



HAL
open science

Implication des cellules souches adultes et des cellules progénitrices dans le développement épithélial mammaire à la puberté

Laurence Finot, Catherine Hue-Beauvais, Etienne Aujean, Fabienne Le Provost, Eric Chanat, Frederic Dessauge

► To cite this version:

Laurence Finot, Catherine Hue-Beauvais, Etienne Aujean, Fabienne Le Provost, Eric Chanat, et al.. Implication des cellules souches adultes et des cellules progénitrices dans le développement épithélial mammaire à la puberté. Stem-Phase. Première rencontre du réseau Phase sur les cellules souches, Jan 2019, Bron, France. 2019. hal-02786407

HAL Id: hal-02786407

<https://hal.inrae.fr/hal-02786407v1>

Submitted on 5 Jun 2020

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.

Implication des cellules souches adultes et des cellules progénitrices dans le développement épithélial mammaire à la puberté



Laurence FINOT¹, Cathy HUE-BEAUVAIS², Etienne AUJEAN², Fabienne LE PROVOST², Eric CHANAT¹ et Frederic DESSAUGE¹

¹UMR 1348 PEGASE, INRA Agrocampus Ouest, Saint Gilles, France - ²UMR 1313 GABI, INRA AgroParisTech Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

RESULTATS

Après transplantation de tissu mammaire de génisse dans la glande mammaire murine dont l'épithélium natif a été retiré, un développement d'épithélium *in vivo* a été observé.

Nous avons obtenu un développement de tissu dans 6 des 8 souris transplantées (figure 1a), mettant en évidence la présence dans les explants mammaires bovins de MaSC capables de régénérer du tissu épithélial.

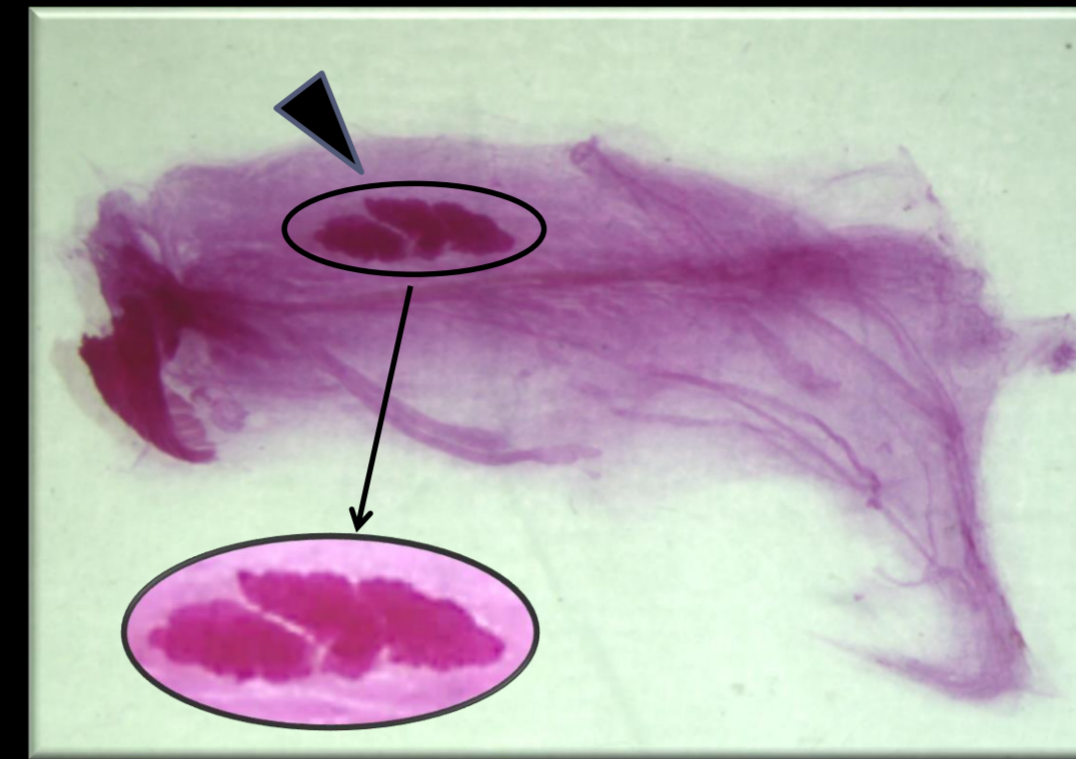


Figure 1a → Glande mammaire totale murine colorée (Carmin-Alun)

