

**Figure 23-27** Signaux définissant la niche des cellules souches intestinales. (A) Diagramme du système de signalisation. Les protéines de signalisation des familles Wnt et Hedgehog sont exprimées par les cellules épithéliales, à la base de chaque crypte ; ces mêmes cellules expriment aussi les récepteurs Wnt et la voie Wnt est fortement activée. Les cellules du tissu conjonctif sous-jacent à l'épithélium expriment les récepteurs Hedgehog et les récepteurs Wnt. L'effet combiné des signaux venant de la base de la crypte, peut-être associé à d'autres effets, provoque l'expression des protéines BMP dans les cellules du tissu conjonctif, au cœur de chaque villosité. Les protéines BMP agissent sur l'épithélium de la villosité, empêchant ces cellules de former des cryptes. (B) Coupe transversale d'une région d'épithélium intestinal normal. Le colorant marron marque les cellules prolifératives qui sont confinées aux cryptes. (C) Coupe, colorée de la même manière, de l'intestin d'une souris transgénétique, exprimant un inhibiteur de la signalisation BMP. Des cryptes, contenant des cellules qui se divisent, se sont développées de façon ectopique, le long des bords de la villosité malformée. (B et C, dus à l'obligeance de A. Haramis et al., *Science*, 303 : 1684-1686, 2004. Avec autorisation de AAAS.)

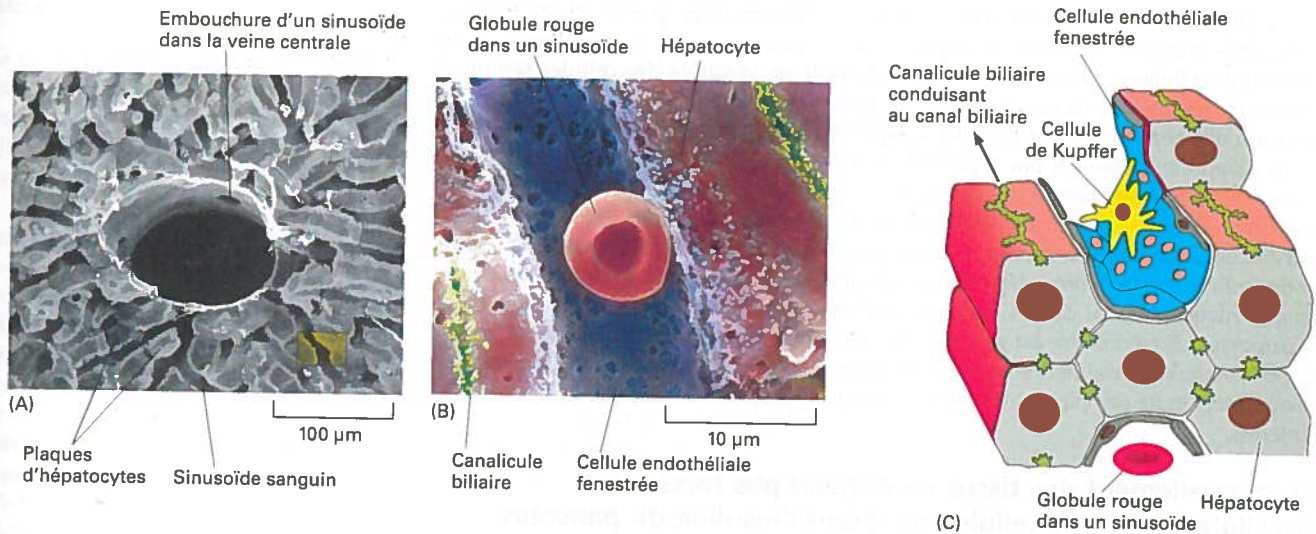
toute l'organisation, et des cryptes mal placées forment des invaginations d'épithélium prolifératif sur les côtés des villosités.

### Le foie fonctionne comme une interface entre l'appareil digestif et le sang

Comme nous venons de le voir, les fonctions de l'intestin sont réparties entre différents types cellulaires. Certaines cellules sont spécialisées dans la sécrétion d'acide chlorhydrique, d'autres dans la sécrétion d'enzymes, d'autres dans l'absorption des nutriments, etc. Certains de ces types cellulaires sont étroitement mélangés dans la paroi intestinale ; d'autres sont répartis dans de grosses glandes qui communiquent avec l'intestin et qui apparaissent, chez l'embryon, comme des excroissances de l'épithélium intestinal.

