifique de l'Institut de recherche de l'Hôpital d'Ottawa. Il a connu une carrière distinguée de 37 ans dans la recherche médicale. Réputé pour ses travaux novateurs sur la dystrophie musculaire de Duchenne, il a également été directeur scientifique fondateur du Réseau de cellules souches. Sa contribution à la science et à la recherche en santé a été récompensée par de nombreuses distinctions, dont le prix Gairdner et l'Ordre du Canada.