L'analyse en immunofluorescence du tissu régénéré a révélé l'existence de structures épithéliales, typiques d'un développement mammaire bovin, constituées de cellules basales (exprimant la kératine (KRT)14) et lumbales (exprimant la KRT7) dans un tissu stromal dense produisant du collagène (figure 1b).

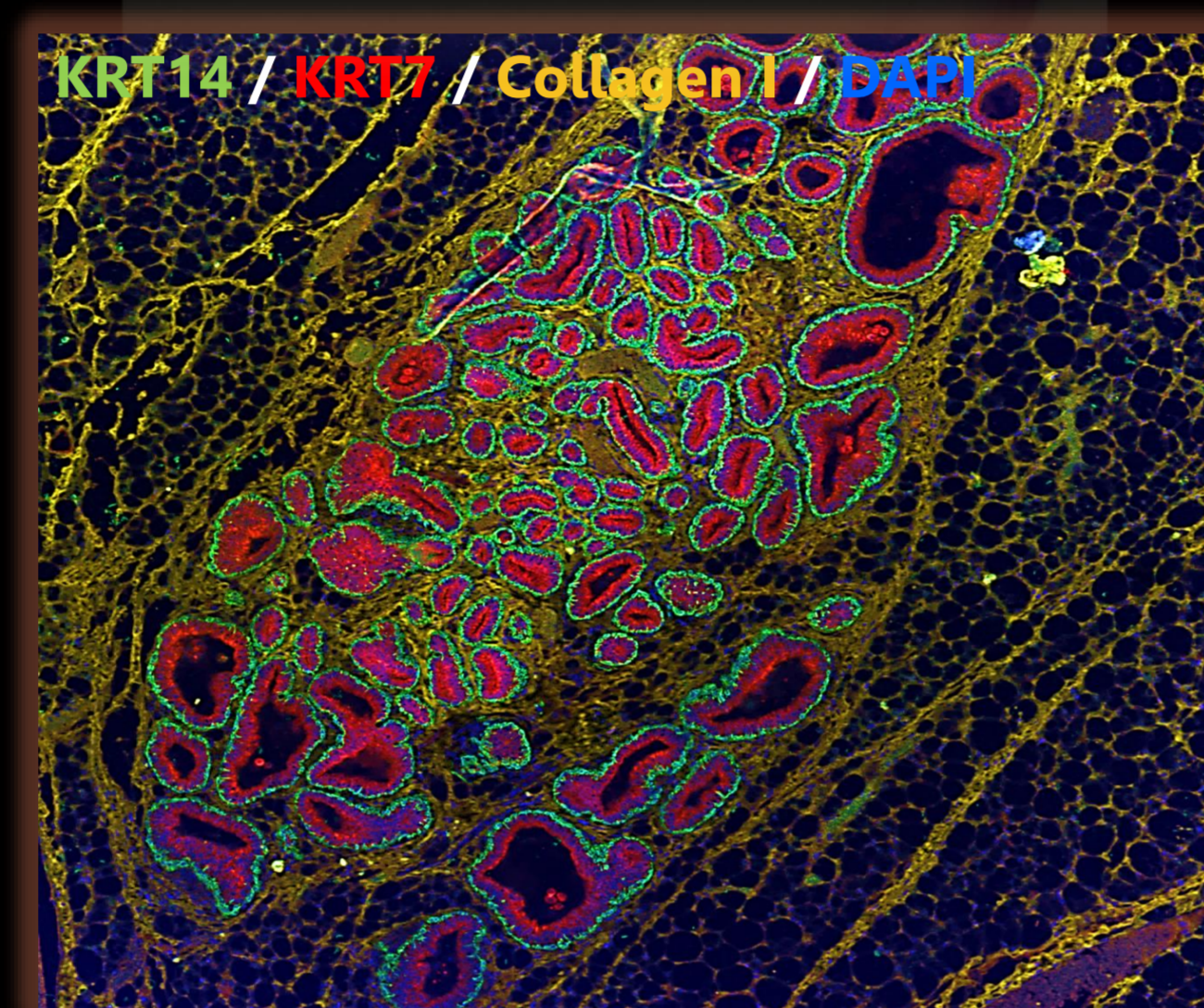


Figure 1b → Coupe de tissu mammaire régénéré analysée en IHC

Des populations épithéliales distinctes sont présentes pendant le développement mammaire des canaux et alvéoles à la puberté.