Le foie est la plus grosse de ces glandes. Il se développe à un endroit où une veine importante longe la paroi du tube digestif primitif, et l'organe adulte conserve un rapport très étroit avec le sang. Les cellules du foie, qui dérivent de l'épithélium de l'intestin primitif – les **hépatocytes** – sont disposées en feuillets et cordons reliés entre eux, entre lesquels se trouvent des espaces remplis de sang appelés **sinusoïdes** (Figure 23-28). Le sang est séparé de la surface des hépatocytes par une couche unique de cellules endothéliales aplaties, qui couvrent les faces exposées des hépatocytes. Cette structure facilite les principales fonctions du foie, qui reposent sur l'échange de métabolites entre le sang et les hépatocytes.

Le foie est le lieu principal où les aliments, absorbés à partir de l'intestin puis véhiculés vers le sang, sont transformés, afin d'être utilisés par les autres cellules de l'organisme. Il reçoit la majeure partie de son apport sanguin directement du tractus intestinal (via la veine porte). Les hépatocytes synthétisent, dégradent et stockent un grand nombre de substances. Ils jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des glucides et des lipides de l'organisme entier, et ils sécrètent la plupart des protéines présentes dans le plasma sanguin. En même temps, les hépatocytes restent reliés à la lumière intestinale, via un système de canaux minuscules (ou canaliculi) et de conduits plus larges (voir Figure 23-28B, C) et, par cette voie, sécrètent dans l'intestin



**Figure 23-28** La structure du foie.

(A) Photographie en microscopie électronique à balayage d'une partie du foie montrant les couches et les cordons irréguliers d'hépatocytes et les nombreux petits canaux ou sinusoides qui permettent l'irrigation sanguine. Les plus gros canaux sont des vaisseaux qui distribuent et collectent le sang coulant à travers les sinusoides. (B) Détail d'un sinusioïde [agrandissement d'une région similaire à celle du rectangle *jaune* en bas de (A)]. (C) Représentation schématique de la structure fine du foie. Les hépatocytes sont séparés du sang par une couche unique et mince de cellules endothéliales, parsemée de cellules de type macrophagique, les cellules de Kupffer. De petits orifices dans cette couche, appelés fenestres (du latin signifiant « fenêtre »), permettent l'échange de molécules et de petites particules entre les hépatocytes et le sang. En plus de ces fonctions d'échange avec le sang, les hépatocytes forment un système de minuscules canalicules biliaires dans lesquels ils sécrètent la bile ; celle-ci est finalement déversée dans l'intestin grâce aux canaux biliaires. La structure réelle est moins régulière que ne le laisse supposer ce schéma. (A et B, avec l'autorisation de Pietro M. Motta, University of Rome « La Sapienza ».)

les déchets de leur métabolisme et un agent émulsifiant, la *bile*, qui aide à l'absorption des graisses. Les hépatocytes sont de grandes cellules, et environ 50 p. 100 (chez l'homme adulte) sont polyploïdes avec 2, 4 ou 8 fois, voire plus, la quantité normale d'ADN par cellule diploïde.

Contrairement au reste du tractus digestif, il semble qu'il n'y ait qu'assez peu de division du travail dans la population des hépatocytes. Chaque hépatocyte semble être capable d'effectuer l'ensemble des différentes tâches métaboliques et sécrétrices. Ces cellules hautement différenciées peuvent également se diviser à maintes reprises si nécessaire, comme nous allons l'expliquer.

### La perte de cellules hépatiques stimule la prolifération des cellules hépatiques

Le foie illustre de façon frappante l'un des plus grands problèmes non résolus de la biologie du développement et des tissus : qu'est-ce qui détermine la taille d'un organe ou la quantité d'un type de tissu par rapport à un autre ? Pour les différents organes, les réponses sont certainement différentes, mais il n'y a pratiquement aucun cas où le mécanisme soit clairement compris.

