

Gamètes artificiels : spermatozoïdes sans testicules ou ovocytes sans ovaires, est-ce possible ?

S. Hamamah

© SALF et Springer-Verlag France 2009

Est-il concevable d'obtenir *in vitro* des gamètes à partir de tissus non germinaux ?

La question est provocatrice mais doit être aujourd'hui posée.

Les cellules souches embryonnaires (CSE) issues de la masse cellulaire interne (MCI) du blastocyste au cinquième ou sixième jour du développement embryonnaire précoce sont pluripotentes. Elles sont capables de se différencier en différents types cellulaires y compris les cellules germinales. Par leur propriété d'autorenouvellement et leur potentiel de différenciation en de multiples types cellulaires, les CSE sont une source illimitée de cellules pour la médecine régénératrice.

Hübner et al. ont rapporté pour la première fois l'obtention de gamètes femelles dérivés de CSE de souris [1]. Cette différenciation ovocytaire observée dans la culture se poursuit jusqu'à la formation de follicules matures avec sécrétion d'hormones estrogéniques. Des travaux menés chez la souris ont permis d'obtenir également des gamètes mâles à partir des CSE. Cette différenciation des CSE en cellules germinales est assez limitée, mais peut être induite par l'utilisation d'acide rétinoïque (AR) [2]. L'injection des gamètes haploïdes (spermatocytes) obtenus dans des ovocytes permet la restauration de la diploïdie et le développement jusqu'au stade blastocyste [2,3]. D'autres études ont démontré, chez la souris, que des CSE sont capables de former des cellules germinales primordiales (CGP) *in vitro*. Ces dernières peuvent entrer en méiose et aboutir à la formation aussi bien de gamètes mâles que de gamètes femelles [4]. L'impact du microenvironnement, dans lequel sont cultivées les CSE, semble être d'importance capitale pour l'obtention de l'ovogenèse ou de la spermatogenèse. Un pas supplémentaire a été franchi en laboratoire vers la production des gamètes mâles à partir de CSE. En 2006, Nayernia et al. ont réussi la production chez la souris de gamètes mâles fonctionnels

capables de féconder l'ovocyte, de produire un blastocyste et d'assurer l'obtention d'une descendance (sept souriceaux) [5]. Avec un bémol inquiétant, ces souriceaux n'ont pas grandi normalement. Ils ont été victimes de plusieurs pathologies, en particulier des difficultés respiratoires. En 2009, chez l'homme, grâce aux travaux de la même équipe, les premiers spermatozoïdes artificiels humains produits *in vitro* à partir des CSE humaines viennent de voir le jour [6]. En présence d'un milieu de culture riche en facteurs imitant les interactions cellulaires qui contrôlent la spermatogenèse, les CSEh se sont différenciées en gamètes : ovocytes et spermatozoïdes. Les CSEh issues d'un blastocyste masculin ont évolué jusqu'au stade de spermatozoïdes ; tandis que les CSEh issues d'un blastocyste féminin ont seulement donné des spermatozoïdes immatures (spermatogonies), preuve que le chromosome est indispensable à la spermatogenèse. Ces travaux n'ont pas encore été reproduits par d'autres équipes. À partir des CSEh, obtenir *in vitro* des gamètes artificiels et fonctionnels est donc devenu un champ de recherche prometteur. Existe-t-il d'autres types cellulaires permettant d'obtention de gamètes ?

Dyce et al. montrent que les cellules souches dérivées de peau fœtale de porc ont la capacité intrinsèque de se différencier en cellule de type ovocytaire [7]. Des résultats similaires ont été décrits avec une lignée de cellules souches pancréatiques de rat [8] et avec des cellules souches dérivées de peau de chèvre adulte [9]. Cela suggère que l'obtention de structures ovocytaires n'est plus spécifique à l'utilisation de CSE, mais désormais possible à partir de cellules souches d'origine somatique. L'année 2007 s'est achevée sur un exploit scientifique important, celui de la technologie des cellules pluripotentes induites (iPS). Cette technologie permet de reprogrammer des cellules somatiques adultes en cellules pluripotentes, par la surexpression dans ces cellules de quatre protéines responsables dans les CSE du maintien de l'état pluripotent [10]. R. Jaenisch vient d'apporter la preuve de concept d'une utilisation thérapeutique possible de ces cellules iPS chez la souris drépanocytaire. Les cellules souches hématopoïétiques issues des iPS sont injectées à des souris irradiées. Le système hématopoïétique de ces souris est reconstitué, et en particulier les globules rouges. Ces