Par cytométrie en flux, 4 sous-populations cellulaires co-exprimant CD49_f et CD24 et appartenant au lignage épithélial ont été mises en évidence. (figure 2a). Le % moyen de cellules est indiqué en rouge (pour n=3).

Parmi les 4 populations épithéliales, seules les cellules CD49_f^{fort}CD24^{pos} et CD49_f^{fort}CD24^{neg} ont formé des mammosphères *in vitro* (figure 2b)

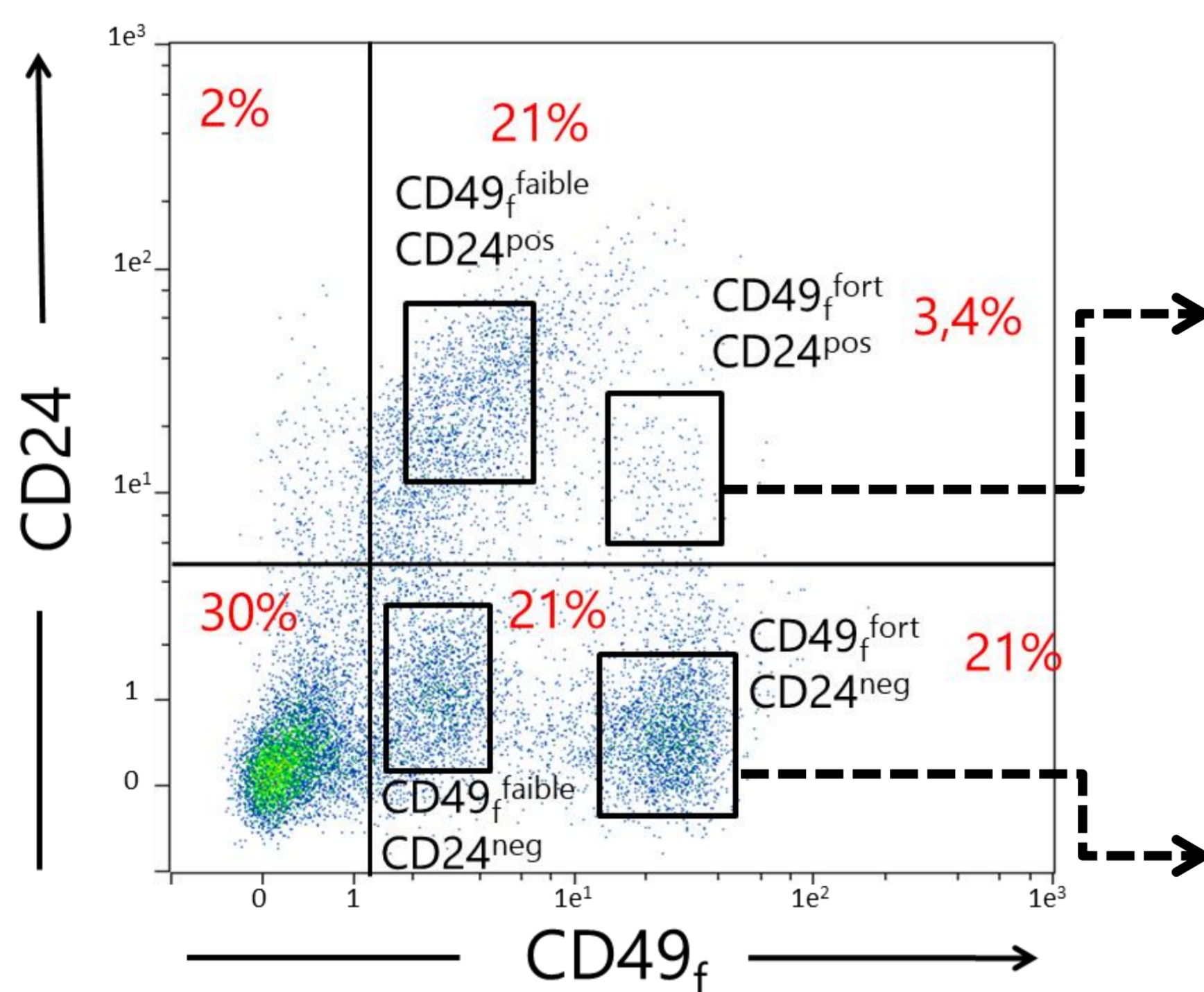


Figure 2a : Plot de cytométrie en flux

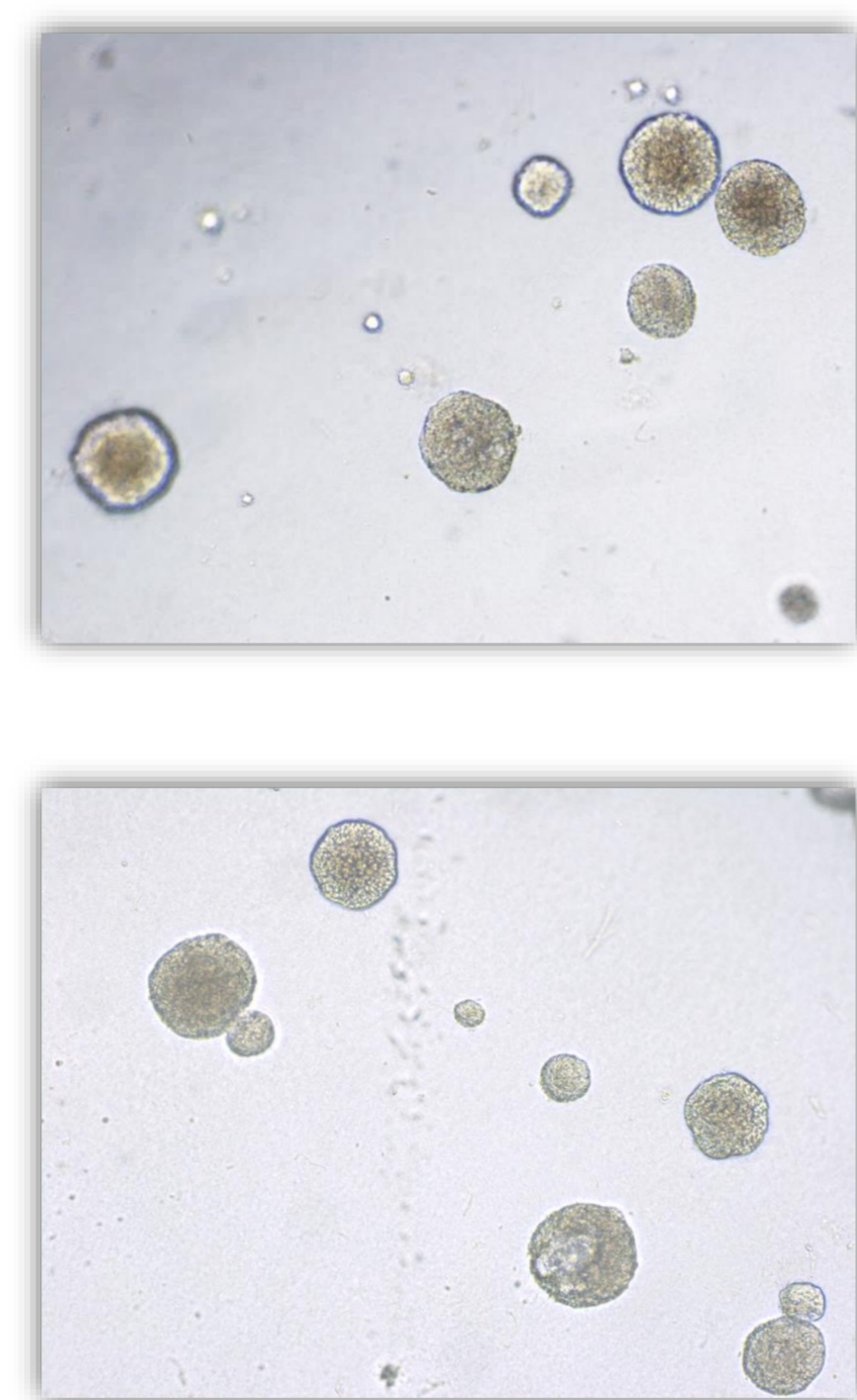


Figure 2b : Test de formation des mammosphères

La majorité des MaSC putatives (CD49_f^{fort}CD24^{pos}) possède une activité ALDH1 (68%), caractéristique des MaSC/progénéiteurs restreintes à la voie lumbale. Les MaSC n'ayant pas d'activité ALDH1 (32%) représenteraient une sous-population de cellules souches « quiescentes »