Les hépatocytes vivent normalement un an ou plus, et ils se renouvellent lentement. Toutefois, même dans un tissu qui se renouvelle lentement, l'existence d'un léger déséquilibre entre la vitesse de production et la vitesse de perte cellulaire, conduirait au désastre. Si 2 p. 100 des cellules hépatiques, chez l'homme, se divisaient chaque semaine, et si la perte n'était que de 1 p. 100, le foie grossirait et, au bout de 8 ans, dépasserait le poids du corps. Des mécanismes homéostatiques doivent être mis en jeu pour ajuster la vitesse de prolifération cellulaire ou la vitesse de mort cellulaire, ou les deux, pour maintenir l'organe à sa taille normale. De plus, cette taille doit être ajustée à la taille du reste du corps. Effectivement, quand le foie d'un petit chien est greffé chez un grand chien, il grossit rapidement jusqu'à la taille adéquate de l'organe chez le receveur. Inversement, quand le foie d'un grand chien est greffé chez un petit, il rétrécit.

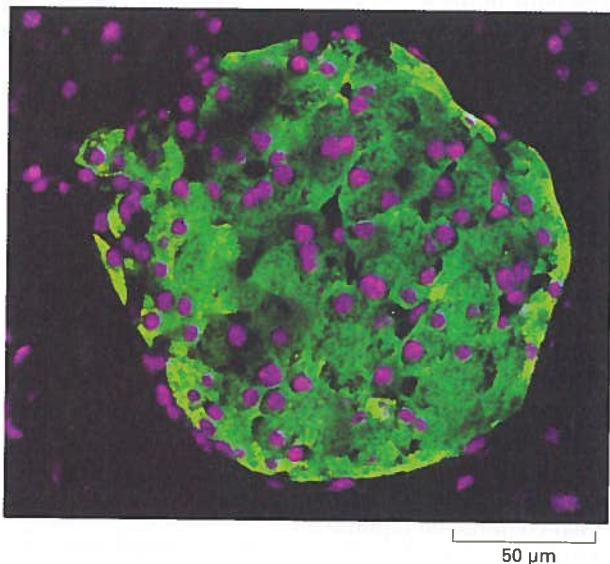
Une preuve directe du contrôle homéostatique de la prolifération des cellules hépatiques vient d'expériences dans lesquelles un grand nombre d'hépatocytes sont éliminés, soit par intervention chirurgicale, soit par l'utilisation d'un poison, le tétrachlorure de carbone. Moins d'un jour après l'une ou l'autre de ces lésions, une vague de divisions cellulaires se produit parmi les hépatocytes survivants, et le tissu perdu est rapidement remplacé. (Si les hépatocytes sont totalement éliminés, une autre classe de cellules, localisées dans les canaux biliaires, peut servir de cellules souches pour la genèse de nouveaux hépatocytes ; mais généralement ce n'est pas nécessaire.) Ainsi, si on retire les deux tiers du foie d'un rat, un foie d'une taille presque normale peut être régénéré à partir du tiers restant, en deux semaines environ. Bien que plusieurs molécules aient été impliquées dans le déclenchement de cette réaction, l'une des plus importantes est une protéine appelée *facteur de croissance des hépatocytes*. Il stimule la division des hépatocytes en culture, et sa concentration dans le sang augmente brutalement (par des mécanismes encore mal compris) en réponse à une atteinte du foie.

L'équilibre entre les naissances et les morts cellulaires dans le foie adulte (et également dans d'autres organes), ne dépend pas exclusivement de la régulation de la prolifération cellulaire : des mécanismes de contrôle de la survie des cellules semblent également jouer un rôle. Si un rat adulte est traité avec du phénobarbital, par exemple, la division des hépatocytes est stimulée, ce qui provoque une augmentation de la taille du foie. Quand le traitement par le phénobarbital est arrêté, la mort cellulaire des hépatocytes est considérablement augmentée, jusqu'à ce que le foie retrouve sa taille d'origine, habituellement en une semaine environ. Le mécanisme de ce type de contrôle de la survie cellulaire est inconnu mais il a été suggéré que les hépatocytes, comme la plupart des cellules de vertébrés, dépendaient de signaux d'autres cellules pour leur survie, et que le niveau normal de ces signaux peut maintenir seulement un nombre donné d'hépatocytes. Si ce nombre est dépassé (par exemple, à la suite d'un traitement par le phénobarbital), la mortalité des hépatocytes augmente automatiquement pour diminuer leur nombre. On ne sait pas comment les niveaux appropriés de facteurs de survie sont maintenus.