S. Hamamah (✉)
Inserm U847, division AMP-DPI, hôpital Arnaud-de-Villeneuve,
371, avenue du Doyen-Gaston-Giraud,
F-34295 Montpellier, France
e-mail : s-hamamah@chu-montpellier.fr

cellules expriment tout particulièrement l'hémoglobine adulte normale, ainsi l'anémie est corrigée [11]. Récemment, des iPS ont été obtenues à partir de deux patientes âgées de plus de 80 ans et atteintes de la mutation responsable de la sclérose latérale amyotrophique. Des neurones moteurs chez ces patientes ont pu être générés *in vitro* [12]. Les iPS représentent une nouvelle source de cellules pluripotentes. L'intérêt de ces cellules est qu'elles permettent de générer des gamètes contenant le patrimoine génétique d'un individu infertile, ouvrant aujourd'hui pour ces personnes un grand espoir.

L'obtention de gamètes fonctionnels dérivés des cellules souches (CSE ou iPS) permettrait, dans l'avenir, de traiter la stérilité des couples. L'ultime frontière, en stérilité, est l'absence de gamètes mâles ou femelles. Jusqu'à présent, le recours au don de gamète est la seule solution pour ces couples déclarés stériles. Imaginons une banque de cellules, prête à être orientée vers la production de gamètes à la demande des couples ? On pourra peut-être produire ces gamètes artificiels en laboratoire, avec un simple prélèvement de cellules de la peau. Les tests déjà existants de la viabilité et de la fonctionnalité pourront être appliqués à ces gamètes. Si l'on procède à une fécondation *in vitro*, tout cela pourrait aboutir à une naissance. Imaginons que la fertilité des femmes ne serait plus limitée à la ménopause, et que les situations d'azoospermie verraient une solution à la préservation ultérieure de la fertilité. Science fiction : on arrache un cheveu pour le traitement de l'infertilité, les couples homosexuels pourront prétendre également à procréer avec des gamètes issus de leurs propres cellules. Allons plus loin, serait-il possible un jour de déterminer à partir du même individu, des gamètes mâles et femelles, et leur fécondation mutuelle donnerait une reproduction monoparentale, avec les conséquences de la consanguinité !

Enfin, si l'application de la thérapie cellulaire en reproduction humaine n'est pas pour l'immédiat, cette nouvelle arme thérapeutique tient plus d'une réalité à venir que de la fiction. Ces recherches soulèvent bien sûr de profonds problèmes d'éthique. Anticipons, dans l'avenir, les gamètes artificiels pourront être obtenus à partir de cellules repro-

grammées. Mais, nous devons rester prudents. On ignore si ces perspectives thérapeutiques vont se concrétiser, en particulier en raison du danger d'anomalies de développement des embryons qui seraient issus à partir de ces gamètes produits *in vitro*.

Références

1. Hübner K, Fuhrmann G, Christenson LK, et al (2003) Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science (New York NY)* 300:1251–6
2. Geijsen N, Horoschak M, Kim K, et al (2004) Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. *Nature* 427:148–54
3. Toyooka Y, Tsunekawa N, Akasu R, et al (2003) Embryonic stem cells can form germ cells *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:11457–62
4. Kheler J, Hübner K, Garrett S, Schöller HR (2005) Generation of oocytes and sperm from embryonic stem cells. *Semin Reprod Med* 23:222–33
5. Nayernia K, Lee JH, Drusenheimer N, et al (2006) Derivation of male germ cells from bone marrow stem cells. *Lab Invest* 86:654–63
6. Nayernia K, Lee JH, Lako M, et al (2009) Derivation of human sperm from embryonic stem cells. *Stem Cells Dev* [Epub ahead of print]
7. Dyce PW, L Wen, J Li (2006) *In vitro* germline potential of stem cells derived from fetal porcine skin. *Nature Cell Biol* 8: 384–90
8. Danner S, Kajahn J, Geismann C, et al (2007) Derivation of oocyte-like cells from a clonal pancreatic stem cell line. *Mol Hum Reprod* 13:11–20
9. Yang X, Qu L, Wang X, et al (2007) Plasticity of epidermal adult stem cells derived from adult goat ear skin. *Mol Reprod Dev* 74:386–96
10. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131:861–72
11. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, et al (2007) Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science (New York NY)* 318:1920–3
12. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al (2008) Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science (New York, NY)* 321:1218–21