Populations	% de cellules exprimant CD10	% de cellules ayant une activité ALDH1
CD49 _f ^{faible} CD24 ^{neg}	7%	87%
CD49 _f ^{faible} CD24 ^{pos}	75%	78%
CD49 _f ^{fort} CD24 ^{neg}	93%	0,3%
CD49 _f ^{fort} CD24 ^{pos}	92%	68%

Un phénotypage approfondi a mis en évidence l'expression de marqueurs basaux et lumbaux par les MaSC suggérant la co-existence de deux sous-populations dans le pool de MaSC, co-existence confirmée par co-marquages immunofluorescents dans le pool de MaSC triées. (Finot et al, 2018; Nature Scientific Reports)

CONTEXTE & OBJECTIF

A la puberté et à la gestation, les cellules souches mammaires (MaSC) et leurs progénéiteurs concourent au développement de la glande mammaire. Dans ce travail de thèse, nous avons étudié les populations de MaSC/progénéiteurs du lignage épithélial, présentes dans le tissu mammaire bovin à la puberté, un stade physiologique durant lequel les MaSCs se multiplient et se différencient en cellules matures (cellules lumbales et cellules basales).

Notre objectif est d'apporter de nouvelles connaissances sur le devenir des MaSC et leurs progénéiteurs au cours de la vie de l'animal (vache). Dans un contexte agronomique, comprendre les fondements du développement de l'épithélium mammaire et son renouvellement est important pour maîtriser la lactation des animaux dans le but d'améliorer leur robustesse.

MATERIEL & METHODES

Des explants (0,2 mm²) ont été échantillonnés à partir de glande mammaire de génisses Holstein abattues à 17 mois d'âge (n=3)