### Le renouvellement des tissus ne dépend pas forcément des cellules souches : cellules sécrétant l'insuline du pancréas

La plupart des organes des voies respiratoires et digestives, y compris les poumons, l'estomac, et le pancréas, contiennent une sous-population de cellules endocrines semblables aux cellules entéro-endocrines de l'intestin et, comme elles, formées dans l'épithélium sous le contrôle de la voie de signalisation Notch. Les *cellules sécrétant l'insuline* (cellules  $\beta$ ) du pancréas font partie de cette catégorie. Leur mode de renouvellement a une importance spéciale, parce que la perte de ces cellules (par une attaque auto-immune) est responsable du diabète de type I (d'apparition précoce), et un facteur important également dans la forme de type II (apparition chez l'adulte), de la maladie. Dans un pancréas normal, elles sont enfermées dans des groupes de cellules, appelés *îlots de Langerhans* (Figure 23-29), où elles sont regroupées avec des cellules entéro-endocrines apparentées qui sécrètent d'autres hormones. Ces îlots ne contiennent pas de sous-ensembles évidents de cellules spécialisées pouvant servir de cellules souches, et pourtant de nouvelles cellules  $\beta$  sont continuellement produites à l'intérieur. D'où viennent ces nouvelles cellules ?

On a pu répondre à cette question par l'étude de souris transgéniques, chez lesquelles une variante ingénieuse de la technique Cre-Lox (voir Chapitre 8) a été utilisée pour produire une mutation marqueur, seulement dans les cellules qui expriment le gène de l'insuline au moment de l'administration d'une drogue qui active Cre. De cette manière, les seules cellules qui sont marquées et qui transmettent le marqueur à leur descendance, sont celles qui étaient déjà différenciées en cellules  $\beta$  au moment du traitement. Quand les souris ont été analysées jusqu'à un an plus tard, toutes les nouvelles cellules  $\beta$  étaient marquées, ce qui implique qu'elles étaient des descendantes de cellules  $\beta$  déjà différenciées, et pas de cellules souches indifférenciées. Comme dans le foie, il semble que la population de cellules différenciées soit ici renouvelée et augmentée par simple duplication de cellules différenciées existantes, et non au moyen de cellules souches.



**Figure 23-29** Un îlot de Langerhans dans le pancréas. Les cellules qui sécrètent l'insuline (cellules  $\beta$ ) sont colorées en vert par immunofluorescence. Les noyaux cellulaires sont colorés en violet avec un colorant de l'ADN. Les cellules pancréatiques exocrines (sécrétant des enzymes digestives et du bicarbonate dans l'intestin par l'intermédiaire de canaux) tout autour, ne sont pas colorées, sauf leurs noyaux. Dans l'îlot, près de sa surface, il y a aussi un petit nombre de cellules (non colorées) sécrétant des hormones comme le glucagon. Les cellules sécrétant l'insuline se renouvellent par simple duplication, sans avoir besoin de cellules souches spécialisées. (D'après une photographie due à l'obligeance de Yuval Dor. © 2004 Yuval Dor, The Hebrew University, Jerusalem.)

## Résumé

Le poumon remplit une fonction simple, l'échange gazeux, mais son système d'entretien est complexe. Les cellules sécrétant le surfactant empêchent les alvéoles de se collaber. Les macrophages parcourent constamment les alvéoles à la poursuite de la saleté et des microorganismes. Un « escalator mucociliaire » formé par les cellules caliciformes (sécrétant le mucus) et les battements des cellules ciliaires éliminent les débris hors des voies aériennes.

Dans l'intestin, là où des processus chimiques préjudiciables ont lieu, le renouvellement constant des cellules permet de garder l'épithélium d'absorption en bon état. Dans l'intestin grêle, les cellules souches des cryptes génèrent de nouvelles cellules absorbatives, caliciformes, entéro-endocrines et de Paneth, remplaçant la plupart des cellules de la bordure intestinale chaque semaine. La signalisation par Wnt maintient la population de cellules souches dans les cryptes, tandis que la signalisation par Notch entraîne la diversification des cellules de la descendance des cellules souches et limite le nombre de celles qui sont destinées à un destin de cellules sécrétrices. Des interactions de cellules à cellules dans l'épithélium, par l'intermédiaire de la signalisation ephrin-Eph, contrôlent la migration sélective des cellules des cryptes jusqu'aux villosités. Des interactions entre l'épithélium et le stroma, impliquant les voies Wnt, Hedgehog, PDGF et BMP organisent le schéma des cryptes et des villosités, créant des niches habitées par les cellules souches.

Le foie est un organe plus protégé et il peut, lui aussi, ajuster rapidement sa taille par prolifération ou mort cellulaire, si nécessaire. Les hépatocytes différenciés sont capables de se diviser tout au long de leur vie, montrant qu'une classe spécialisée de cellules souches n'est pas toujours nécessaire pour le renouvellement tissulaire. De la même manière, la population de cellules sécrétant l'insuline dans le pancréas est augmentée et renouvelée par simple duplication de cellules spécialisées existantes.

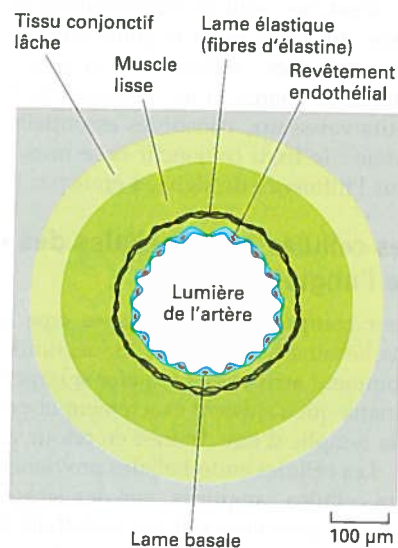
## VAISSEAUX SANGUINS, LYMPHATIQUES ET CELLULES ENDOTHÉLIALES

Après avoir vu les tissus qui dérivent de l'ectoderme et de l'endoderme embryonnaires, nous allons maintenant voir ceux qui dérivent du mésoderme. Cette couche médiane de cellules, prise en sandwich entre l'ectoderme et l'endoderme, prolifère et se différencie, afin d'assurer de nombreuses fonctions de soutien. Elle donne naissance aux tissus conjonctifs, aux cellules sanguines et aux vaisseaux sanguins et lymphatiques, ainsi qu'aux muscles, aux reins et à beaucoup d'autres structures et types cellulaires. Nous allons commencer par les vaisseaux sanguins.