Xéno-transplantation

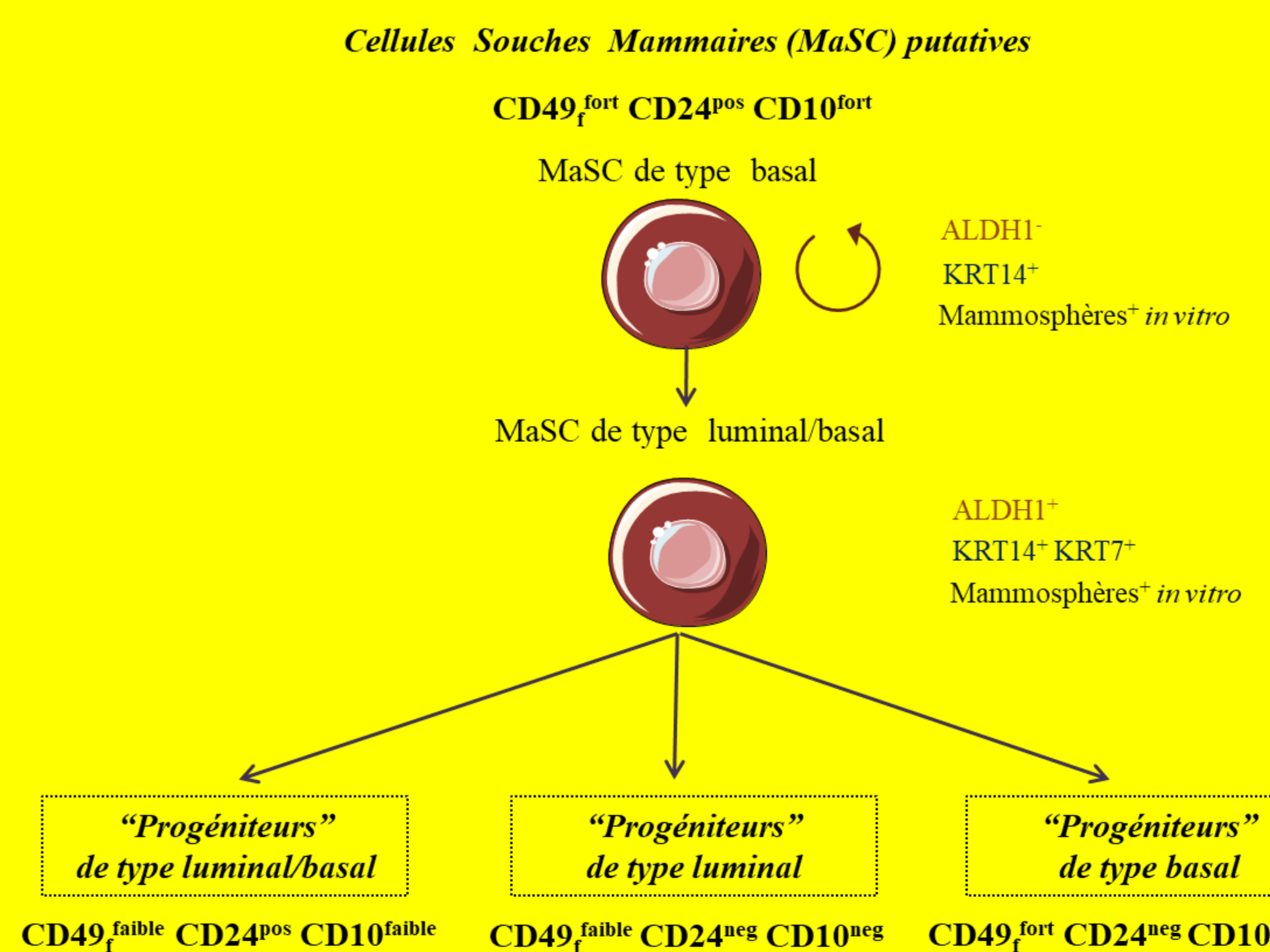
- Des explants (0,05 mm²) mammaires bovins ont été transplantés dans des souris immunodéficientes (Balb/c AnNRj-Foxn1^{nu/nu}) de 3 semaines d'âge. Après 2 mois, les glandes mammaires murines transplantées ont été collectées pour être analysées en histologie (coloration au Carmin-Alun) et en immunofluorescence (IHC).

Phénotypage et tri cellulaire

- Des explants mammaires bovins ont été digérés par digestion enzymatique (collagénase / hyaluronidase / trypsine) pour dissocier les cellules (obtention de cellules isolées).
- Les cellules isolées ont été marquées avec des anticorps anti-CD49_f et anti-CD24, deux marqueurs de surface des cellules épithéliales. La co-expression de ces deux marqueurs a été déterminée par cytométrie en flux.
- L'expression de CD10 (marqueur du lignage basal) et l'activité ALDH1 (marqueur d'activité des MaSC/progénéiteurs) ont été analysées en cytométrie en flux sur les populations de cellules co-exprimant CD49_f / CD24.
- Les populations cellulaires triées co-exprimant CD49_f et CD24 ont été cultivées sur support de Matrigel pendant 7 jours pour tester leur capacité à former des mammosphères.

CONCLUSIONS

Nous avons caractérisé les MaSC et leurs progénéiteurs présents à la puberté chez le bovin, nous permettant ainsi de proposer un schéma de lignage épithélial mammaire chez le bovin à la puberté.



PERSPECTIVES. A partir de ce travail, nous étudierons l'évolution du lignage épithélial (à la fois en terme de proportion et de signature moléculaire) à des stades physiologiques majeurs tels que le développement mammaire, la lactation et le tarissement.