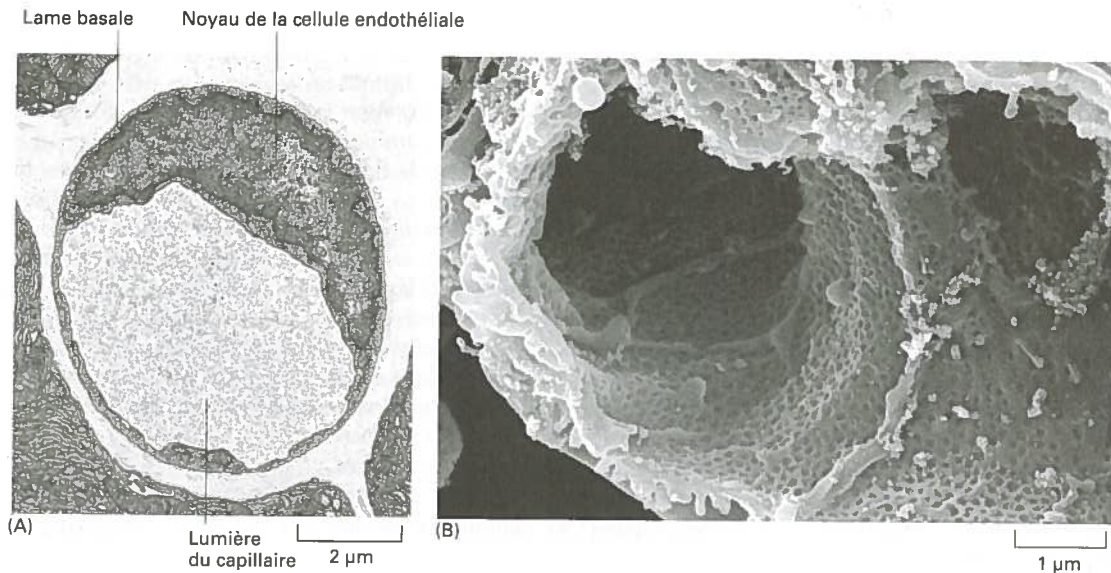
La plupart des tissus dépendent d'un apport sanguin, qui lui-même dépend des **cellules endothéliales** formant le revêtement des vaisseaux sanguins. Les cellules endothéliales ont la capacité remarquable d'ajuster leur nombre et leur distribution aux exigences locales. Elles forment un système de soutien de la vie, qui s'étend dans toutes les régions de l'organisme. S'il n'y avait pas les cellules endothéliales, qui développent et remodelent le réseau vasculaire, la croissance et la réparation tissulaires seraient impossibles. Comme le tissu normal, le tissu cancéreux dépend d'un apport sanguin et cela a conduit à une poussée d'intérêt pour la biologie des cellules endothéliales. En bloquant la formation de nouveaux vaisseaux grâce à des drogues, on pourrait espérer bloquer la croissance des tumeurs (voir Chapitre 20).

### Les cellules endothéliales tapissent tous les vaisseaux sanguins et lymphatiques

Les vaisseaux sanguins les plus gros sont les artères et les veines qui ont une paroi résistante et épaisse de tissu conjonctif, et plusieurs couches de muscle lisse (Figure 23-30). La paroi est tapissée par une seule couche extrêmement fine de cellules endothéliales, l'*endothélium*, séparée des couches environnantes extérieures par une lame basale. La quantité de tissu conjonctif et de muscle lisse dans la paroi vasculaire, varie selon le diamètre et la fonction du vaisseau, mais la couche endothéliale est toujours présente. Dans les plus fines ramifications de l'arbre vasculaire – les capillaires et les sinusoides – les parois sont uniquement constituées de cellules endothéliales et d'une lame basale (Figure 23-31), ainsi que de quelques cellules dispersées, les *péricytes*, ayant un rôle fonctionnel important. Ce sont des cellules de la famille du tissu conjonctif, apparentées aux cellules musculaires lisses, qui s'enroulent autour des petits vaisseaux (Figure 23-32).



**Figure 23-30** Représentation schématique d'une petite artère en coupe transversale. Les cellules endothéliales, bien que peu apparentes, en sont le constituant fondamental. Comparer avec le capillaire de la Figure 23-31.



**Figure 23-31 Capillaires.** (A) Microscopie électronique d'une coupe transversale d'un petit capillaire dans le pancréas. La paroi est formée par une unique cellule endothéliale entourée d'une lame basale. (B) Photographie en microscopie électronique à balayage de l'intérieur d'un capillaire dans le glomérule rénal, où la filtration du sang a lieu pour produire l'urine. Ici, comme dans le foie (voir Figure 23-28), les cellules endothéliales sont spécialisées et présentent des fenestrae, semblables à des « tamis », construits plutôt comme les pores de l'enveloppe nucléaire des cellules eucaryotes, permettant le passage passif de l'eau et de la plupart des molécules dans la circulation sanguine. (A, d'après R.P. Bolender, *J. Cell Biol.* 61 : 269-287, 1974. Avec l'autorisation de The Rockefeller University Press ; B, dû à l'obligeance de Steve Gschmeissner et David Shima.)

Les vaisseaux lymphatiques sont moins évidents que les vaisseaux sanguins. Ils ne transportent pas de sang et ont des parois beaucoup plus fines et plus perméables que celles des vaisseaux sanguins. Ils fournissent un système de drainage pour le liquide (lymphe) qui suinte hors des vaisseaux sanguins, ainsi qu'une voie de sortie pour les globules blancs sanguins, qui ont migré depuis les vaisseaux sanguins vers les tissus. Malheureusement, ils fournissent souvent une voie aux cellules cancéreuses qui s'échappent d'une tumeur primaire pour envahir d'autres tissus. Les vaisseaux lymphatiques forment un système ramifié d'affluents qui se déversent finalement tous dans un unique gros vaisseau lymphatique, le canal thoracique, qui s'ouvre dans une grande veine près du cœur. Comme les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques sont tapissés de cellules endothéliales.

Ainsi, les cellules endothéliales tapissent tout le système vasculaire et lymphatique, du cœur jusqu'au plus petit des capillaires, et elles contrôlent la pénétration des substances – et l'entrée et la sortie des globules blancs – dans le flux sanguin. Les artères, les veines et les vaisseaux lymphatiques se sont tous développés à partir de petits vaisseaux, constitués essentiellement de cellules endothéliales et d'une lame basale : le tissu conjonctif et le muscle lisse sont ajoutés ensuite quand besoin est, sous l'influence de signaux émis par les cellules endothéliales.

### Les cellules endothéliales des extrémités sont les pionnières de l'angiogenèse

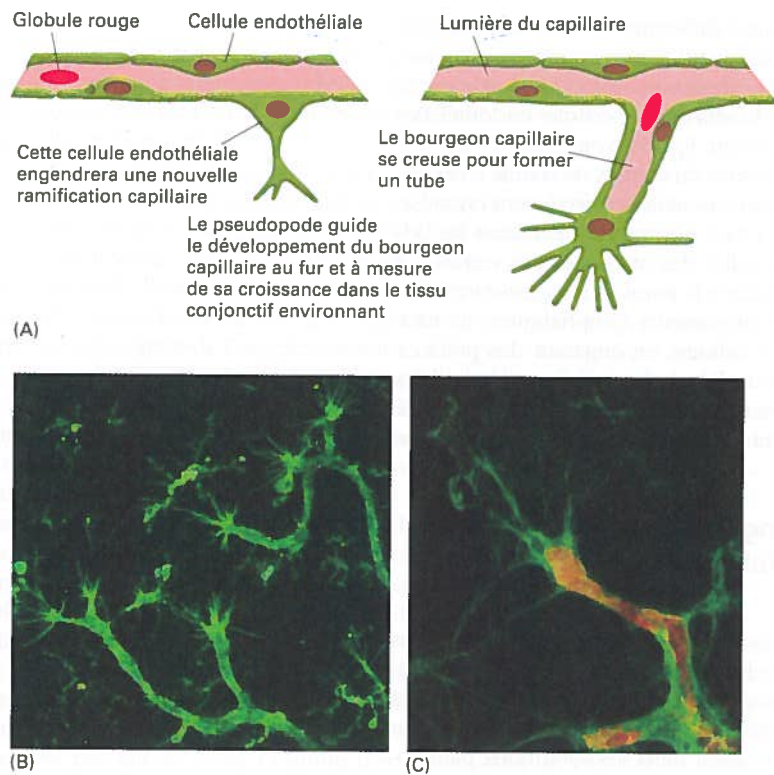
Pour comprendre comment se crée le système vasculaire et comment il s'adapte aux besoins variables des tissus, nous devons comprendre les cellules endothéliales. Comment arrivent-elles à être si largement répandues, et comment forment-elles des canaux qui s'ajustent exactement et permettent au sang de circuler dans les tissus, et à la lymphe d'être drainée en retour vers le courant sanguin ?

Les cellules endothéliales reviennent de précurseurs qui donnent aussi naissance aux cellules sanguines, sur des sites spécifiques de l'embryon précoce. Depuis ces sites, les premières cellules endothéliales embryonnaires migrent, prolifèrent et se différencient pour former les premiers rudiments de vaisseaux sanguins – un processus appelé *vasculogenèse*. Ensuite, la croissance et la ramification des vaisseaux à travers tout le corps, se font essentiellement par prolifération et déplacement des cellules endothéliales de ces premiers vaisseaux, dans un processus appelé *angiogenèse*.

L'angiogenèse se fait, en gros, de la même manière dans un organisme jeune qui se développe et chez l'adulte au cours de la réparation et du remodelage d'un tissu. Nous pouvons observer le comportement des cellules dans des structures naturel-



**Figure 23-32 Péricytes.** Photographie en microscopie électronique à balayage montrant les prolongements des péricytes enveloppant un petit vaisseau sanguin (une veinule post-capillaire) dans une glande mammaire de chat. Les péricytes sont également présents autour des capillaires, mais ils sont plus dispersés. (D'après T. Fujiwara et Y. Uehara, *Am. J. Anat.* 170 : 39-54, 1984. Avec l'autorisation de Wiley-Liss.)



**Figure 23-33** Angiogenèse. (A) Un nouveau capillaire sanguin se forme par bourgeonnement d'une cellule endothéliale de la paroi d'un petit vaisseau existant. Une cellule endothéliale de l'extrémité, avec de nombreux filopodes, conduit l'avancée de chaque pousse de capillaires. La tige de cellules endothéliales traînant derrière la cellule de l'extrémité, se creuse et forme une lumière. (B) Capillaires sanguins bourgeonnant dans la rétine d'un embryon de souris. (C) Même type d'échantillon, mais un colorant rouge a été injecté dans le courant sanguin, révélant la lumière du capillaire en train de s'ouvrir derrière la cellule de l'extrémité. (B et C, de H. Gerhardt et al., *J. Cell Bio.*, 161 : 1163-1177, 2003. Avec l'autorisation de The Rockefeller University Press.)

lement transparentes, comme la cornée de l'œil ou la nageoire d'un têtard, ou en culture de tissu ou dans un embryon. La rétine embryonnaire, que les vaisseaux sanguins envahissent selon un schéma temporel prévisible, est un exemple commode pour une étude expérimentale. Chaque nouveau vaisseau naît comme une pousse capillaire sur le côté d'un capillaire existant ou d'une petite veinule (Figure 23-33A). À l'extrémité de la pousse, ouvrant la voie, se trouve une cellule endothéliale pourvue d'un caractère distinctif. Cette *cellule de l'extrémité* (*tip cell*) a un schéma d'expression génique un peu différent de celui des cellules endothéliales de la tige qui la suivent, et, alors que celles-ci se divisent, la cellule de l'extrémité ne se divise pas ; mais le caractère le plus frappant de cette cellule de l'extrémité est qu'elle émet de nombreux et longs filopodes, ressemblant à ceux d'un cône de croissance neuronale (Figure 23-33B). Les cellules de la tige, pendant ce temps, se creusent pour former une lumière (voir Figure 23-33A). On peut observer ce processus dans l'embryon transparent de poisson zèbre : chaque cellule développe des vacuoles internes, qui s'unissent à celles de leurs voisines pour former un tube continu multicellulaire.

Les cellules endothéliales de l'extrémité qui sont en tête dans la croissance des capillaires normaux, non seulement ressemblent à des cônes de croissance neuronale, mais répondent aussi de la même manière aux signaux de l'environnement. En fait, beaucoup des mêmes molécules de guidage sont impliquées, en particulier les séma-phorines, les nétrines, les slits et les éphrines, ainsi que les récepteurs correspondants, qui sont exprimés dans les cellules de l'extrémité et guident les pousses vasculaires le long de voies spécifiques chez l'embryon, souvent en parallèle avec les nerfs. Cependant, la plus importante de ces molécules de guidage pour les cellules endothéliales, est peut-être une molécule spécifiquement destinée au contrôle du développement vasculaire : le *facteur de croissance endothéliale vasculaire*, ou *VEGF* (*vascular endothelial growth factor*). Nous allons en dire plus ci-dessous.

### Différents types de cellules endothéliales forment différents types de vaisseaux

Pour créer un nouveau circuit pour le courant sanguin, une pousse vasculaire doit continuer à grossir jusqu'à ce qu'elle rencontre une autre pousse, ou un vaisseau auquel elle peut se connecter. Les règles de cette connexion doivent probablement être sélectives, pour prévenir la formation de courts-circuits indésirables, et pour que les systèmes sanguin et lymphatique restent correctement séparés. En fait, les cellules endothéliales des artères, des veines, et des vaisseaux lymphatiques en développement expriment des gènes différents et ont des propriétés de surface différentes. Ces différences servent à gui-